

**T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BENİGN, PREKANSERÖZ VE KANSERÖZ PROSTAT
DOKULARINDA NKX3.1 EKSPRESYONUNUN TANISAL
DEĞERİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ERDEM VARGÖL**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. İPEK IŞIK GÖNÜL**

**ANKARA
ARALIK 2012**

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresi boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak yetişmemde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım, Prof. Dr. Ömer Uluoğlu, Prof. Dr. Leyla Memiş, Prof. Dr. Ayşe Dursun, Prof. Dr. Gülen Akyol, Prof. Dr. Aylar Poyraz, Doç. Dr. Nalan Akyürek, Doç. Dr. Özlem Erdem ve tez danışmanım Doç. Dr. İpek Işık Gönül'e, Yrd. Doç. Dr. Özgür Ekinci, Yrd. Doç. Dr. Güldal Yılmaz, Yrd. Doç. Dr. Pınar Uyar Göçün'e, daima birlikte çalışmaktan gurur duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma, tüm laboratuvar personeline, biricik eşim Sezen Elhan Vargöl'e, aileme veengin istatistik bilgilerini benden esirgemeyen sevgili arkadaşım Emrah Eren'e en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	
KISALTMALAR	
1. GİRİŞ	1
2.1 PROSTAT BEZİNİN EMBRİYOLOJİSİ	3
2.2 PROSTAT BEZİNİN ANATOMİSİ VE FONKSİYONU	4
2.2.1 PROSTAT BEZİNİN LOKALİZASYONU	4
2.2.2 PROSTAT BEZİNİN ZONAL ANATOMİSİ	4
2.2.3 PROSTAT BEZİNİN FONKSİYONU	5
2.3 PROSTAT BEZİNİN HİSTOLOJİSİ	6
2.3.1 PROSTAT BEZİNİN NORMAL EPİTELİ	6
2.3.2 PROSTAT BEZİNİN İMMÜNHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ	8
2.4 PROSTAT BEZİNİN NON-NEOPLASTİK HASTALIKLARI	12
2.4.1 NODÜLER HİPERPLAZİ:	12
2.4.2 ATROFİ:	14
2.4.3 POSTATROFİK HİPERPLAZİ (PAH):	17
2.4.4 ATİPİK ADENOMATÖZ HİPERPLAZİ (ADENOZİS/AAH):	18
2.5 PROSTAT BEZİNİN NEOPLASTİK HASTALIKLARI	20
2.5.1 PROSTATİK İNTRAEPİTELYAL NEOPLAZİ (PIN)	20
2.5.2 PROSTATİK ADENOKARSİNOM:	25
2.6 GLEASON DERECELENDİRMESİ:	29
2.7 NKX3.1:	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1 OLGULARIN SEÇİLMESİ:	36
3.2 STREPTAVİDİN-BİOTİN BOYAMA YÖNTEMİ	37
3.3 İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYANMANIN DEĞERLENDİRİLMESİ	38
3.4 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	38
4. BULGULAR	40
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ	64
7. ÖZET	65
8. SUMMARY	67
9. KAYNAKLAR	69
10. ÖZGEÇMİŞ:	82

KISALTMALAR

AAH:	Atipik adenomatöz hiperplazi
AMACR:	Alfa metil açıl-koenzim-A racemase
BPH:	Benign prostat hiperplazisi
CK:	Sitokeratin
DSÖ:	Dünya Sağlık Örgütü
EGFR:	Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
H&E:	Hematoksilen ve eosin
HG-PIN:	Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi
HMWK:	Yüksek molekül ağırlıklı keratin
LG-PIN:	Düşük dereceli intraepitelyal neoplazi
LOH:	Heterozigozite kaybı
PAH:	Postatrofik hiperplazi
PIN:	Prostatik intraepitelyal neoplazi
PİA:	Proliferatif inflamatuvar atrofi
PSA:	Prostat spesifik antijen
PSAP:	Prostat spesifik asit fosfataz
PSMA:	Prostat spesifik membran antijeni
TUR:	Transüretral rezeksiyon

1. GİRİŞ

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen malignite olup tarama programlarının geliştirilmesiyle ölümlerle sonuçlanan kanserler arasında her gün daha da gerilere düşmektedir (1, 2). Prostat karsinomunun bu kadar yaygın görülen bir kanser olması yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekliliğini doğurmaktadır. Bu noktada prostat karsinogenezini açıklayacak araştırmalara ihtiyaç vardır.

Prostat embriyogenezini, epitelial diferansiasyon ve prostat karsinogenezinde yer aldığı gösterilmiş olan genlerden birisi NKX3.1'dir (3-10). NKX3.1 androjen ilişkili bir homeobox genidir ve prostat kanseri için tümör süpresör gen olarak işlev görür (4-6, 11). NKX3.1 geninin yer aldığı bölge 8p21 kromozom bölgesi olup bu bölgede prostat karsinomlarında yaklaşık %85 oranında delesyon varlığı saptanmıştır (12). NKX3.1'in hücresel işlevleri, embriyogenez ve karsinogenezdeki rolü hakkında çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

NKX3.1'in hücre içi işlevlerinden birisi, PTEN-null epitelde hücre siklusunda p53'ün asetilasyonunu arttırarak p53 yarılanma ömrünü uzatmasıdır (13).

NKX3.1'in hücresel döngüdeki yerini açıklamayı hedefleyen bir çalışmada DNA hasarı oluşturulmuş hücrelerde, NKX3.1 eksprese eden plazmid ile transfekte hücrelerin sağ kalımlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır (14). Buna karşın prostat embriyogenezindeki rolünün sorgulandığı araştırmalardan birinde, NKX3.1-null farelerin fertil oldukları izlenmiştir (15-17). NKX3.1 homozigot farelerde ise prostat boyut ve ağırlığında

bir farklılık olmamasına karşın, ayrıntılı incelemede duktal gelişimin yaklaşık %20-35 oranında azaldığı ve epitelyal sekretuar proteinlerin de sentezinde bozulma olduğu izlenmiştir (15).

NKX3.1'in metastatik ve primer prostat karsinomunda ekspresyonunu inceleyen çalışmalarda, NKX3.1'in neredeyse %100'e yakın duyarlılık ve özgüllükte olduğu saptanmış, çok az sayıda prostat dışı tümöral ve non-tümöral dokuda pozitiflik gösterdiği izlenmiştir (4, 18-21). NKX3.1 in prostat dışı tümöral dokulardaki ekspresyonu ile ilgili oldukça fazla çalışma olmasına karşın, özellikle prostatın benign lezyonlarındaki NKX3.1 ekspresyonu ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır (22, 23). Bu lezyonlardan nodüler hiperplazi, adenozis, atrofi, postatrofik hiperplazi, düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi ve prostat karsinomu için kabul edilen tek pre-malign lezyon olan yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi ile prostat karsinomu ve metastatik prostat karsinomlarında NKX3.1 ekspresyonunun belirlenmesi, prostatik karsinomun hem öncüsü hem taklitçisi olabilen bu lezyonların ayrımında, hem de metastatik lezyonlarda tümör kökenine yönelik kullanımı konusunda bilgi verebilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Prostat bezinin embriyolojisi

Prostat ürogenital sinüsten gelişir ve ilk olarak gelişimin 9-10'uncu haftalarında saptanabilir (24). Bu dönemde embriyonik testisten salınan testosteron, endodermal tomurcuğun ürogenital sinüs mezenkimi içerisine doğru büyümesini tetikler (24). Mezenkim, ürogenital sinüs epitelinin duktal morfogenezi ve diferansiyasyonunu sağlamaktadır. Ayrıca ürogenital mezenkim, duktusların çevresini saran düz kas hücrelerine dönüşmektedir (24, 25). Aynı zamanda fetal testosteron, wolf kanalından seminal vezikül, epididim, vas deferens ve ejakulatuar duktusların gelişimini tetikler. Bu bağlamda prostat dual embriyonik kökene sahip bir organ olarak ele alınabilir. Gelişimin 31-36. haftalarda prostatın temel yapısı tam olarak gelişmiş olur.

Doğumdan sonra puberteye kadar prostat bezinde hacim olarak gelişme olmaz ancak duktus yapımı ve solid epitelyal gelişim devam eder (26). Pubertede ise androjen bağımlı olarak prostat hacminde belirgin şekilde artış gerçekleşir. Aynı zamanda duktuslarda daha fazla dallanma ve immatür prostat epitelinin erişkin tip bazal ve sekretuar hücrelere farklılaşması gerçekleşir. Yirmi yaşındaki bir erkekte prostat bezinin ağırlığı yaklaşık 20 gramdır ve bu boyut ve ağırlığını sonraki 30 yıl boyunca korur. Elli yaşından sonra benign prostat hiperplazisi (BPH) nedeniyle transizyonel zonun genişlemesi prostat bezinin boyutunda artışa neden olur (27, 28).

2.2 Prostat bezinin anatomisi ve fonksiyonu

2.2.1 Prostat bezinin lokalizasyonu

Prostat, aksesuar üreme organı olarak isimlendirilen erkek üreme organlarından birisidir. Erişkin normal prostat bezi kestane benzeri bir şekle sahip, yaklaşık 4,5x4x3 cm boyutlarında, 20 gr ağırlığındadır (24, 29). Prostat bezi mesanenin hemen altında üretrayı sarar. İnferiorda simfisis pubisin posteriorunda, ürogenital diyaframın üzerinde, rektumun anteriorunda yerleşir.

Memelilerde prostat bezinin anatomik lokalizasyonu türler arasında farklılık göstermektedir ve bu durum hayvan modellemelerinde kısıtlamalara neden olmaktadır. Henüz anlaşılamamış nedenlerden dolayı, prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ve karsinom yalnızca insanların ve köpeklerin prostat bezlerinde doğal bir gelişimsel süreç olarak ortaya çıkmaktadır (30, 31).

Prostat bezinin kadınlardaki eşdeğeri, distal üretra posteriorundaki skene bezleridir (32-34). Bu bezler prostat spesifik antijen (PSA) ve prostat spesifik asit fosfataz (PSAP) sentezler (35, 36) ancak tam olarak fonksiyonlarının ne olduğu bilinmemektedir. Bu bezlerden gelişen nadir hiperplazi ve karsinom vakaları tanımlanmıştır (32, 37).

2.2.2 Prostat bezinin zonal anatomisi

Prostatın glandüler bölümü üç farklı zondan oluşmaktadır: santral zon, periferik zon ve tranzisyonel zon (24, 38).

Periferik zon, prostat hacminin yaklaşık %70'lik kısmını oluşturan ve PIN ile prostatik karsinomun en sık geliştiği bölgedir. Periferik zondaki asinuslar basit,

yuvarlak-oval şekilli ve düz kas ve kollajenden oluşan gevşek bir stromaya sahiptir (24).

Santral zon koni şekilli, prostat hacminin yaklaşık %25'ini oluşturan, ejakülatuar duktusların çevresini sarıp prostat bezinin tabanını oluşturan bölümdür. Santral zondaki asinuslar büyüktür ve intralüminal çıkıntılar, papiller yapılanmalar ile epitelyal köprüler ve kribriform glandlar oluşturan kompleks şekilleri vardır (24, 39). Bu yapılanma şekilleri ile PIN'i taklit ederler. Santral zonda epitelin stromaya oranı diğer bölgelere göre daha yüksektir ve stroma ağ şeklinde dizelenmiş düz kas hücrelerinden zengindir (24, 38).

Transizyonel zon prostatın %5'lik hacmini oluşturmakla birlikte BPH geliştiğinde çok büyük boyutlara ulaşabilmektedir. Transizyonel zon glandları da periferik zon gibi küçük, basit, yuvarlak yapılar şeklindedir ve kompakt bir stroma ile periferik zondan belirgin bir sınır ile ayrılırlar (24, 40).

Periferik zon ve santral zondaki epitelyal ve stromal hücrelerin gen ekspresyonları farklılıklar göstermektedir ve stromal-epitelyal ilişkiler prostat hastalıklarının zonal dağılımının sebebi olabilir (41, 42).

2.2.3 Prostat bezinin fonksiyonu

Prostat bezinin görevi yaklaşık 3mL olan ejakülatın yarısı ila üçte biri kadar bölümünü salgılamaktır (29). Bu salgı içerisinde yer alan PSA gibi bazı enzimler ejakülatın likefiye olmasını ya da likefikasyonun çözülmesini sağlamaktadır (43).

Prostat bezi insan yaşamı için elzem organlardan birisi olmadığından radikal prostatektomi ile organın tamamı alınabilir ancak bu girişimlerin küçük bir kısmında cerrahi girişime bağlı olarak sekonder inkontinans ve impotans gelişebilir.

2.3 Prostat bezinin histolojisi

2.3.1 Prostat bezinin normal epiteli

Işık mikroskopik olarak prostat epiteli üç ana hücre grubundan oluşur: sekretuar hücreler, bazal hücreler ve nöroendokrin hücreler (44). Bunlara ek olarak yalnızca immünohistokimyasal olarak saptanabilen ve intermediate hücre olarak isimlendirilen bir hücre grubu daha vardır (44). Bu hücrelerin keratin profili lüminal ve bazal hücreler arasındadır (44). Sitokeratin (CK) 5 ve CK 18 ile hepatosit büyüme faktörü reseptörü c-MET’i kuvvetli şekilde eksprese ederler.

Sekretuar lüminal hücreler, küçük yuvarlak nükleuslu, noktasal belli belirsiz nükleole sahip, kromatini ince granüler, sitoplazması soluk yer yer şeffaf, küboidal ya da kolumnar hücrelerdir (24). Çok düşük proliferatif aktiviteye sahiptirler. Lüminal hücreler immünohistokimyasal olarak PSA, PSMA, androjen reseptörü eksprese ederler ve histokimyasal olarak asidik mûsin içerirler. CK 8-18 pozitif olup, CK 5-14 ve p63 negatiftir.

Bazal hücreler bazal membran üzerine yerleşmiş, gland periferinde ince, basıklaşmış, belli belirsiz bir hücre grubu olarak karşımıza çıkmaktadır (24, 44). Prostat epitelinde en fazla proliferatif aktivite gösteren hücre grubudur ve sekretuar hücreler için rezerv hücre görevi üstlendikleri düşünülmektedir (45).

Bazal hücreler ayrıca infarktüs sonrası skuamöz metaplazi gösterme kabiliyetine de sahiptirler. Epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) lüminal hücrelerde tespit edilememiş olmasına karşın bazal hücrelerde mevcuttur. Bu durum epitel proliferasyonunun kontrolünde bazal hücrelerin rol aldığını düşündürmektedir (46, 47). Bazal hücreler immünhistokimyasal olarak yüksek molekül ağırlıklı keratin (HMWK) 34βE12 klonu ile pozitif olup, bu pozitiflik bazal hücrelerin izlenmediği en önemli prostat patolojisi olan adenokarsinom olgularının, adenokarsinom morfolojisini taklit eden benign lezyonlardan ayırımında kullanılmaktadır. İmmünhistokimyasal olarak kullanılabilen bir diğer bazal hücre belirteci p63'tür. Lüminal hücrelerden farklı olarak CK5-14 intermediate ve bazal hücrelerde pozitifdir. Bazal hücreler PSA, PAP, androjen reseptörü, CK 8-18 ve müsin içermezler. Prostatın bazal hücreleri, meme, tükrük bezi, pankreas gibi diğer organlardaki sekretuar bezleri döşeyenlerden farklı olarak myoepitelyal diferansiasyon göstermezler. Çünkü kısa sürede ve yüksek miktarda salgı yapması gereken prostat bezinin stroması düz kas liflerinden ileri derecede zengindir ve bu nedenle bazal hücrelerin sekretuar yardımına ihtiyaç duymaz (24).

Nöroendokrin hücreler prostat epitelinde en az sayıda izlenen hücrelerdir. Rutin hematoksilin ve eosin (H&E) incelemede seçilmeleri çok zordur ancak nadiren eozinofilik sitoplazmik granülleri ile farkedilebilirler (48, 49). Serotonin ve kromogranin, formalin takipli, parafine gömülü rutin patolojik preperatlarda nöroendokrin hücreleri göstermede en faydalı immünhistokimyasal belirteçlerdir (48, 50-52). Nöroendokrin hücrelerin fonksiyonları net olarak bilinmemekle birlikte, endokrin-parakrin düzenleyici özellikleri ile büyüme ve gelişmede rol

aldıkları düşünülmektedir (50, 51). PSA ve androjen reseptörü eksprese etmeleri epitelyal hücreler ile aynı kökeni paylaştıklarını düşündürmektedir (53). Ek olarak, androjen baskılayıcı tedaviler hem normal hem neoplastik prostat bezinde nöroendokrin hücrelerin dağılımına ve sayısına etki etmemektedir (53).

2.3.2 Prostat bezinin immünhistokimyasal özellikleri

Diğer organların patolojik incelemesinde olduğu gibi prostat patolojisinde de immünhistokimya önemli bir yardımcı metottur. Rutinde kullanılan immünhistokimyasal belirteçlerin büyük kısmını malign lezyonları benign lezyonlardan ayırmayı ve primeri bilinmeyen tümörlere yaklaşımda organ kökenin gösterilmesini sağlayan belirteçler oluşturmaktadır. PSA, PSAP, alfa metil açıl-koenzim-A racemase (AMACR), HMWK ve p63 prostatın rutin patolojik incelemesinde ek tetkik gerektiren vakalarda en sık başvuru alan belirteçlerdir (54).

Prostat spesifik antijen (PSA): İnsan glandüler kallikrein ailesine ait bir serin proteazdır (55). Neredeyse tamamen prostatın duktal ve asiner hücrelerine spesifik bir üründür. Normal, hiperplastik ve malign prostat epiteline immünhistokimyasal olarak saptanabilir (56). PSA yüksek dereceli prostat karsinomunu ürotelyal karsinomdan, kolon karsinomundan ve lenfomadan ayırmada oldukça yardımcıdır (57-59). Ayrıca primeri bilinmeyen metastatik karsinom vakalarında da prostat kökenini gösterecek bir belirteç olarak kullanılmaktadır. Ancak matür teratom, kadında periüretral gland karsinomu, mesane villöz adenomu ile adenokarsinomu ve erkeklerde tükürük bezi

karsinomları gibi sınırlı sayıda prostat dışı tümörün de PSA (+) olabileceği bilinmelidir (44). Normal ve hiperplastik epitelde sekretuar hücrelerin apikal sitoplazması üniform olarak PSA (+) iken, bu boyanma paterni adenokarsinomlarda, tümör diferansiasyonundaki azalmaya paralel olarak azalır, hatta kaybolabilir (54, 59, 60).

Prostat spesifik asit fosfataz (prostatik asit fosfataz/PSAP/PAP): Normal prostatik epitelde ve prostat karsinomunda pozitif olan ve PSA'dan daha önce kullanılmaya başlanan bir belirteçdir (55). Yüksek dereceli prostatik karsinomlarda özgüllüğü, PSA'dan daha düşüktür ve boyanma özelliği PSA'ya göre daha değişken olduğundan rutin kullanımı kısıtlıdır (61, 62).

Prostat spesifik membran antijeni (PSMA): Membran ilişkili bir glikoprotein olup prostatik doku dışında santral ve periferik sinir sistemi, ince barsak ve tükürük bezi epitelinde pozitif olabilen bir belirteçdir (55). Benign-premalign-malign lezyonlarda, boyanan hücre sayısı lezyon sıralamasına göre artmaktadır. Ayrıca karsinomlarda tümör derecesi ve evresi arttıkça, ekspresyonu artar (63). Özellikle hormon dirençli vakalarda ekspresyonunun devam etmesi PSMA'yı tümör primerini prostat olarak belirlemede oldukça değerli kılmaktadır (64, 65). Ancak özellikle mesane adenokarsinomlarının yaklaşık olarak %11 inde sitoplazmik ve daha az oranda membranöz boyanma saptanması, metastatik karsinom vakalarının değerlendirilmesinde akılda tutulması gereken bir bilgidir (66).

Alfa metil açil-koenzim-A racemase (AMACR/P504S/Racemase): AMACR dallı zincirli yağ asitlerinin beta oksidasyonunda görev alan bir

enzimdir. Prostat karsinomu yanı sıra, diğer karsinomlarda da pozitif olmasına karşın AMACR'ın daha çok neoplastik-nonneoplastik prostat lezyonlarının ayrımında kullanılması nedeniyle bu durum çok sorun yaratmamaktadır. Normal prostatik epitelde az da olsa eksprese edilir (54). Buna karşın AMACR konvansiyonel karsinomlarda %97-100 oranında pozitifdir (55). Prostatik adenokarsinom için %97 duyarlılık ve %92 özgüllüğe sahip olup (67), negatif ve pozitif prediktif değerleri %95'tir. Foamy gland, atrofik ve psödohiperplastik gibi nadir görülen adenokarsinom tiplerinde ekspresyonu daha zayıf ve daha heterojendir. Karsinom taklitçisi bir lezyon olan nefrojenik metaplazi de AMACR ile kuvvetli pozitiflik gösterir. (55).

AMACR'ın benign ve neoplastik prostat lezyonlarındaki boyanma oranları Tablo 1'de verilmiştir (44).

Tablo 1: Benign ve neoplastik prostat lezyonlarında alfa metil açil-koenzim-A racemase (AMACR) boyanma oranları

	İmmünreaktif hücrelerin ortalaması (dağılım aralığı)	İmmünreaktif asinusların ortalaması (dağılım aralığı)	Sitoplazmik boyanma yoğunluğu —,1+,2+,3+
Benign	8 (0-10)	4,6 (0-24,5)	— ~ 1+
Atipik adenomatöz hiperplazi	14 (10-17)	15,1 (1-50)	— ~ 1+
Yüksek Dereceli PIN	88 (80-100)	21,8 (2,7-57,7)	1+ ~ 3+
Kanser	97 (80-100)	35,0 (6,2-78,2)	2+ ~ 3+

Keratin 34βE12 (Yüksek molekül ağırlıklı keratin/keratin903/HMWK):

Bazal hücreler için spesifik anti-keratin 34βE12, prostatik bazal hücrelerin tamamını boyar. Sekretuar ve stromal hücrelerde ise boyanma izlenmez (44).

Bazal tabaka neoplastik hücrelerin stromal invazyonunu engelleyen bir bariyer görevi görmektedir. HG-PIN olgularının %56'sında, daha çok karsinom alanlarına komşu odaklarda olmak üzere bazal hücre tabakasında dağılma söz konusudur (44). PIN derecesi arttıkça bazal tabakadaki dağılma oranı da artmaktadır. HGPIN olgularının %52'sinde, bazal tabakanın en az 1/3'ü azalmaktadır (44). Bu durum, iğne biyopsilerinde PIN ve karsinom odaklarının ayırımında zorluk yaratmaktadır. Erken karsinomlarda, PIN odağından, neoplastik hücrelerin stromaya doğru infiltrasyonu, bazal hücre tabakasının dağıldığı alanlarda gerçekleşmektedir (39).

p63: p63 de bir diğer bazal hücre belirteci olup HMWK'dan çok az farkla da olsa, duyarlılığı daha yüksektir (68-70). Nükleer boyanma gösteren bir belirteç olması pratik uygulamada değerlendirilmeyi kolaylaştırır. Ancak, PIN gibi bazal hücre sayısının azaldığı lezyonlarda, kesit seviyesinde nükleusun bulunmama olasılığı nedeniyle seri kesitlerin de dikkatlice incelenmesi önemlidir.

Prostein (P501-S): Golgi cisimciğine lokalize bir proteindir. Benign ve neoplastik prostat dokularında eksprese edilir (55). Hücrenin golgi bölgesine uyan alanda boyanma izlenir ve boyanma yüksek dereceli tümörler ve metastatik olgularda da devam etmektedir (55). Bir çalışmada prosteinin immünohistokimyasal olarak metastatik karsinom vakalarında %99 duyarlılığa sahip olduğu bildirilmektedir (71). PSA negatif metastatik olgularda dahi pozitifliğini koruyan bu belirtecin, henüz ürotelyal karsinom ve kolon karsinomu dahil prostat dışı birçok yüksek dereceli karsinomda pozitifliği saptanmamıştır (18, 66, 71, 72).

İnsan glandüler kallikrein'i (hK2): İnsan kallikrein ailesi 3 ana üyeden oluşmaktadır: hK1, hK2 ve hK3 (73). hK2 ve PSA'nın mRNA'sı öncelikle prostatik epitelde lokalizedir ve androjenler ile kontrol edilmektedir (74, 75). Benign-premalign-karsinom transformasyonunda hK2 ekspresyonunun yaygınlığı ve yoğunluğu artmaktadır (44). Gleason grade (GG) 4 ve GG5 vakalarda neredeyse her hücrede pozitiflik gözlenirken, tümör derecesi düştükçe daha heterojen bir boyanma ortaya çıkmaktadır (76).

2.4 Prostat Bezinin Non-neoplastik Hastalıkları

Prostat bezinin non-neoplastik lezyonlarını inflamatuvar durumlar, non-neoplastik metaplazi, hiperplazi ve nodüler hiperplazi, benign neoplastik durumlar ile tedavi ilişkili değişiklikler olarak başlıklara ayırabiliriz (44). Bu başlıklar altında da oldukça geniş bir liste bulunması nedeniyle burada yalnızca araştırmamızda ele almış olduğumuz prostat patolojisinde sık görülen lezyonlar ile nadir ancak tümörlerle karışabilen lezyonlar ele alınacaktır.

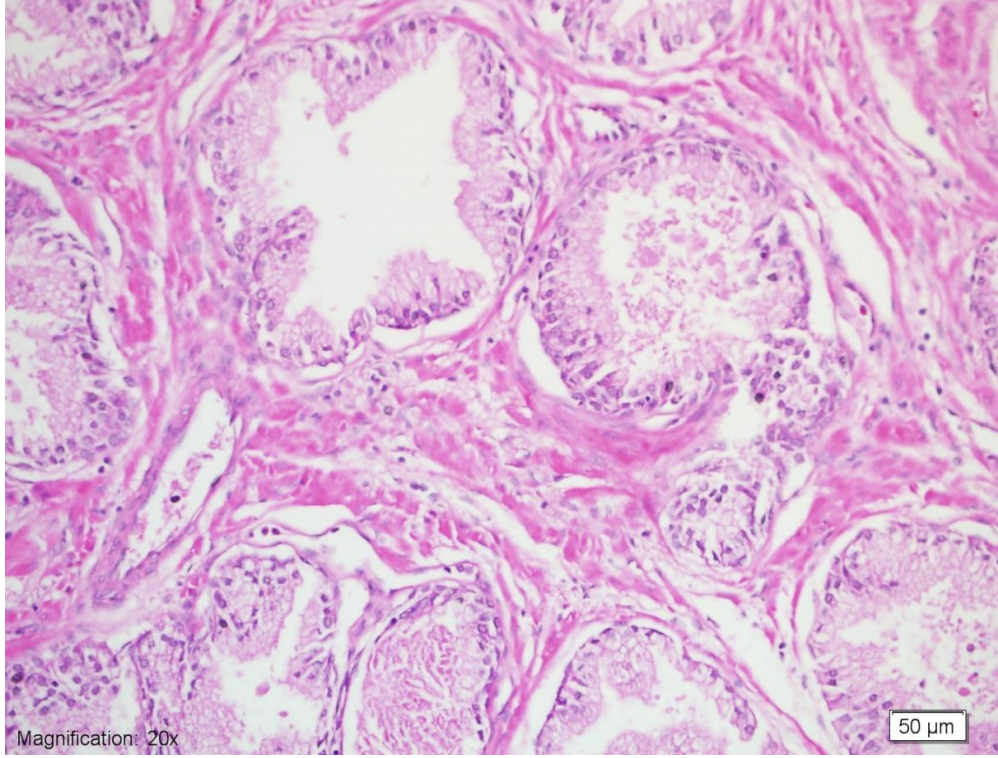
2.4.1 Nodüler hiperplazi:

Benign prostat hiperplazisi (BPH) erkekleri en sık etkileyen hastalıklardan biridir ve görülme sıklığı yaş ile birlikte artar. Kırk yaş altında az sayıda erkekte gözlenirken, 80 yaş üstü erkeklerde histolojik BPH bulguları %80 sıklıkta görülür (77). BPH için etyolojik risk faktörleri yaş ve androjen varlığıdır (78). Moleküler patogenezi tam olarak ortaya konamamış olmasına karşın, epitel-stroma

arasındaki hücresel ilişkiler ve çeşitli büyüme tetikleyici faktörlerin etkisiyle geliştiği düşünülmektedir (29).

Nodüler formda epitelyal ve stromal hiperplazi, BPH'nın en sık görülen histopatolojik tanısal karşılığıdır (77). Her türlü prostat biyopsi örneğinde sıradan nodüler hiperplazi ile karşılaşılabilir. Ancak prostat iğne biyopsileri çoğunlukla transizyonel zondan örnekleme içermediğinden, bu tür biyopsilerde daha az sıklıkta karşımıza çıkar (77).

Mikroskopik olarak saf stromal hiperplazi ya da epitelyal-stromal hiperplazi bir arada izlenebilir. Büyük ve iyi gelişmiş glandüler nodüller, küçük büyütmeden, hatta makroskopik olarak çıplak gözle bile kolaylıkla seçilebilir. Histopatolojik olarak epitel, kompleks dallanan bir yapılanma gösterir. Birçok nodülde var olan duktuslardan tomurcuklanan yeni glandların geliştiği gözlenebilir. Değişik boyut ve şekillerdeki glandlarda papiller yapılanmalar, luminal ondülasyonlar ve dallanmalar epitelyal hiperplazinin bulguları arasındadır. Hiperplastik glandlar yüksek kolumnar hücreler ve bazal tabaka hücreleri ile döşelidir (resim 1).

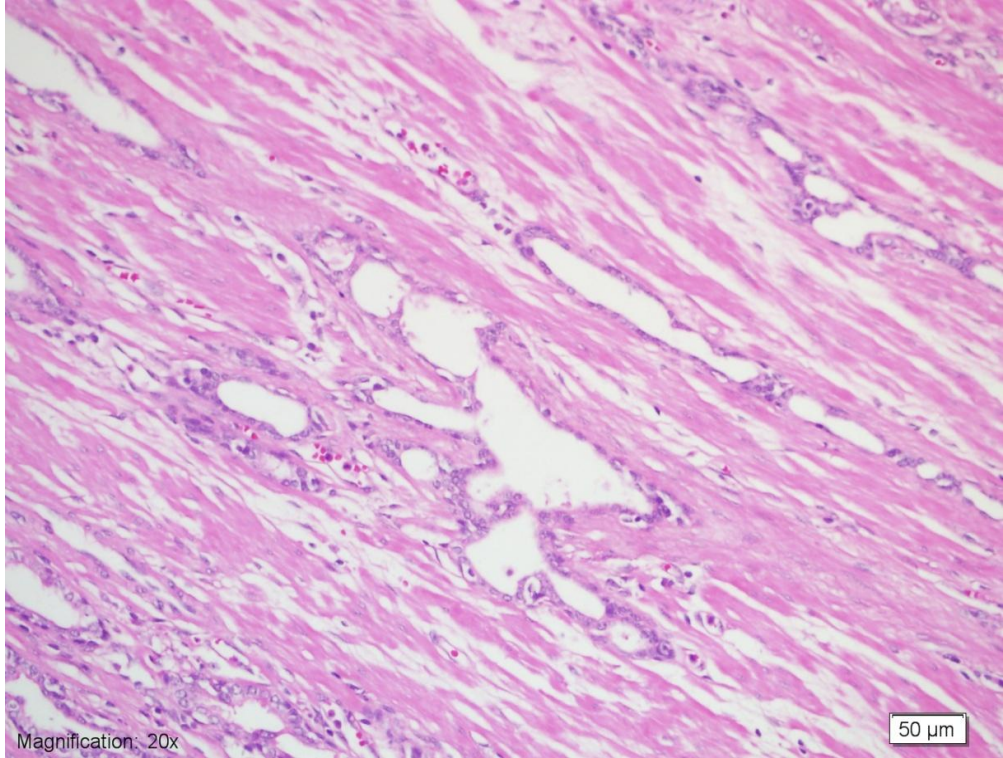


Resim 1: Nodüler hiperplazi odağı, geniş sitoplazmalı, hiperplazik görünümde lüminal hücreler ile karakterli lezyon alanı (H&E 200x)

2.4.2 Atrofi:

Atrofi yaş ilişkili ve oldukça sık görülen benign bir değişikliktir. BPH ve prostatik karsinom ileri yaş hastalığı olmasına karşın atrofi, 19-29 yaş arası erkeklerin %67'sinde saptanmıştır (79). Kırk yaşın üzerindeki erkeklerde görülme oranı ise %100'dür (80). Nedeni kesin olarak bilinmemektedir. Ancak hiperplastik nodüllerin kompresyonu, inflamasyon, hormonlar, obstrüksiyon, sistemik ve lokal iskemi, atrofi nedenleri arasında sayılabilir. Atrofi 1954 yılında Franks tarafından kistik değişiklik içeren ve içermeyen basit atrofi, sklerotik atrofi ve post-atrofik hiperplazi olarak sınıflanmıştır (81). Daha sonra parsiyel atrofi tanımlaması da atrofiler arasındaki yerini almıştır (82). Işık mikroskopik olarak atrofi, luminal

epitel hücrelerinin sitoplazmalarındaki azalma ile karakterlidir (resim 2). Stromal alanda fibrozis de atrofiye eşlik etmektedir. Atrofi, kistik değişiklikler içerdiğinde çoğunlukla tanı sorunu yaratmamakla birlikte, küçük gland formundaki atrofiler prostat karsinomu ile ayırıcı tanı güçlüğü yaratabilmektedir.



Resim 2: Atrofi odağı, dar sitoplazmalı, yer yer basık lüminal hücreler ile döşeli, irregüler konturlu prostatik glandlar (H&E 200x)

Güncel olarak prostatik atrofi diffüz ve fokal olmak üzere ikiye ayrılır. Fokal atrofi parsiyel, komplet ve kombine olmak üzere üç tipte gelişebilir. Komplet atrofi de kendi içerisinde basit, sklerotik ve hiperplastik (PAH) olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Prostatik atrofinin morfolojik sınıflaması tablo 2’da gösterilmiştir.

Tablo 2: Prostatik atrofinin morfolojik sınıflaması

A-Diffüz
B-Fokal
1- Parsiyel
2- Komplet
a) Basit
b) Sklerotik
c) Hiperplastik (PAH)
3- Kombine

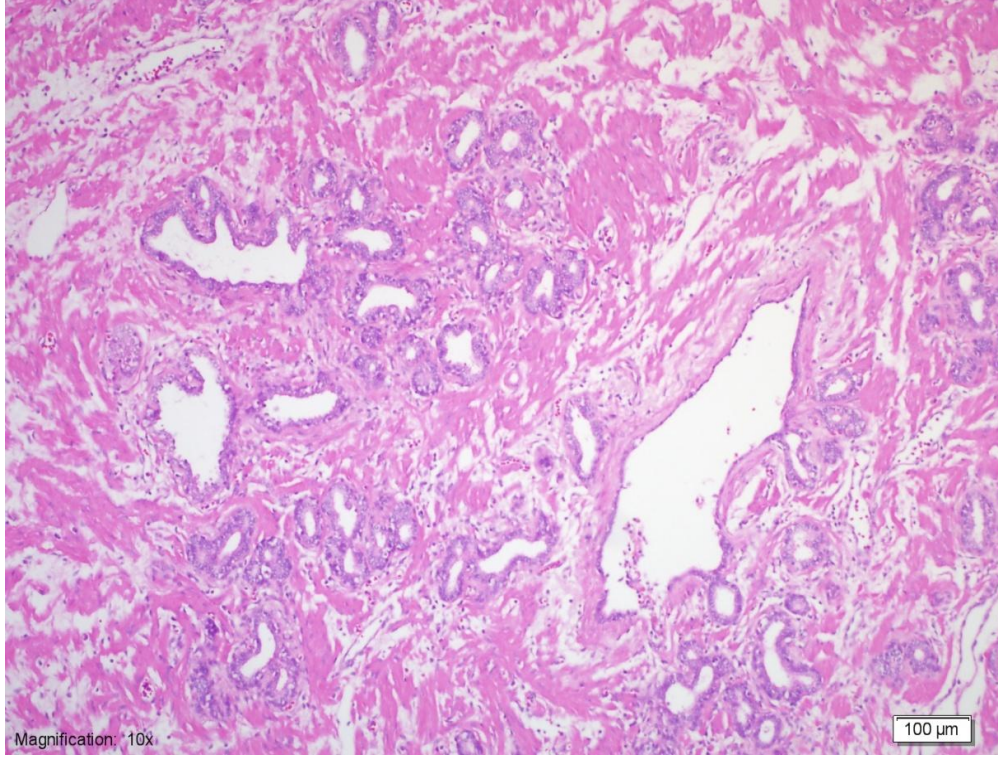
Parsiyel atrofi rutinde en sık karşımıza çıkan atrofi tipidir ve komplet atrofiden farklı olarak disorganize, kalabalık gland toplulukları şeklinde olduğundan daha soluk sitoplazmaları nedeniyle de küçük büyütmeden tümör izlenimi oluşturmaktadır. Ek olarak AMACR ile bu glandlarda pozitiflik gözlemlenmektedir (83-85). AMACR konvansiyonel karsinomlarda %97-100 oranında pozitiflik gösteren bir immünohistokimyasal belirteç olması nedeniyle bu yanlış pozitiflikler tanısal sorunlara neden olabilmektedir (55).

Komplet atrofide glandlar dar sitoplazmalı görünümündedir ve nükleer kalabalıklaşmaları nedeni ile bazofilik görünürler. Komplet atrofi, basit, sklerotik ve PAH olarak sınıflandırılabilir (86). *Basit atrofi* sıklıkla tüm lobülü tutar ancak izole asinusların da etkilendiği durumlar olabilir. Asinuslar hücre sitoplazmalarının daralması nedeniyle küçülmüş görünürler. Kistik gelişim saptanabilir. Çevre stromada fibrozis izlenebilir. *Sklerotik atrofi* ilk kez Moore tarafından tanımlanmıştır (87) ve atrofik epitel hücrelerinin döşediği asinuslar çevresinde fibroblast proliferasyonu ile karakterlidir. Kronikleştiğinde lezyon yoğun fibrohyalen bir halka ile çevrelenir ve son dönemlerinde asinusları ortadan

kaldıran, az sayıda inflamatuvar hücre içeren gevşek bir mezankimal bir doku haline dönüşebilir.

2.4.3 Postatrofik hiperplazi (PAH):

Postatrofik hiperplazi (PAH), komplet atrofinin, sklerotik ve basit atrofi ile beraber 3 alt tipinden birini oluşturmaktadır. PAH, hiperplaziye gitmiş atrofik epiteli tanımlar. Görülme sıklığı iğne biyopsilerinde %2-4, prostatektomi materyallerinde ise %13-78 arasında değişmektedir (88-90). PAH genelde periferik zonda izlenmekte olup, sıklıkla diğer atrofi tipleri ile birliktelik gösterir. Mikroskopik olarak santralinde bir duktus içeren, lobüler sınırlara sahip, küçük, düzenli sayılabilecek sıkışık asinuslardan oluşur (resim 3). Asinuslar genelde küçük, oval yuvarlak şekilli olup şekil ve boyut olarak farklılık gösterebilmektedir. Asinus epiteli basıklaşmış kübik hücrelerden oluşur ve lüminal epitelyal hücreler hafifçe irileşmiş, ince granüler kromatin paternine sahip, tek nükleollü nükleuslar ile karakterlidir. Stromal elastosis komplet atrofinin tüm tiplerinde izlenir ve adenokarsinom ayırıcı tanısında kullanılabilen bir bulgudur (91).

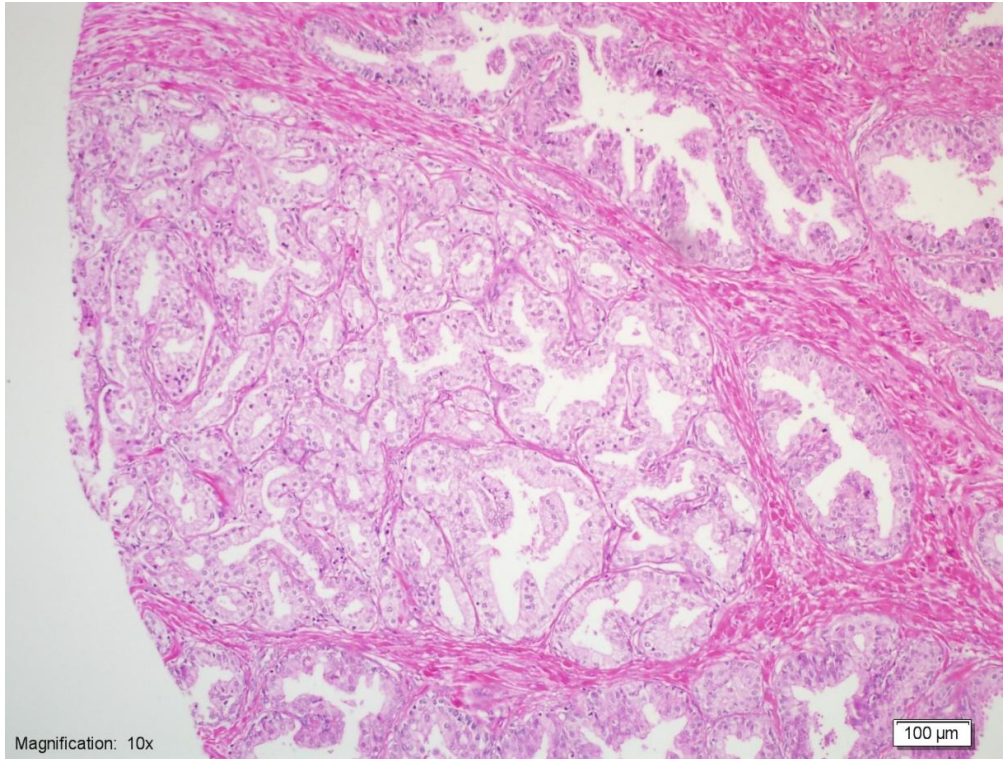


Resim 3: Postatrofik hiperplazi odağı, santral duktus çevresine dizelenmiş hiperplazik, atrofik glandlar (H&E 100x)

2.4.4 Atipik adenomatöz hiperplazi (Adenozis/AAH):

Bostwick AAH'yi karsinom ile karışabilen lokalize küçük gland proliferasyonu olarak tanımlar (92, 93). Buna karşın, birbirine bitişik glandların lobüler büyüme paterni ile oluşturduğu nispeten düzgün sınırlı nodüller de AAH olarak tanımlanmaktadır. Görülme sıklığı, çalışmalar arasında değişkenlik göstermektedir, ancak genel olarak BPH nodüllerinin dağılımına benzer (94). Genellikle periüretral bölge ve transizyon zonunda görülmektedir. Histolojik olarak, iyi sınırlı, sıkışık, küçük, soluk görünümlü asinusların daha büyük, kompleks glandlarla iç içe geçtiği lezyon şeklindedir (resim 4). Sınırları karakteristik olarak düzgün yuvarlak görünümündedir, nadiren stromaya uzanım

gösteren infiltratif patern de görülebilir. AAH'de küçük asinuslar lezyonun periferinde yarım ay şeklinde izlenebileceği gibi, daha büyük, kompleks glandlar ile iç içe de olabilir. Büyük glandüler yapılarda bazal tabaka daha kolay seçilebilirken küçük asinuslarda bazal tabaka dağınık şekildedir ve bu durum küçük biyopsilerde tanısal zorluk oluşturur.



Resim 4: Adenosis odağı, düzgün sınırlı, hiperplazik görünümde, proliferatif glandlar (H&E 40x)

2.5 Prostat bezinin neoplastik hastalıkları

Prostat bezinde farklı sıklıklarda izlenen oldukça fazla neoplastik lezyon tanımlanmıştır. Burada karşımıza en sık çıkan PIN ve asiner tip adenokarsinomdan bahsedilecektir.

2.5.1 Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN)

Prostatik asinus ve duktusların epitele sınırlı neoplastik transformasyonudur (95). İlk olarak Oertel H. tarafından 1926'da atipik hiperplazi olarak tanımlanmıştır.

PIN günümüzde Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflamasında, yüksek dereceli ve düşük dereceli olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. PIN'in morfolojik ve terminolojik evrimindeki önemli basamaklardan bir tanesi 1986'da McNeal ve Bostwick'in tanımladığı ve üç dereceye ayırdıkları displazi terminolojisidir (96). O zaman tanımlanan temel morfolojik kriterler, bugün PIN için kullanılan temel morfolojik kriterler ile aynıdır. Displazi terminolojisinden PIN terminolojisine geçişi 1987'de Bostwick ve Brawer önermiş ve 1989'da "*The National Prostate Cancer Detection Project*"'in konsensus kararı sonrası, "PIN" yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (39, 97). Aynı konferansta PIN lezyonlarında ikili sınıflamanın kullanılması kararlaştırılmıştır. PIN-1, düşük dereceli intraepitelyal neoplazi (LG-PIN), PIN-2 ve PIN-3 ise HG-PIN olarak sınıflanmıştır.

Prostat biyopsilerinde izole HG-PIN görülme sıklığı %9'dur (44). LG-PIN sıklığı ile ilgili ise literatürde kesin veriler bulunmamaktadır. Araştırmalardan bir kısmında lezyonların PIN derecesi belirtilmeden bildirilmiş olması, HG-PIN ve

LG-PIN ayrımının kritik öneme sahip olması nedeniyle bu araştırmaların değerini düşürmektedir (77). Prostatik neoplazilerde ırksal farklılıklar oldukça belirgin olduğundan, farklı coğrafyalarda sonuçların da farklı olması şaşırtıcı olmamaktadır (95).

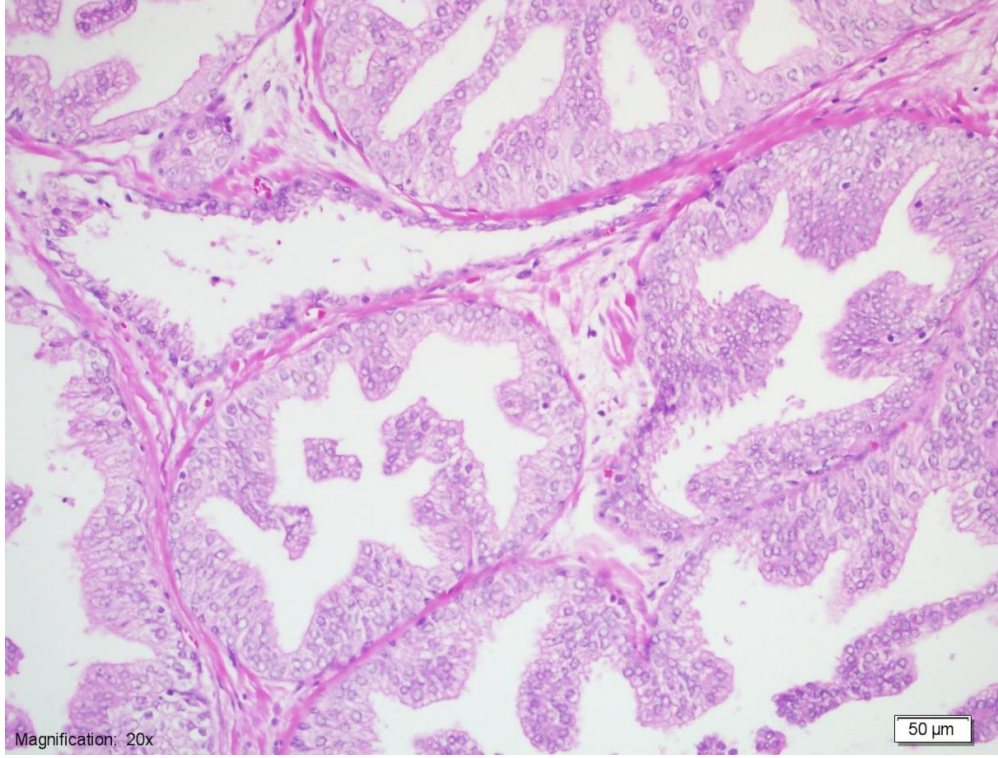
Klinik olarak PIN, ileri yaşıta izlenen, digital rektal muayene ile ya da ultrasonografi ile saptanamayan bir lezyondur. Dolayısıyla tanı rastlantısal olarak konur.

PIN lezyonlarının histolojik ayrımı hem yapısal ve hem sitolojik özellikler değerlendirilerek yapılır. HG-PIN'in araştırmacılar arası uyumu iyiden mükemmele yakın farkla değişkenlik gösterirken, LG-PIN için aynı şey söz konusu değildir (98-100). Ayrıca LG-PIN'in karsinom gelişimi için öncül bir lezyon olmaması ya da eşlik eden bir malignite ile ilişkisinin bulunmaması nedeniyle klinik önemi de oldukça düşüktür (101-105). Bu nedenle LG-PIN, patologlar tarafından günlük pratikte rapor edilmez (106). Ancak HG-PIN iğne biyopsisi, trans-üretal rezeksiyon (TUR) ve radikal prostatektomilerde belirtilmesi gereken bir lezyondur (106).

Genetik değişiklikler açısından incelendiğinde, HG-PIN'in benign epitelden daha çok karsinoma yakın özellikler taşıdığı gösterilmiştir ve bu yakınlıktaki bulgulardan önemli bir kısmını genetik düzensizlikler oluşturmaktadır (107, 108). HG-PIN ve prostatik karsinomda en sık izlenen ortak genetik değişiklikler arasında 7q22-q31 kazanımı, delesyonu ya da translokasyonu, 8q kazanımı, 8p, 10q,16q ve 18q kaybı bulunmaktadır. Bu genetik bölgelerdeki tümör baskılayıcı genlerin kaybı ya da onkogenlerin

kazanımı sonucunda neoplastik değişimin başlaması ve ilerlemesi söz konusu olabilmektedir (108-112).

Düşük dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (LG-PIN): Daha önceleri grade 1 displazi ya da PIN-1 olarak tanımlanan bu lezyonun morfolojik bulgusu küçük büyütmeden daha koyu boyanan, orta büyük çaplı kompleks glandlar şeklinde izlenen, prostatik duktus ve asinusların intraepitelyal proliferasyonudur (39, 95, 96). Dolayısıyla, hücresel tabakalanmada artış mevcuttur. Büyüme paterni, HG-PIN’de olduğu gibi *mikropapiller*, *kribriform*, *tufted* ya da *basık (yassı)* olabilir (113). Bazal hücreler çoğunlukla sayıca normaldir. Nükleer özellikler LG-PIN’i sıradan epitel hiperplazisinden ve daha da önemlisi HG-PIN’den ayırır. En belirgin özellik nükleer irileşme ile ortaya çıkan nükleus sitoplazma oranında artış ve anizokaryozdur. Nükleer hiperkromazi belirgin olmamalıdır. LG-PIN’de nükleol izlenebilir ancak küçük ve nadirdir (resim 5).



Resim 5: LG-PIN odağı, belirgin nükleol içermeyen, psödostratifiye glandlar, intralüminal papiller projeksiyonlar ile karakterli glandlar (H&E 200x)

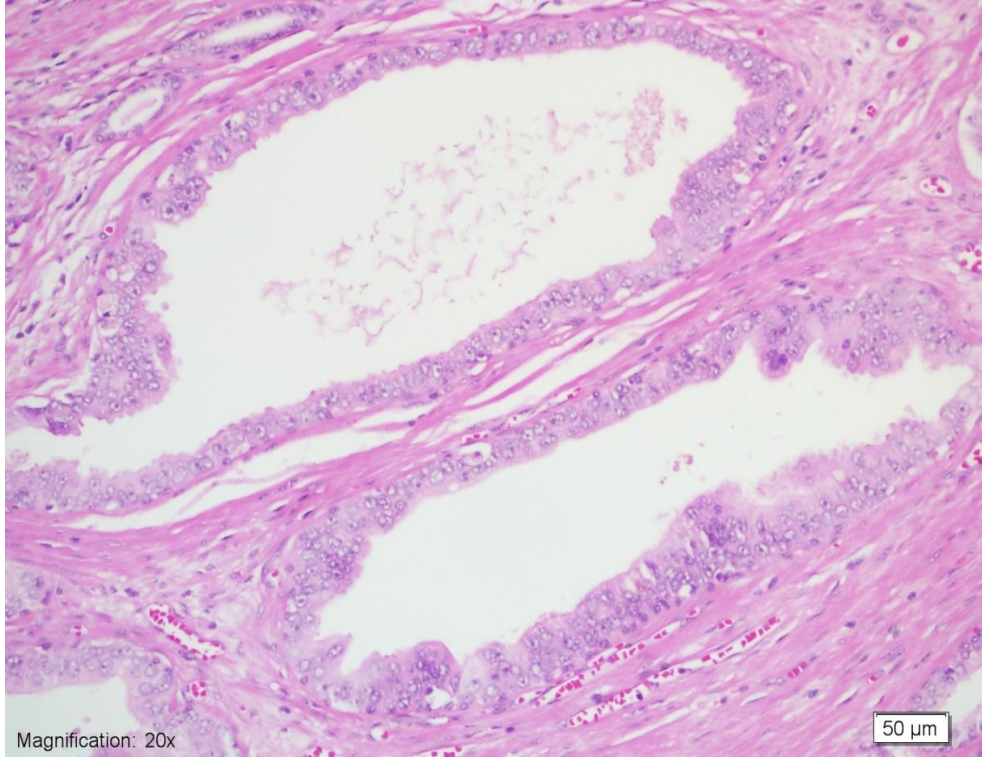
Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (HG-PIN): HG-PIN, genel olarak periferik zondan gelişen, karsinom ile ortak fenotipik, biyokimyasal ve genetik değişiklikler içeren hücrelerin intraepitelyal proliferasyonudur ve prostat karsinogenezinin kabul edilen en erken evresidir (114, 115). Fibromüsküler stromada infiltrasyon izlenmez. HG-PIN için dört farklı yapısal patern tanımlanmıştır; *mikropapiller*, *kribriform*, *tufted* ve *yassı (basık)* (113). Bu paternler, histopatolojik olarak lezyonunun tanınabilirliği açısından önemli olmasına karşın, eşlik eden tümör varlığı ya da beraberindeki tümör derecesi ile ilişkili değildir (113). Farklı paternler aynı gland içinde ya da komşu glandlarda beraber görülebilir. Parsiyel glandüler tutulum da sık izlenen bir bulgudur. HG-

PIN de, LG-PIN gibi tümörle iç içe geçmiş kompleks formda olabileceği gibi tümörden bağımsız, uzak bir odakta izole şekilde de görülebilir.

HG-PIN bazal tabaka hücreleri ve *atipik* lüminal hücrelerden oluşmaktadır. Bazal tabaka varlığı HG-PIN tanısı için kritik bir yapısal bulgu olmasına karşın, PIN derecesi arttıkça bazal hücre sayısı da azaldığından tanıda zorluğa yol açmaktadır. Lüminal hücrelerdeki atipi, *invaziv* karsinom hücreleri ile aynıdır. *Nükleer irileşme, nükleer kromatinde kabalaşma* ve *belirgin nükleol* varlığı en karakteristik bulgulardır (resim 6).

TUR, iğne biyopsisi ya da açık prostatektomi materyallerinde HG-PIN'in tanınması eşlik eden artmış karsinom varlığı nedeniyle kritik öneme sahiptir. İğne biyopsisi ile HG-PIN tanısı almış olguların tekrarlanan biyopsilerinde karsinom görülme sıklığı ortalama %30'dur (116-118) ve yaklaşık %80-90 hastada karsinom tekrarlanan ilk biyopside saptanmaktadır (117).

Klasik yaklaşımın tersine, güncel olarak HG-PIN'in prostatik karsinomu için *tek evrensel öncü lezyon olmadığı* düşünülmektedir (77). Özellikle transizyonel zonun düşük dereceli karsinomları, HG-PIN ile yakın ilişkili değildir (119, 120). Ek olarak, otopsilerde ve radikal prostatektomi materyallerinde saptanan küçük, tek odaklı prostat karsinomlarına eşlik eden, komşu HG-PIN odakları görülmemiştir (121, 122). Bu durumda AAH, PAH ya da proliferatif inflamatuvar atrofi gibi prostatik epitelyal değişiklikler, neoplazi öncüsü olabilecek lezyonlar olarak ortaya atılmıştır (90, 123).



Resim 6: HG-PIN odağı, belirgin nükleollü, veziküler nükleuslu, psödostratifiye glandlar (H&E 200x)

2.5.2 Prostatik adenokarsinom:

Prostat malignitelerinin yaklaşık %95'ini oluşturmaktadır (44). DSÖ 2004 sınıflamasına göre glandüler maligniteler, asiner adenokarsinom, duktal adenokarsinom ve iğsi hücre diferansiyasyonu gösteren adenokarsinom olarak sıralanabilir. Bunların tipleri ve diğer tümörler de listeye eklendiğinde karşımıza oldukça geniş bir isimlendirme şeması çıkmaktadır.

Prostat karsinomu, dünyada farklı bir coğrafik dağılım gösterir ve nedenleri çok çeşitlidir. Görülme sıklığı yaş ilerledikçe artar ve 90 yaşındaki erkeklerin yaklaşık %80'inin prostat bezinde malign hücreler bulunmaktadır (124).

Histolojik incelemede prostat karsinomu iyi diferansiye, normal prostatik glandlardan ayrılamayan glandlar oluşturan formdan, ek inceleme yöntemleri ile prostat kökeninin gösterilmesini gerektiren az differansiye forma kadar geniş bir histolojik yelpazede karşımıza çıkabilir. Bu spektrumdaki tek ortak nokta, neoplastik hücreleri çevreleyen bir bazal hücre tabakası olmaması ve tümörün genel olarak tek tip tümöral hücrelerden meydana geliyor olmasıdır. Bazal hücre varlığının, yalnızca H&E kesitlere dayanılarak yapılması çok uygun olmayabilir çünkü ışık mikroskopik olarak neoplastik olduğu düşünülen glandlarda bile bazal hücre benzeri hücreler izlenebilir (95). Prostatik adenokarsinomların tanısında, yapısal, nükleer, sitoplazmik ve intralüminal özellikler önemli yere sahiptir. Ancak karsinom taklitçisi benign ya da malignite öncüsü lezyonlarda da bu özellikler izlenebilir. Ancak *perinöral invazyon*, *müsinöz fibroplazi (kollajenöz mikronodüller)* ve *glomerülasyon* tümöre özgün özellikler olarak bildirilmektedir. (125).

Yapısal özellikler; Gland oluşturan prostatik karsinomda, tipik olarak normal prostatik dokudan daha kalabalık glandüler yapılanmalar izlenir. Adenokarsinom hücrelerinin gelişigüzel dağılımı tipiktir. Birbirine dik uzanan gland formasyonları ya da düz kas bantları ile birbirinden düzensiz şekilde ayrılmış glandlar ya da büyük glandlar arasına girmiş küçük glandüler yapılanmalar infiltrasyon göstergesidir. Glandüler diferansiasyonun giderek azalması ile oluşan kribriform yapılanmaların ve kaynaşmış glandların ortaya çıkması lezyonun invaziv karakterinin tanınmasını kolaylaştıran özelliklerdir. Tabakalar, hücre kordonları ya da izole tek tek hücreler şeklinde tümöral

hücrelerin izlenmesi diferansiasyon kaybı göstergeleridir. Tanımlanan bu yapısal büyüme paternleri prostat karsinomlarının derecelenmesinde kullanılan anahtar özelliklerdir.

Nükleer özellikler; prostat karsinom hücrelerinin nükleer özellikleri, normal prostat epitel nükleusundan ayrılamayacak kadar normale yakın bir görünüm ile ciddi derecede atipi arasında değişkenlik gösterebilir. Ancak nükleer atipinin derecesi genellikle yapısal diferansiyasyon derecesi ile korelasyon gösterir. Çoğu prostat karsinomunda çevredeki normal prostat glandları ile karşılaştırıldığında, kolaylıkla farkedilebilen sitolojik değişiklikler mevcuttur. Belirgin nükleol varlığı ile birlikte nükleer irileşme sık izlenen bir bulgudur. Ancak bazı karsinom hücrelerinde nükleol belirginliği olmadan nükleer hiperkromazi ve nükleer irileşme izlenebilir. Glandüler yapıların tamamen ortadan kalktığı tümörlerde bile nükleus boyutu ve şekilleri birbirinden çok az farklılık gösterir. Nadiren çok ileri evre ve yüksek dereceli tümörlerde belirgin nükleer pleomorfizm gözlenir. Düşük dereceli tümörlerde mitoz nadir olmakla birlikte, yüksek dereceli tümörlerde göreceli olarak sık izlenebilir.

Sitoplazmik özellikler; Adenokarsinom glandları ondülasyon ve sitoplazmada dalgalanma içermeyen kesintili kıvrıntılar ve keskin lüminal kenarlara sahiptir. Buna karşın benzer boyuttaki benign glandların lüminal yüzleri papiller içe katlanmalar ile irregüler şekildedir. Apikal tomurcuklanma, hem benign hem de malign glandlarda izlenebildiği için ayırıcı yardımcı olmamaktadır. Düşük dereceli prostat karsinomlarında sitoplazma benign glandlara benzer şekilde sıklıkla soluk-şeffaf görünümündedir. Ancak amfofilik

sitoplazma neoplastik glandlar için tanısai bir bulgudur. Bazı benign glandlarda bulunmasına karşın malign hücrelerin sitoplazmalarında lipofuskin bulunmaz.

Intralüminal özellikler; Prostat karsinomlarında izlenebilecek diğeri bir bulgu da prostatik kristaloidlerdir. Kristaloidler yoğun eozinofilik, kristal benzeri, çok kenarlı geometrik şekillerde ya da çubuk şeklinde yapılardır. Karsinom için tanısai olmamakla birlikte benign glandlardan çok malign glandlarda izlenen bir bulgudur. Kristaloidlerin sıklıkla izlendiği malignite taklitçisi lezyonlardan biri AAH'dir (126). Özellikle düşük dereceli karsinomlarda izlenen bir diğeri bulgu da intralüminal pembe, aselüler, yaygın sekresyon ya da mavi, müsinöz sekresyonlardır (127). Korpora amilasea ise malign glandlarda nadiren izlenen, daha çok benign glandlara özgü bir lüminal yapılanmadır (128).

Maligniteye spesifik özellikler; Yukarıda tanımlanan tüm özellikler nadir de olsa benign gelişimlerde de izlenebilir ancak üç özellik tümör için spesifiktir; *perinöral invazyon, müsinöz fibroplazi ve glomerülasyon* (95). *Perinöral invazyon* ile karışabilen bir durum periferik sinir kesitlerindeki çentiklenme (indentasyon) dur. Perinöral çentiklenmede sinir demeti ile yalnızca bir noktadan ilişkili tamamen benign görünümde glandüler yapılanma izlenirken, perinöral invazyonun temel özelliklerinden birisi malign glandların sinir demetinin çevresini neredeyse tamamen sarmasıdır (129, 130). *Müsinöz fibroplazi* ya da *kollajenöz mikronodüller*, bazen müsinin organizasyonunu yansıtır şekilde fibroblastların çok narin, gevşek şekilde içe doğru gelişmesidir. *Glomerülasyon* ise lümeninden bir nokta ile bağlantılı kribriform görünümde, glomerülü andırır tarzdaki glandüler yapılanmayı tarif eder.

2.6 Gleason Derecelendirmesi:

Donald Gleason 1966 yılında, prostatik karsinomları derecelendirmek için temel dayanak olarak tümör morfolojisinin kullanımını önermiştir (131). Gleason'nın derecelendirme sistemi ilk tanımlandığı zamandan beri farklı şekillerde modifiye edilmiş olmasına karşın, halen temel dayanak noktası glandüler yapılanmadır, nükleer atipi değerlendirilmez (131). Gleason derecelendirmesi azalan diferansiyasyonu temsil eden 5 histolojik paterni tanımlamaktadır. *Patern 1-3'te* tüm glandlarda lüminal diferansiyasyon ile epitelyal polarite korunmuştur. *Patern 4'te* polarizasyonda parsiyel kayıp, *patern 5'te* ise nadir lüminal diferansiyasyon ile karakterli polarizasyonda tama yakın kayıp söz konusudur. Prostatik karsinom sıklıkla morfolojik heterojenite gösterir ve genelde birden farklı histolojik patern bir arada bulunur. Bir tümörde mevcut olan en sık ve ikinci en sık paternler Gleason skorunu belirlemek için toplanır. Gleason skor 2 ve 3 çok az olguda izlenir çünkü patern 1 tümörler çok nadirdir. Gleason skor 4 de yine patern 2 tümörlerin sık olmaması ve beraberinde en az patern 3 tümörün eşlik etmesi nedeniyle karşımıza çok fazla sıklıkta çıkmamaktadır. İğne biyopsilerinde Gleason skor 2-4'ün raporlanması önerilmemektedir (132, 133). Epstein, makalesinde GG 1 ve GG2 sanılan lezyonların daha yüksek dereceye sahip olduğunu, üropatologlar arasında bile tekrarlanabilirliğinin düşük olduğunu ve hasta takibi açısından sorunlara neden olabileceğini bildirmektedir (132, 133).

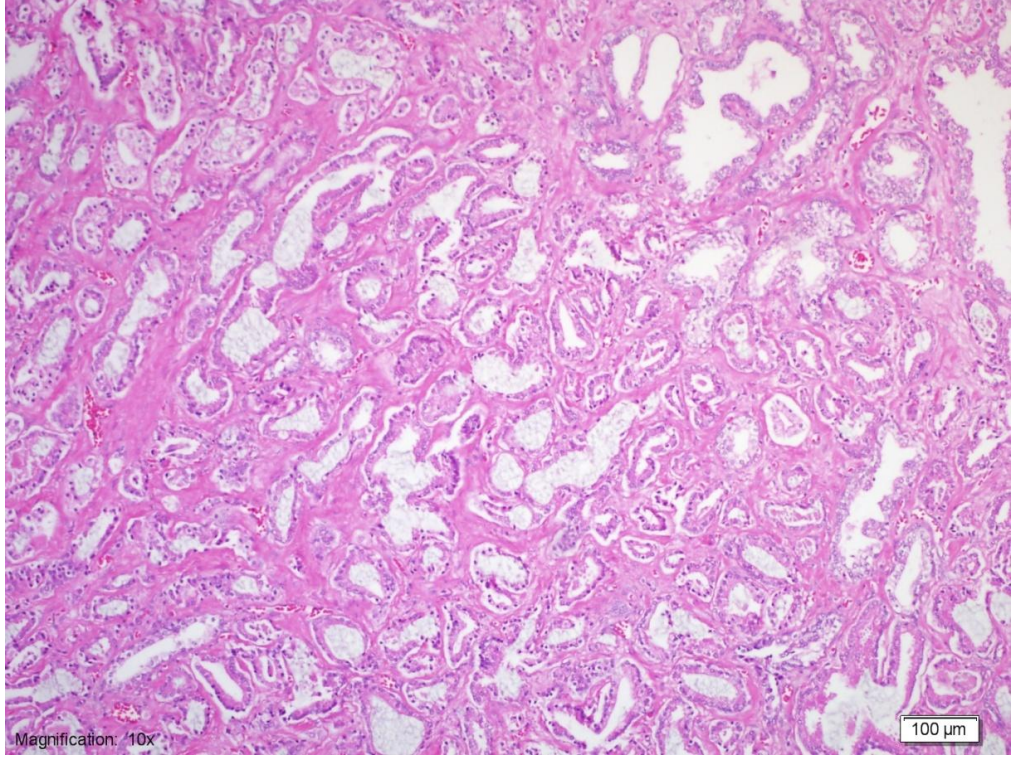
Gleason derecelendirme sistemi güncel haline, 2004 DSÖ tarafından yapılan ve devamında 2005 yılında *International Society of Urological Pathology*

(ISUP) tarafından düzenlenen konsensus konferansı kararları ile gelmiştir (95, 134).

Patern 1: Çok iyi sınırlı, nodüler görünümde, oval-yuvarlak şekilli, patern 3'te izlenen glandlardan daha büyük glandlardan oluşmaktadır. Tümör glandları arasında stroma çok azdır. Gleason skor $1+1=2$ olan vakaların çoğu günümüzde atipik adenomatöz hiperplazi olarak tanı almaktadır.

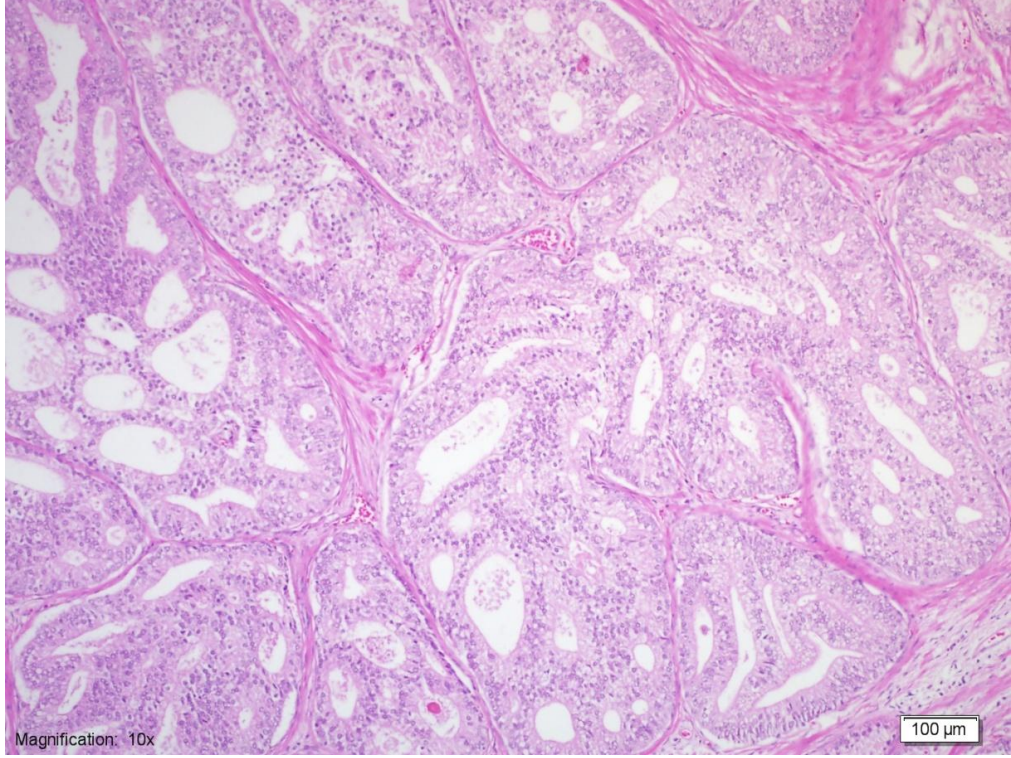
Patern 2: Patern 1'den minimal derecede farklıdır. Tümör nodülünün çevresinde minimal infiltrasyon izlenebilir ve glandlar patern 1'deki kadar uniform ve gevşek düzende değildir.

Patern 3: Birbirinden ayrık şekilde dağılmış, küçük boyutta glandüler elemanlardan oluşur ve non-neoplastik prostat asinusları arasındaki stromayı infiltre eder (resim 7). Glandlar arasında belirgin boyut ve şekil farklılığı göze çarpar. ISUP konsensus konferansında kribriform yapıdaki glandlardan non-neoplastik prostat glandı büyüklüğündeki yuvarlak, düzgün sınırlı, glandın içindeki lümen ve köprülerin aynı kalınlıkta olduğu kribriform glandlar patern 3, daha büyük ve düzensiz şekilli, düzensiz sınırlı, lümen ve köprü kalınlıklarının birbirinden farklı olduğu kribriform glandların ise patern 4 olarak değerlendirilmesi kararlaştırılmıştır.



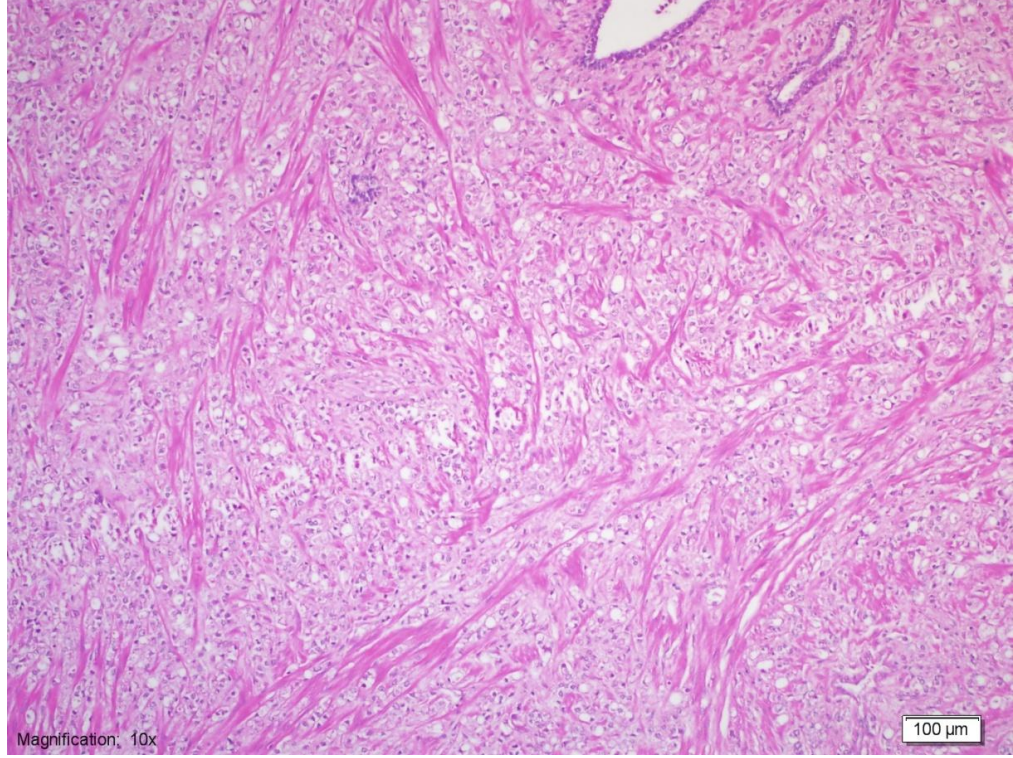
Resim 7: Gleason Grade 3 adenokarsinom odağı, düzensiz sınırlı, infiltratif paternde, iyi gelişmiş tümöral glandlar (H&E 200x)

Patern 4: Kaynaşmış mikroasiner glandlar, sınırları net seçilemeyen glandlar, büyük kribriform glandlar ve düzensiz sınırlı kribriform glandlar patern 4 içerisinde değerlendirilir (resim 8). Renal hücreli karsinoma benzeyen ve hipernefroid tip olarak isimlendirilen patern de patern 4 içerisinde yer almaktadır.



Resim 8: Gleason Grade 4 adenokarsinom odağı, ekspansil, kribriform glandlar (H&E 100x)

Patern 5: Glandüler diferansiyasyonun çok az ya da hiç izlenmediği, solid tabakalar, kordonlar ve tek tek hücrelerden oluşan paterndir (resim 9). Santralinde komedo nekrozun izlendiği papiller, kribriform ya da solid paternde tümöral oluşumlar patern 5 olarak sınıflanmaktadır.



Resim 9: Gleason Grade 5 adenokarsinom odağı, belirgin gland formasyonu oluşturmayan, tek hücreler ve gruplar halinde infiltratör tümöral gelişim (H&E 100x)

2.7 NKX3.1:

NKX3.1 androjen bağımlı, prostata spesifik bir homeobox gendir (8). Homeobox hayvan, bitki ve mantarlarda anatomik gelişimi düzenleyen DNA sekanslarıdır. Yüzseksen baz çifti içeren korunmuş bir DNA motifidir. Altmışbir aminoasitlik homeodomain denilen DNA'ya bağlanmayı sağlayan proteini kodlarlar ve ürünleri *transkripsiyonel düzenleyici* moleküllerdir (135).

NKX3.1'in, prostatik glandlarda transkripsiyonel, mRNA ve protein ekspresyonlarını araştıran az sayıda çalışma mevcut olup, literatürde oldukça farklı sonuçlar olduğu dikkati çekmektedir. Xu ve ark. prostatik karsinomda NKX3.1 mRNA seviyelerinin olguların %31'inde over-eksprese olduğunu,

%21'inde azaldığını, %48'inde normal epitel ile aynı seviyede olduğunu saptamıştır (136). Yine aynı çalışmada organa sınırlı hastalıkta mRNA over-ekspresyonu %22 iken, yaygın hastalıkta over-ekspresyon %40 olarak izlenmiştir (136). Buna karşın Ornstein ve ark. araştırmalarında kantitatif in-situ hibridizasyon ile NKX3.1 mRNA seviyelerinin normal epitel ile erken evre prostat kansinomu arasında farklılık göstermediğini saptamıştır (137). Korkmaz ve ark. da hem in-situ hibridizasyon ile mRNA seviyelerinin hem de immünhistokimyasal olarak NKX3.1 ekspresyonunun artmış olduğunu ve tümör derecesi ya da evresi ile ilişki olmadığını göstermiştir (138).

NKX3.1'in benign lezyonlarda ekspresyonunu araştıran az sayıda araştırma bulunmaktadır. Benign lezyonlar arasında inflamasyon önemli bir yer tutmaktadır. Kronik inflamasyonun uzun süre devam etmesi bazı organlarda kansinom ile ilişkilendirilmiştir (139-141). Benzer durumun prostat kansinogenezinde yer alıp almadığı ise net olarak bilinmemektedir (142). Üropatojen E-Coli kolonisinin fare prostatına transüretal inokülasyonunun aktif prostatit ve sonrasında kalıcı inflamatuvar cevaba yol açtığı gösterilmiştir (143). NKX3.1'in hücresel zedelenmede, DNA zedelenmesine karşı koyduğu ve fonksiyon kaybında antioksidan ve pro-oksidan enzimlerin regülasyonunun bozulduğu gösterilmiştir (14, 144). Bakteriyel prostatit modelinin kullanıldığı bir araştırmada immünhistokimyasal olarak NKX3.1 ekspresyonunun normal epitele kıyasla prostatit alanlarında belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir (23).

Prostatta çok sık izlenen bir diğer benign lezyon ise BPH'dır. BPH'da NKX3.1, RT-PCR, Western Blot yöntemi ve immünhistokimyasal olarak

incelenmiş, mRNA sentezinin ve protein ekspresyonunun normal epitele kıyasla belirgin derecede arttığı saptanmıştır (22).

Bu çalışma, günlük patoloji pratiğinde sık karşılaşılan ve çeşitli nedenlerle tümör ile karışabilen benign lezyonlar, tümör öncüsü lezyonlar ile metastatik yada organa sınırlı karsinom olgularında NKX3.1'in tanısal değerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Olguların seçilmesi:

Çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde 2004-2012 yılları arasında, prostat karsinomu nedeniyle radikal prostatektomi ya da TUR yapılmış vakalar arasından randomize şekilde seçilen olgular dahil edildi. Biyopsi materyallerinde, *nodüler hiperplazi, atrofi, post-atrofik hiperplazi, atipik adenomatöz hiperplazi, LG-PIN, HG-PIN, karsinom* (Gleason grade 3,4,5) odakları ışık mikroskopu ile seçilerek işaretlendi. GÜTF hastane bilgi sistemine kayıtlı vakalar arasından, klinik olarak prostat karsinomu öyküsü olup metastatik lezyonu değerlendirilen vakalar ile primeri bilinmeyen tümör olgularında immünohistokimyasal çalışmalar ve/veya morfolojik bulgular ile primeri prostat karsinomu ile uyumlu bulunan vakalar *metastatik prostatik karsinomu* olgusu olarak kabul edilerek çalışmaya dahil edildi. İşaretli alanların tanısal doğruluğu bir üropatolog tarafından doğrulandıktan sonra modifiye bir mikroarray yöntemi ile seçili alanlar bloklandı. İşaretli alanların bloklardan alınmasında 3 mm çaplı deri punch biyopsi aleti kullanıldı. Çıkarılan her doku, blokta yer alacağı kendisine ait yere uygun şekilde aynı punch aleti ile içerisinde yuvalar oluşturulmuş sünger mapenin içerisine dizildi ve doku gömme makinesinde elle, sıra ile, her blokta en fazla 18 doku ve oryantasyon işareti olarak alınan bir adet plasenta dokusu ile beraber endoskopik biyopsi gömme tekniği ile gömüldü. Hazırlanan bloklar 4 mikrometre kalınlıkta kesitler ile pozitif şarjlı lamalar üzerine alındı. Metastatik lezyonlardan iğne biyopsileri, kemik iliği biyopsileri ve kemik

eksizyonları punch örnekleme yapılmadan eldeki dokunun tamamından kesit yapılarak incelendi.

220 adet mikroyarray dokusunda ve 12 farklı kemik biyopsisi ve iğne biyopsisinde tanımlanan 260 adet lezyon (30 adet HG-PIN, 38 adet LG-PIN, 42 adet atrofi, 19 adet GG 4 karsinom, 23 adet GG 3 karsinom, 19 adet GG 5 karsinom, 35 adet NH, 22 adet PAH, 13 adet adenozis ve 19 adet metastatik prostat karsinomu) incelendi.

Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 27.06.2012 tarihinde 281 nolu karar ile yerel etik kurulu onayı alındı.

3.2 Streptavidin-Biotin boyama yöntemi:

1. Parafin kesitler deparafinize edildi.
2. Çeşme suyu ile yıkandı.
3. %3 lük hidrojen peroksitte 10 dakika bekletildi.
4. Distile sudan geçirildi.
5. pH 9.0 tris-edta tamponu içinde mikrodalgada, yüksek sıcaklıkta 20 dakika bekletildi.
6. Oda sıcaklığında 20 dakika soğuması için bekletildi.
7. PBS (fosfat buffer saline pH 7.6) ile 5 dakika yıkandı.
8. Protein blok damlatılıp 10 dakika bekletildi.
9. Primer antikorda NKX 3.1 (ABCAM, Anti-Nkx3.1 antibody (ab41856), Rabbit polyclonal) ile (1/25) 1 saat oda sıcaklığında bekletildi.
10. PBS ile 5 dakika yıkandı.

11. Biotinlenmiş sekonder antikor damlatılıp 20 dakika bekletildi.
12. PBS ile 5 dakika yıkandı.
13. Streptavidin/peroxidase complex damlatılıp 20 dakika bekletildi.
14. PBS ile 5 dakika yıkandı.
15. AEC (-) kromojen damlatılıp 5 dakika bekletildi.
16. Çeşme suyunda yıkandı.
17. Mayer's Hematoksilen ile 10 saniye zemin boyama yapıldı.
18. Distile sudan geçirildi.
19. Su bazlı kapatıcı ile kapatıldı.

3.3 İmmunhistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi:

Nükleer boyanmalar pozitif olarak kabul edildi. Çalışmaya dahil edilen lezyonlardaki nükleer pozitiflik oranı semikantitatif değerlendirme ile belirlendi.

3.4 İstatistiksel Değerlendirme:

Verilerin analizi “SPSS for Windows v.15.0” paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde, yüzde olarak gösterildi. İstatistiksel değerlendirme 10 değişken arasında One Way Anova testi ile ve Post Hoc testlerden Games-Howell uygulandı. 10 değişkenin incelendiği bu analizde non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi değişken sayısının 6'dan fazla olması nedeniyle istatistiksel güç çok düşük olacağından uygulanmadı. Ayrıca lezyonlar benign, pre-malign ve malign olarak üç grupta ve benign, LG-PIN, HG-PIN ve malign olarak ayrılarak dört grup

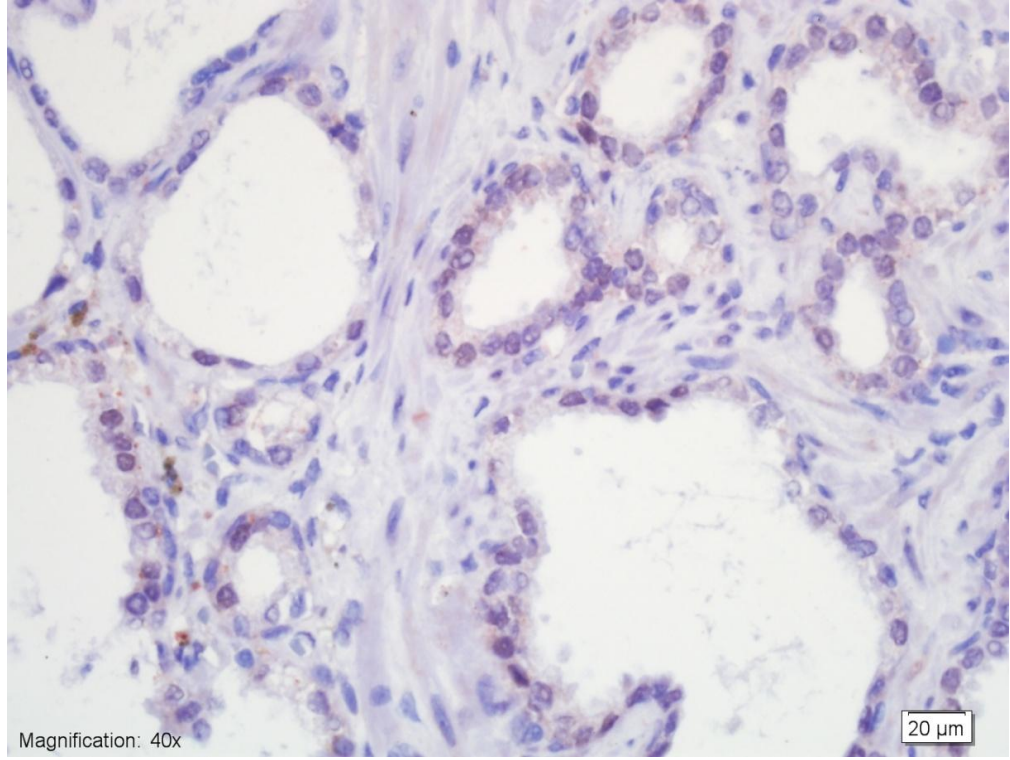
halinde istatistiksel olarak değerlendirildi. $p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

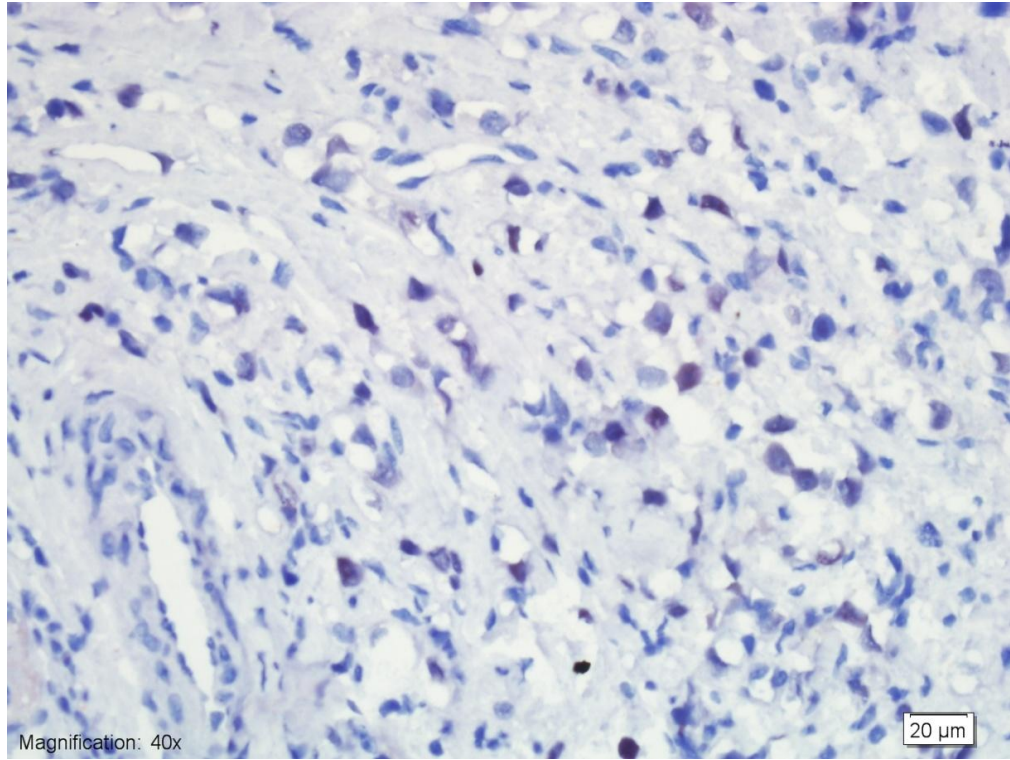
İmmünohistokimyasal olarak NKX3.1'in boyanma yaygınlığı değerlendirildiğinde, en yüksek NKX3.1 ekspresyonu %21 ile prostatik atrofide izlenmiş olup (resim 10), LG-PIN olguları %17, metastatik prostat adenokarsinomu %15 oranında boyanma göstermiştir. Tüm olguların boyanma yaygınlığının ortalaması ise %11'dir. GG 3 adenokarsinom %2 ile boyanma yüzdesi en düşük lezyon olarak karşımıza çıkmıştır. Adenozis %3, HG-PIN %4, PAH %5, GG 4 adenokarsinom %6, GG 5 adenokarsinom %8, NH %9 oranında NKX3.1 ekspresyonu göstermiştir. Olgulara ait boyanma yaygınlıklarının yüzdeleri ve ayrıntılı veriler Tablo 3'de, olgulara ait fotoğraflar ise Resim 10-Resim 19'da gösterilmiştir.

Tablo 3. NKX 3.1 immünohistokimyasal değerlendirmesine ait genel özellikler

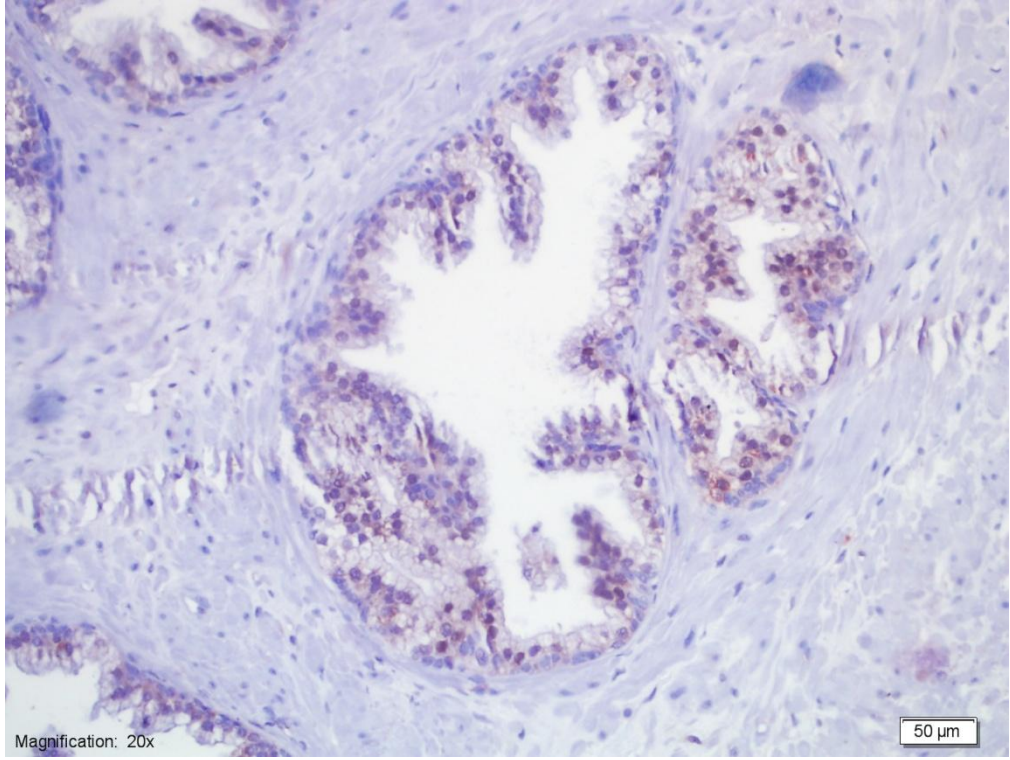
	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	95% Ortalama için güven aralığı		En Düşük	En Yüksek
					Alt Sınır	Üst Sınır		
HG-PIN	30	0,0450	0,10533	0,01923	0,0057	0,0843	0,00	0,40
LG-PIN	38	0,1789	0,24039	0,03900	0,0999	0,2580	0,00	0,70
Atrofi	42	0,2155	0,25483	0,03932	0,1361	0,2949	0,00	0,80
Grade4	19	0,0605	0,10485	0,02405	0,0100	0,1111	0,00	0,30
Grade3	23	0,0217	0,06541	0,01364	-0,0065	0,0500	0,00	0,30
Grade5	19	0,0868	0,14799	0,03395	0,0155	0,1582	0,00	0,50
NH	35	0,0986	0,15553	0,02629	0,0451	0,1520	0,00	0,60
PAH	22	0,0545	0,11329	0,02415	0,0043	0,1048	0,00	0,50
Adenozis	13	0,0385	0,09608	0,02665	-0,0196	0,0965	0,00	0,30
MET	19	0,1553	0,20743	0,04759	0,0553	0,2552	0,00	0,60
Toplam	260	0,1100	0,18614	0,01154	0,0873	0,1327	0,00	0,80



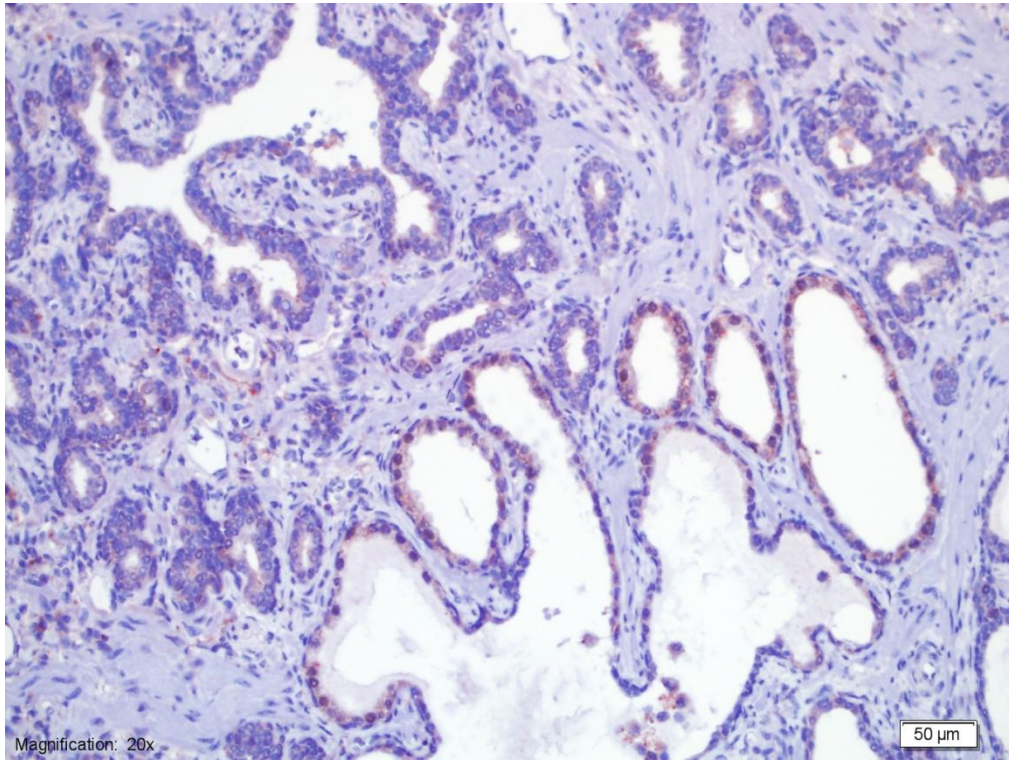
Resim 10: Atrofi odağında, nükleer NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biotin, 400x)



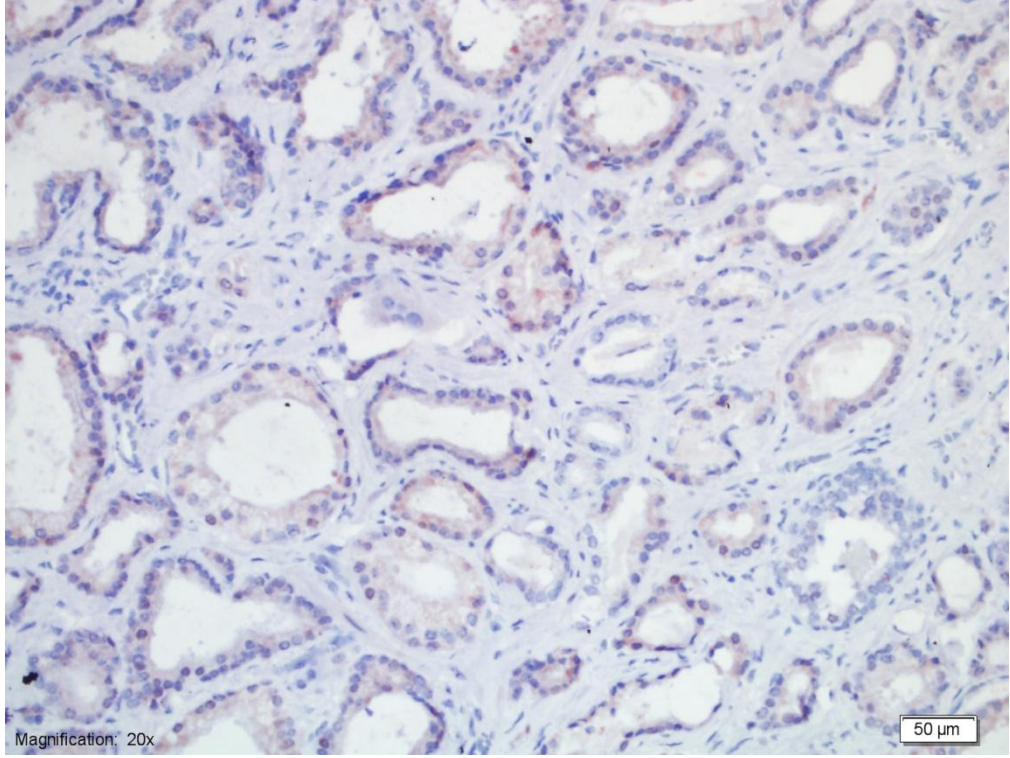
Resim 11: Gleason Grade 5 tümör odağında, nükleer NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biotin, 400x)



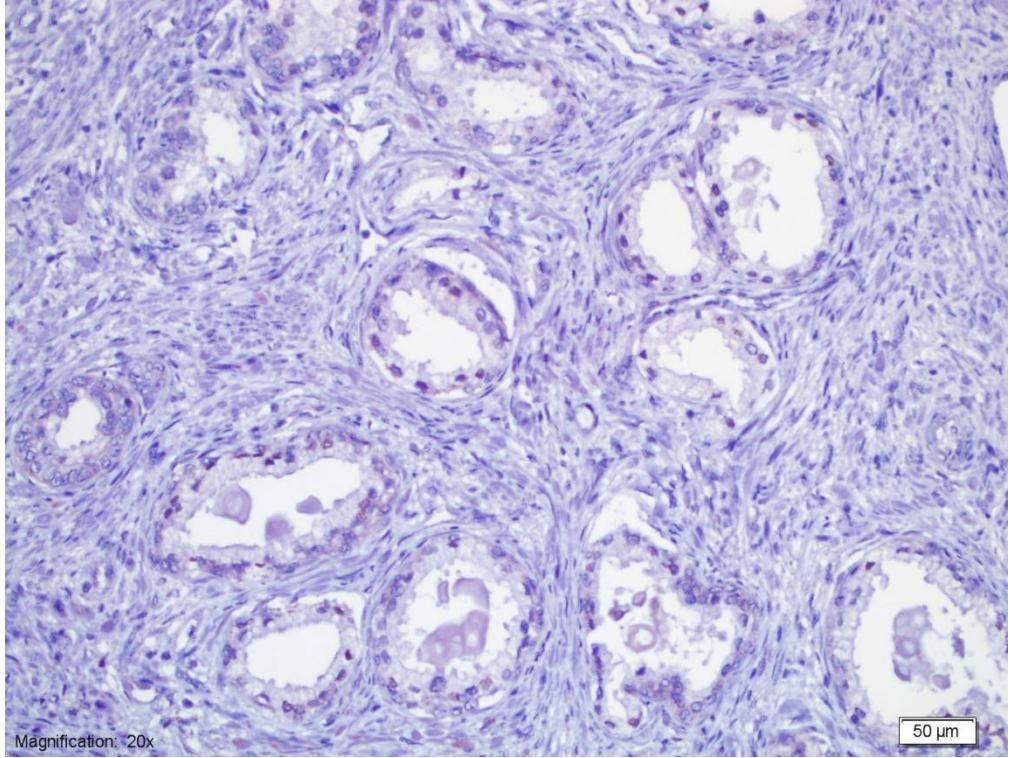
Resim 12: NH odağında NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biotin, 200x)



Resim 13: PAH odağında NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biotin, 200x)



Resim 14: GG3 adenokarsinom odağında NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biotin, 200x)



Resim 15: Adenozis odağında NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biotin, 200x)

Olgulara ait veriler One Way Anova istatistiksel yöntemi ile analiz edildiğinde değişkenler arasında en az birinin diğerlerinden farklı olduğu saptanmış ve Post Hoc testlerden Games-Howel testinde atrofi ile HG-PIN, GG 3 tümör, GG 4 tümör, PAH ve adenozis arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Ayrıca LG-PIN ile GG 3 tümör arasında da anlamlı farklılık saptanmış olup, diğer değişkenlerin ikili karşılaştırmalarında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Karşılaştırmalara ait istatistiksel analiz sonuçları tablo 4’te özetlenmiştir.

Tablo 4. Games-Howell testinde anlamlı sonuç içeren karşılaştırmalara ait istatistiksel analiz sonuçları

Games-Howell

Lezyon	Lezyon	Ortalama Fark	Std. Hata	Fark	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
LGPIN	HG-PIN	0,13395	0,04348	0,087	-0,0096	0,2775
	Atrofi	-0,03653	0,05538	1,000	-0,2169	0,1439
	Grade4	0,11842	0,04582	0,250	-0,0327	0,2695
	Grade3	,15721(*)	0,04131	0,014	0,0198	0,2946
	Grade5	0,09211	0,05170	0,743	-0,0787	0,2629
	NH	0,08038	0,04703	0,786	-0,0738	0,2345
	PAH	0,12440	0,04587	0,194	-0,0267	0,2755
	Adenozis	0,14049	0,04723	0,114	-0,0162	0,2972
	MET	0,02368	0,06152	1,000	-0,1819	0,2293
Atrofi	HG-PIN	,17048(*)	0,04377	0,009	0,0265	0,3144
	LG-PIN	0,03653	0,05538	1,000	-0,1439	0,2169
	Grade4	,15495(*)	0,04610	0,041	0,0034	0,3065
	Grade3	,19374(*)	0,04162	0,001	0,0560	0,3315
	Grade5	0,12863	0,05195	0,304	-0,0426	0,2999
	NH	0,11690	0,04730	0,302	-0,0377	0,2715
	PAH	,16093(*)	0,04615	0,029	0,0094	0,3125
	Adenozis	,17701(*)	0,04750	0,016	0,0199	0,3341
	MET	0,06021	0,06173	0,992	-0,1458	0,2662

*. Ortalama fark .05 değerinde anlamlı.

Kruskal-Wallis testi ile de incelenen lezyonlar karşılaştırıldığında P değeri 0.001 olarak izlendi. Kruskal-Wallis testine ait sonuçlar tablo 5’te belirtilmiştir.

Tablo 5. Kruskal-Wallis testine ait sonuçlar

Kruskal-Wallis Test

	Lezyon	N	Ortalama değer
NKX3.1 Ekspresyonu	HG-PIN	30	108,77
	LG-PIN	38	145,41
	Atrofi	42	165,23
	Grade4 CA	19	118,34
	Grade3 CA	23	94,30
	Grade5 CA	19	131,66
	NH	35	130,91
	PAH	22	119,80
	Adenozis	13	96,54
	MET	19	147,92
	Toplam	260	

Lezyonlar premalign (HG-PIN), malign (GG 3, GG 4 ve GG 5 adenokarsinomlar ve prostat karsinomlarına ait metastatik lezyonlar) ve benign (atrofi, NH, PAH, Adenozis ve LG-PIN) şeklinde gruplanarak değerlendirildiğinde ise malign lezyonlarda boyanma yüzdesi ortalama %7, pre-malign lezyonlarda %11 ve benign lezyonlarda %12 olarak elde edilmiştir. Benign-premalign-malign transformasyonunda NKX3.1 ekspresyonunda azalma görülmüş olmasına karşın, fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. İstatistiksel değerlendirme sonuçları tablo 6 ve tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 6. Malign, premalign ve benign lezyonların NKX 3.1 ekspresyonlarına ait istatistiksel veriler

NKX3.1 Ekspresyonu

	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	95% Ortalama için Güven Aralığı		En Düşük	En Yüksek
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Malign	80	0,0781	0,14470	0,01618	0,0459	0,1103	0,00	0,60
Premalign	68	0,1199	0,20299	0,02462	0,0707	0,1690	0,00	0,70
Benign	112	0,1268	0,19999	0,01890	0,0893	0,1642	0,00	0,80
Toplam	260	0,1100	0,18614	0,01154	0,0873	0,1327	0,00	0,80

Tablo 7. Malign, premalign ve benign lezyonların Games-Howell testi ile istatistiksel değerlendirmesi

Games-Howell

Üçlü Grup	Üçlü Grup	Ortalama Fark	Std. Hata	Fark	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Malign	Premalign	-0,04173	0,02946	0,336	-0,1116	0,0282
	Benign	-0,04866	0,02488	0,126	-0,1074	0,0101
Premalign	Malign	0,04173	0,02946	0,336	-0,0282	0,1116
	Benign	-0,00693	0,03103	0,973	-0,0804	0,0666
Benign	Malign	0,04866	0,02488	0,126	-0,0101	0,1074
	Premalign	0,00693	0,03103	0,973	-0,0666	0,0804

LG-PIN'in benign lezyonlar arasından çıkartılarak oluşturulan 4 grup (karsinomlar, benign prostat lezyonları, HG-PIN ve LG-PIN) karşılaştırıldığında, Games-Howell testinde, NKX3.1 ekspresyonu açısından HG-PIN ile benign prostat lezyonları ve LG-PIN arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. HG-PIN'de NKX3.1 ekspresyonu ortalaması %4 olup, benign grupta %12, LG-PIN'de ise %17 olarak izlenmiştir. Buna karşın, malign lezyonlar (metastatik + primer karsinomları içeren) ile HG-PIN arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Malign lezyonların NKX3.1 için ortalama boyanma oranı %7'dir. Ayrıntılı istatistiksel veriler tablo 8 ve tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 8. Malign, LGPIN, HGPIN ve benign lezyonların istatistiksel verileri

NKX3.1 Ekspresyonu

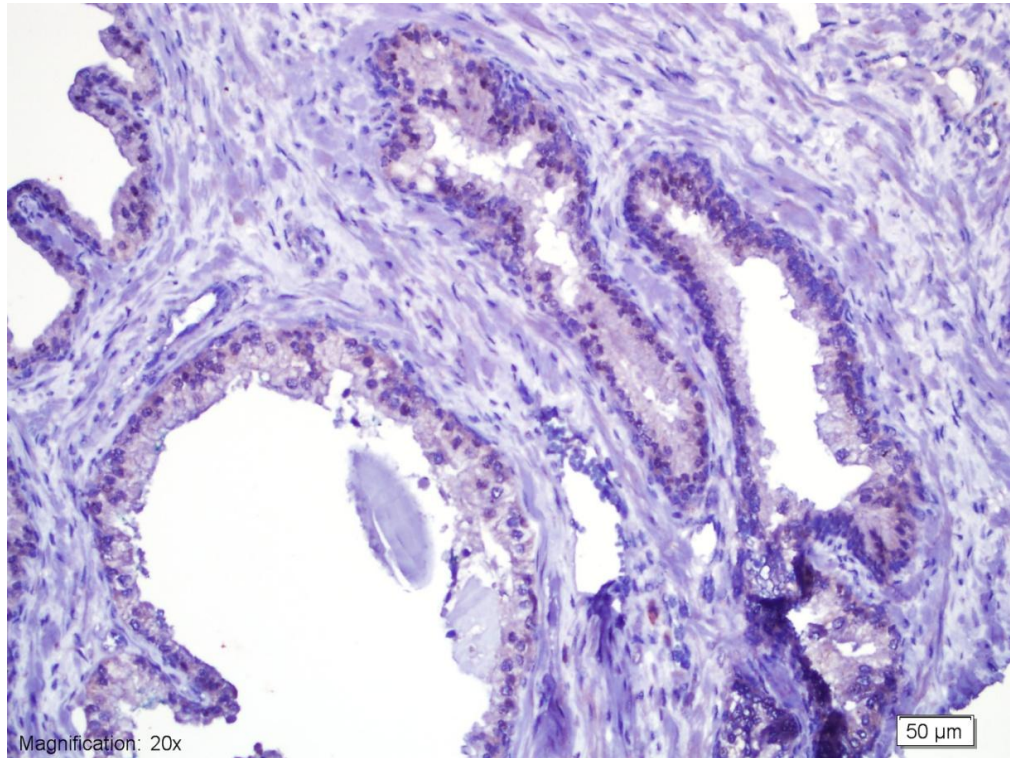
	N	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata	95% Ortalama için Güven Aralığı		En Düşük	En Yüksek
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Malign	80	0,0781	0,14470	0,01618	0,0459	0,1103	0,00	0,60
HG-PIN	30	0,0450	0,10533	0,01923	0,0057	0,0843	0,00	0,40
Benign	112	0,1268	0,19999	0,01890	0,0893	0,1642	0,00	0,80
LG-PIN	38	0,1789	0,24039	0,03900	0,0999	0,2580	0,00	0,70
Toplam	260	0,1100	0,18614	0,01154	0,0873	0,1327	0,00	0,80

Tablo 9. Malign, LGPIN, HGPIN ve benign lezyonların Games-Howel testi ile istatistiksel değerlendirmesi

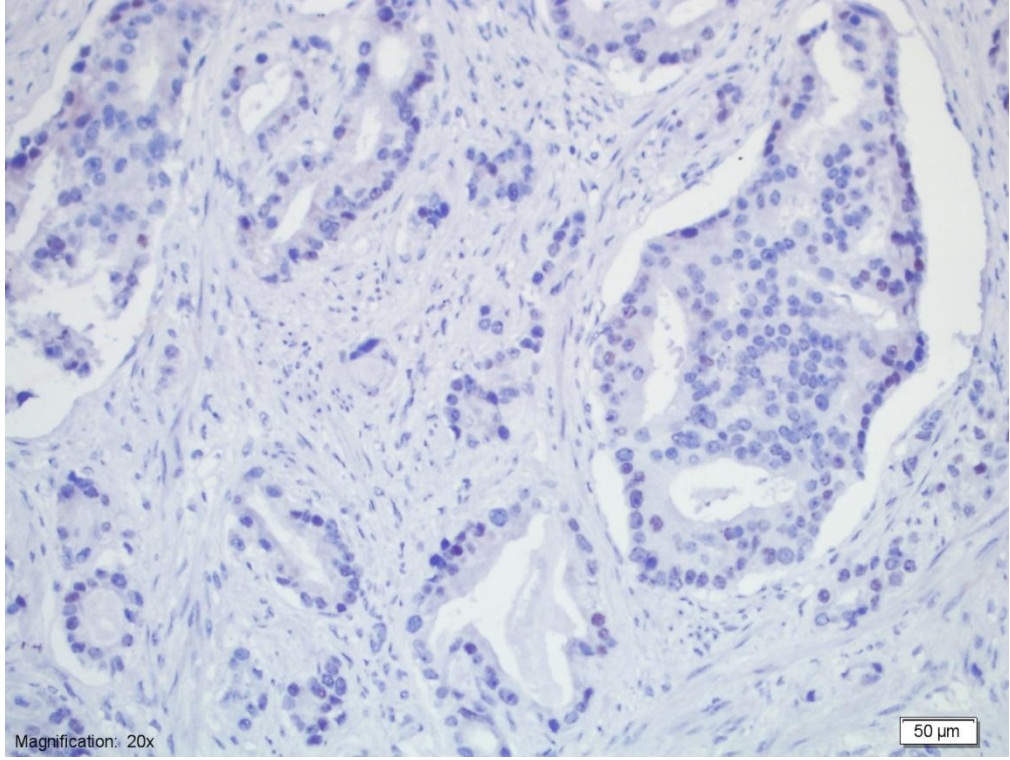
Games-Howell

Dörtlü Grup	Dörtlü Grup	Ortalama Fark	Std. Hata	Fark	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
Malign	HGPIN	0,03313	0,02513	0,555	-0,0330	0,0992
	Benign	-0,04866	0,02488	0,209	-0,1131	0,0158
	LGPIN	-0,10082	0,04222	0,092	-0,2130	0,0114
HGPIN	Malign	-0,03313	0,02513	0,555	-0,0992	0,0330
	Benign	-,08179(*)	0,02696	0,016	-0,1524	-0,0112
	LGPIN	-,13395(*)	0,04348	0,017	-0,2493	-0,0186
Benign	Malign	0,04866	0,02488	0,209	-0,0158	0,1131
	HGPIN	,08179(*)	0,02696	0,016	0,0112	0,1524
	LGPIN	-0,05216	0,04333	0,627	-0,1669	0,0626
LGPIN	Malign	0,10082	0,04222	0,092	-0,0114	0,2130
	HGPIN	,13395(*)	0,04348	0,017	0,0186	0,2493
	Benign	0,05216	0,04333	0,627	-0,0626	0,1669

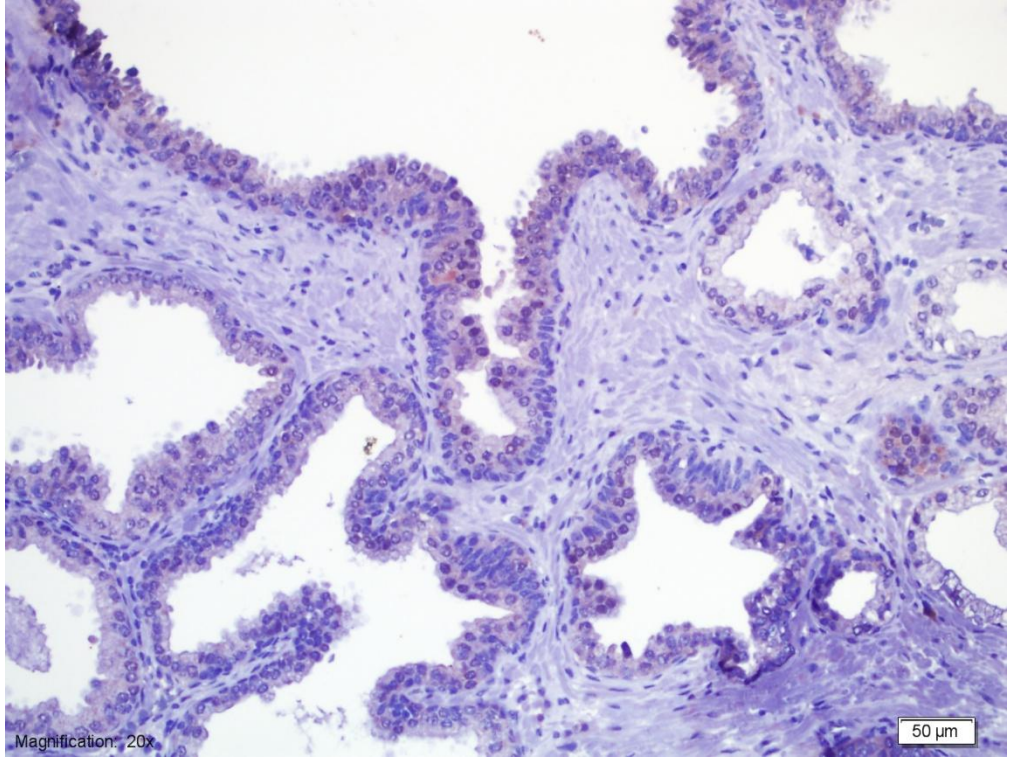
*. Ortalama fark .05 değerinde anlamlı.



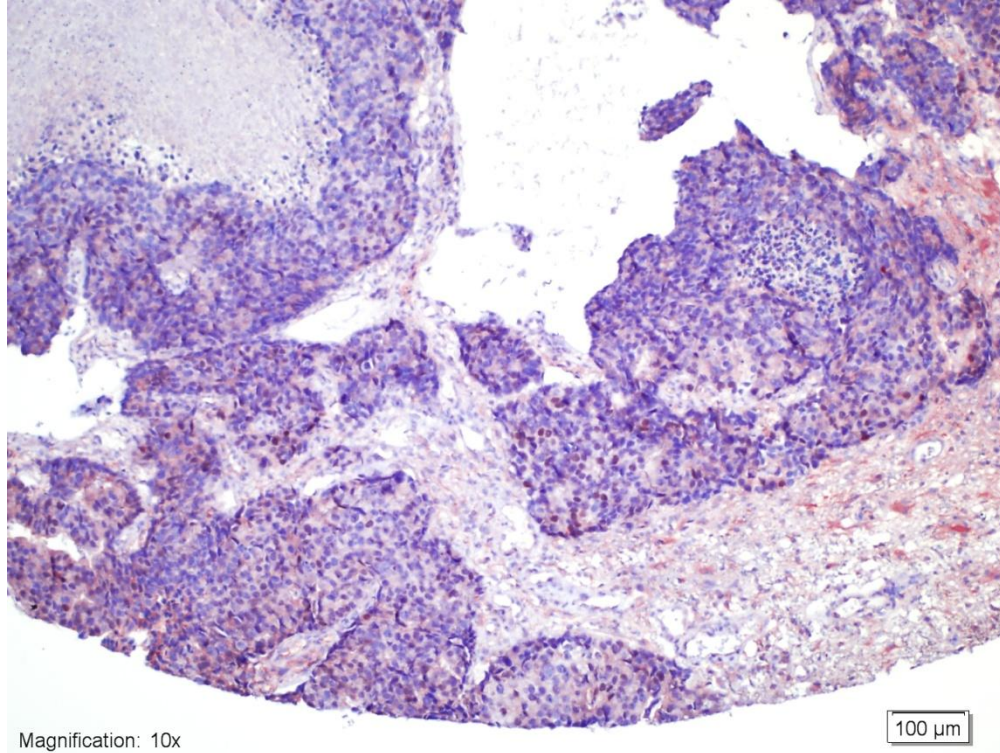
Resim 16: LG-PIN odağında, nükleer NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biotin, 200x)



Resim 17: GG4 adenokarsinom odağında, az sayıda hücrede izlenen nükleer NKX3.1 ekspresyonu



Resim 18: HG PIN odağında NKX3.1 ekspresyonu



Resim 19: Metastatik adenokarsinom odağında NKX3.1 ekspresyonu (Streptavidin biyotin 100x)

Games-Howell testinde anlamlı farklılıklar saptanması ile non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi ile değerlendirme yapılmış ancak p değeri 0,055 olarak hesaplandığı için anlamlı farklılık olmadığı izlenmiştir. Kruskal-Wallis testine ait veriler tablo 10’da verilmiştir.

Tablo 10. Malign, LG-PIN, HG-PIN ve benign lezyonların Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel değerlendirmesi

Kruskal Wallis

	Dörtlü Grup	N	Mean Rank
NKX3.1 Ekspresyonu	Malign	80	121,62
	HG-PIN	30	108,77
	Benign	112	137,61
	LG-PIN	38	145,41
	Toplam	260	

5. TARTIŞMA

Diğer birçok epitelyal malignite gibi prostat karsinomu da öncü mutasyona sahip malign fenotip kazanmış epitelyal hücrelerinden gelişir. Kromozomal analizler ile sıklıkla heterozigozite kaybı (LOH) gösteren kromozomal bölgenin belirlenmesi, öncü bir mutasyon olduğunu göstermektedir ve aslında sporadik prostat karsinomlarında LOH en sık 8p21.2 kromozom bölgesinde gerçekleşmektedir (12, 110, 111). Bu bölgede prostat embriyogenezinde önemli role sahip olan ve erişkin prostat bezinde de ekspresyonu devam eden NKX3.1 yer almaktadır. NKX3.1 *androjen bağımlı*, prostata spesifik bir homeobox genidir (8). Testosteron ve 5 α -dihidrotestosteron gibi androjenler erkek genital sisteminin embriyogenezinde önemli rol üstlenen steroid hormonlardır (145, 146). Androjenler ayrıca prostat karsinomunun ortaya çıkmasında ve ilerlemesinde de rol oynamaktadır (147-150).

Knudson'un ilk vuruş modeline göre NKX3.1 eğer klasik bir tümör baskılayıcı gen gibi işlev görüyor ise, 8p21 kaybı olan prostat karsinomlarında diğer alelin de bir inaktivasyon mutasyonu ile susması beklenebilirdi (151) görüşüne karşın, diğer bazı çalışmalar geride kalan NKX3.1 alelinin hala eksprese olduğunu göstermektedir (137, 152). Günümüzde, bu hipotezin çok da geçerli olmadığını gösterir şekilde, aralarında p53 ve Rb'u da içeren birçok tümör baskılayıcı genin, gen dozajına bağımlı olarak etki ettikleri gösterilmektedir (153, 154). NKX3.1'in doz bağımlı düzenleyici görevi, NKX3.1 geni susturulmuş kobay deneylerinde gösterilmiştir (9, 16, 17, 155).

Bir araştırmada 43 prostat karsinom olgusundan 27'sinde NKX3.1 bölgesinde LOH ve 48 olgudan 43'ünde komşu epitel ile kıyaslandığında NKX3.1 ekspresyonunda azalma saptanmıştır (3). NKX3.1 hem prostat embriyogenezi hem de karsinogenezinde yer alan genler için mükemmel bir örnektir (6). Hem prostat bezinin hem de prostat karsinomunun gelişiminde kritik role sahip olduğu bilinmesine karşın, NKX3.1'in etkilediği transkripsiyon faktörleri, genler ve yolaklar net olarak aydınlatılmamıştır. Bu yolaklardan biri, anahtar bir glikolitik enzim olan ve tümör gelişimini güçlendiren heksokinaz-2'dir (156). Heksokinaz-2, NKX3.1 ve MYC geninin entegre genomik analizler ile saptanmış olan ortak hedeflerinden birisidir (7). Bunun gibi daha birçok genin MYC ve NKX3.1 için ortak hedef olması, prostat karsinomunda MYC over-ekspresyonunun erken ve sık bir bulgu olması, prostatik karsinom gelişiminin bu ortak hedeflerin direkt disregölasyonu ile başladığını düşündürmektedir (7, 157, 158). Normal epitelde, *düşük MYC/yüksek NKX3.1* şeklinde olan MYC/NKX3.1 oranı, yüksek dereceli tümörlerde *yüksek MYC/düşük NKX3.1* şeklinde değişim göstermektedir (7).

NKX3.1'in immünhistokimyasal olarak PIN ve prostat karsinomunda "derece" yükseldikçe ekspresyonunun azaldığını gösteren yayınlar mevcuttur (19, 159). Ancak mRNA seviyeleri tümör progresyonu ile birlikte azalmamakta, tam tersine artmaktadır (136, 137). Ancak mRNA ve protein seviyelerinin eř dağılım gösterdiğini söyleyen bir araştırma da mevcuttur (138). Bu bulgular NKX3.1 regölasyonunun hücrede farklı seviyelerde yapıldığını göstermektedir.

NKX3.1, knockout homozigot farelerde daha belirgin olmak üzere, heterozigot farelerde de epitelde hiperplazi ve displazi gelişebilmektedir ve bu

gelişim yaşı bağımlı bulunmuştur (9). Ancak bugüne kadar NKX3.1 null mutant farelerde prostat karsinomu gelişimi gözlenmemiştir. Bu durum, fare ve insan prostatı arasındaki moleküler farklılıklar nedeniyle olabileceği gibi, NKX3.1 kaybının karsinom gelişimi için tek başına yeterli olmamasından da kaynaklanmaktadır.

NKX3.1'in tümör baskılayıcı özelliğini araştıran bir araştırmada PTEN null epitelde, NKX3.1'in hücre siklusunda p53 asetilasyonunu artırarak p53 yarı ömrünü uzattığı saptanmıştır (13). Ancak PTEN wild tip epitelde NKX3.1 over-ekspresyonu çok az bir etki göstermiştir. Bu da NKX3.1'in hücredeki etkilerinin PTEN kontrolünde olduğunu göstermektedir (13).

NKX3.1'in hücresel döngüdeki yerini açıklamaya çalışan bir diğer çalışmada UV, γ radyasyon ve mitomisin C ile DNA hasarı oluşturulmuş hücrelerde, NKX3.1 eksprese eden plazmid ile transfekte hücrelerin sağ kalımlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır (14).

NKX3.1'in tümör baskılayıcı gen olduğunu saptayan araştırmalar yanında, NKX3.1'in FoxA1 ile birlikte sinerjistik şekilde prostat karsinom hücrelerinin sağ kalımını, gen hedeflerinin direkt düzenlenmesi ya da androjen reseptör düzenlemesi yolu ile indirekt yolla, apoptozisi engelleyerek gerçekleştirdiği düşünülmektedir (160).

İmmünohistokimyasal olarak NKX3.1 ekspresyonu oldukça sınırlı tümörde ve dokuda izlenmektedir. 2000 yılında Bowen ve ark. NKX3.1'in prostat karsinomlarında %83,6 (92/110) oranında pozitif olduğunu, metastatik prostat

karsinomlarının ise %78'inin (31/40) negatif olduğunu saptamıştır (19). 2003 yılında ise Gellman ve ark. tarafından 4061 farklı dokunun çalışmaya dahil edildiği araştırmada, NKX3.1 ekspresyonu hormon tedavisine dirençli prostat karsinomlarında %27, metastatik prostat karsinomlarında %44, tedavi almamış prostat karsinomlarında ise normal prostatik epitel ile benzer şekilde %66 oranında pozitif saptanmıştır (4). Bunlar dışında en sık pozitifliğin izlendiği normal testis dokusunda %57, malignitelerden ise metastatik meme lobüler karsinomunda %28, metastatik duktal karsinomda %5 oranında pozitiflik izlenmiştir (4). 2003 yılında yapılan bu araştırmanın ardından 2006 yılında *Bethel ve ark.* fokal prostatik atrofi, PIN ve adenokarsinom olgularında yaptıkları çalışmada NKX3.1'in PIN alanlarının tamamında boyandığı ancak boyanma yoğunluğunun normal epitele kıyasla belirgin şekilde azaldığını, karsinom olgularında ise boyanma yoğunluğunda belirgin şekilde azalması yanında, boyanma yaygınlığının anlamlı sonuç içermeyecek şekilde azaldığını saptamışlardır (20). Bu araştırmadaki önemli noktalardan biri, boyanmanın azalmış olmasına karşın tamamen ortadan kalkmamış olmasıdır. *Chuang ve ark.* nın yaptığı çalışmada da, yüksek dereceli (Gleason skor 8-10) prostat karsinomlarında NKX3.1'in hesaplama yöntemine bağlı olarak %92,1 ila %94,7 arasında duyarlılığa sahip olduğu gösterilmiştir (18). *Gürel ve ark.* 'nın 2010 yılına ait yakın zamanlı çalışmasında ise daha geniş bir tümör grubu (349 prostat dışı karsinom) çalışmaya dahil edilmiş ve NKX3.1'in prostat adenokarsinomundaki duyarlılığı %98,6 (68/69), özgüllüğü ise %99,7 (1/349 non-prostatik malignite [1 invaziv lobüler karsinom olgusu]) olarak saptanmıştır (21).

Sonuç olarak, NKX3.1'in prostat karsinomlarındaki ekspresyonuna yönelik yapılan çalışma sonuçlarının heterojen olduğu görülmektedir. Bu durum, farklı araştırmalarda kullanılan NKX3.1 antikörlerinin farklı klonlara sahip olmaları ve dolayısıyla özgüllüklerinin farklı olması ile açıklanabilir. Bowen ve Gellman'ın araştırmalarında, tavşanların saf NKX3.1 antijeni ile immünizasyonu ile elde edilen anti-NKX3.1 antikoru kullanılmış, Chuang, Bethel ve Gürel'in çalışmalarında kullanılan antikör ise insan NKX3.1 proteininin NH2-ucuna karşı geliştirilmiş olan ticari antikordur (4, 18-21).

Prostat karsinogenezi ve öncü lezyonları net olarak bilinmemektedir (142). Prostatik inflamasyon, prostatik atrofi, post-atrofik hiperplazi gibi benign prostat patoloji, hem histolojik olarak karsinom ile ayırıcı tanı zorluğu oluşturabilme potansiyelleri hem de prostatik karsinogeneze katkı oluşturabilmeleri nedeni ile önemlidir. Patogeneze rolü olduğu bilinen androjenlere yönelik yapılan androjen baskılayıcı tedaviden, prostat karsinomlu hastaların bir kısmı fayda görürken, tümörlerin bir kısmı androjen bağımsız olup, bu olguların tedavi cevabı ve prognozu daha kötüdür (161, 162). Bu tümörlerin gelişiminden sorumlu moleküler yollar da henüz aydınlatılamamıştır.

Prostatik atrofi (PA) prostat karsinomunu taklit eden lezyonların başında gelir (83) ve iğne biyopsilerinde % 83,7 sıklıkta izlenmektedir. PA'yı ilk tanımlayan araştırmacı olan Moore, PA'yı ikiye ayırmıştır, asiner atrofi ve sklerotik atrofi (87). 1954'te Franks sınıflamaya PAH olarak tanımladığı lezyonu eklemiştir (81). Fokal atrofinin nedeni sıklıkla aktif ve inaktif inflamasyondur.

İleri yaşlarda ise en önemli sebep kronik lokal iskemi olmaktadır. Ancak birçok vakanın etyolojisi halen açık değildir.

Atrofi tipleri, eşlik eden non-spesifik inflamasyon açısından farklılıklar gösterebilir. Parsiyel atrofide eşlik eden inflamasyon %1 oranında iken, basit atrofide %56,2, sklerotik atrofide %48 ve PAH'de %54,3 olarak saptanmıştır (163). Atrofinin neoplastik ve pre-neoplastik lezyonlarla ilişkisine baktığımızda karşımıza çıkan en önemli lezyon, De Marzo tarafından tanımlanan proliferatif inflamatuvar atrofidir (PIA) (123). PIA, inflamasyonla ilişkili fokal basit ya da PAH'yi tanımlamaktadır. Bazı çalışmalar PIA'nın HG-PIN ve dolayısıyla prostatik karsinomun öncü lezyonu olduğunu öne sürmektedir (123, 164-167). PIA'nın HG-PIN ve prostatik adenokarsinom öncüsü olduğunu düşündüren bulgular şu şekilde sıralanabilir;

- Normal prostatik epitelde proliferatif aktivite bazal tabakaya sınırlı iken PIA'da, HG-PIN ve prostatik adenokarsinoma benzer şekilde proliferasyon sekretuar hücrelerde de izlenir (123).
- PIA'daki hücrelerin fenotipi HG-PIN ve prostatik karsinomdakine benzerdir (123, 164, 165). Atrofik luminal hücreler intermediate fenotipte olup BCL-2 ve CK8/18 ekspresyonu gösterirler.
- PIA, HG-PIN ve prostatik karsinom, santral zondan çok periferik zonda izlenen lezyonlardır.
- PIA ve HG-PIN alanları yer yer aynı gland içerisinde iç içe geçmiş şekilde izlenebilmektedir. Bu durum PIA alanlarının %34'ünde

gözlenir (165). Ayrıca PİA alanlarına komşu, küçük karsinom odakları da izlenebilmektedir (165).

Wong ve ark. araştırmalarında 1188 HG-PIN vakasının sadece %17'sinde komşu alanlarda PİA saptamışlardır (165). Ayrıca 36 vakada PİA'ya eşlik eden prostatik karsinom odakları görmüşlerdir. Atrofik epitelde Ki67 proliferasyon indeksinin yüksek olduğu izlenmiştir. Bu bulgulara karşın, PİA'nın, karsinomun eşlik etmediği prostat iğne biyopsilerinde sıklıkla izlenen bir lezyon olduğunu ve tekrar biyopsilerinde karsinom açısından artmış risk içermediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (168). Bu nedenle PİA, günümüzde rutin pratikte prekanseröz bir lezyon olarak ele alınmamaktadır. Anton ve ark. radikal prostatektomilerin %32'sinde ve sistoprostatektomi olgularının %12'sinde PAH varlığını bildirmektedir (89). PAH'ın göreceli olarak sık görülen bir lezyon olmasına karşın, bu araştırmacılar çalışmalarında prostatik adenokarsinom ile PAH 'ın topografik açıdan ilişkili olmadığı kanısına varmışlardır.

Atrofi özellikle basit formda, prostat iğne biyopsilerinde sık görülen bir bulgudur (%83). Asemptomatik popülasyon içerisinde atrofi saptanan vakaların taramalarında HG-PIN ve karsinom ile ilişki saptanmamıştır (169). Atrofi ile karsinom gelişimi arasındaki ilişki halen net olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen bu noktada akla gelen soru kronik inflamasyonun hem atrofiyi, hem de karsinom ve HG-PIN'i tetikleyen asıl etken olup olmadığıdır (168, 170). Kronik inflamasyonun, inflamatuvar barsak hastalığı, helicobakter pilori gastriti, kronik sistit, reflü özefajit gibi patolojiler zemininde birçok organda uzun sürede karsinom gelişimine sebep olduğu bilinmektedir (171). Ayrıca anti-inflamatuvar

ilaçların kolon karsinomu başta olmak üzere karsinom gelişimi riskini azalttığı da bilinen başka bir gerçektir. Karsinom gelişimi ve inflamasyonun iki yol ile birbiri ile ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir; ekstrinsik ve intrinsik yol (171). İntrinsik yolda, tümör gelişiminden önce ortaya çıkan genetik mutasyonların yeni bir mikroçevre oluşumuna neden olması sonrası karsinogenezi tetiklediği, buna karşın ekstrinsik yolda inflamatuvar mikro çevrenin tümör gelişimini tetiklediği öne sürülmektedir (171). Her iki yolda da, ortak olarak HIF1 α , NF- κ B ve STAT3 gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunun tetiklendiği saptanmıştır. Bu transkripsiyon faktörleri de COX2 de dahil olmak üzere bir grup inflamatuvar mediatörü kontrol etmektedir. Ayrıca makrofaj migrasyon inhibitörü gibi sitokinlerin bir kısmı p53 fonksiyonunu baskılayarak neoplastik hücrelerde yeni mutasyonların açığa çıkmasına da yol açabildiği gösterilmiştir (172, 173).

Prostatik karsinom gelişimi ve enfeksiyöz ajanlar ile gelişen asemptomatik prostatitin ilişkili olduğunu gösteren bazı bulgular vardır. Bu aşamada ilgi uyandıran mikroorganizma *E.Coli*'dir. Bakteriyel prostatitte en sık izole edilen ajan olmasından öte kültür ya da moleküler tekniklerle BPH ve prostatik karsinomda varlığı tanımlanmıştır (174, 175). Fare deneylerinde üropatojen *E.Coli* suşlarının epitelyal proliferasyon ve reaktif hiperplazi, displazi ve oksidatif DNA hasarına yol açtığı gözlenmiştir (176, 177). Ayrıca bakteriyel prostatik inflamasyonda, NKX3.1 ekspresyonunda belirgin azalma olduğu ve dolayısıyla inflamasyonun NKX3.1'in tümör baskılayıcı fonksiyonunda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (23). Prostat karsinomu gelişimi de diğer epitelyal malignitelere olduğu gibi hücre proliferasyonu, hücresel sağ kalım ve apoptozisi etkileyen

genetik mutasyonların çok basamaklı yolağı ile gelişmektedir (178-180). NKX3.1 prostat karsinomunda rol aldığı düşünölen genlerden sadece birisidir ve prostata spesifik tümör süpresör gen olarak NKX3.1 fonksiyon kaybının epitelyal hiperplazi ve displazi ile sonuçlandığı bildirilmektedir (9, 16, 17). Ayrıca NKX3.1 fonksiyon kaybının PrdX6, Qscn6, GPx2 ve GPx3 gibi pro-oksidan ve anti-oksidan enzimlerin düzenlenmesinde bozukluklara neden olduğı saptanmıştır (144). Bu durum hücre içerisinde oluşan serbest oksijen radikallerinin antioksidan enzimlerin kontrolünden çıkabileceğı ve oksidatif DNA zedelenmesi yaparak neoplastik transformasyona yol açabileceğini düşündürmektedir.

NKX3.1'in tümör süpresör gen olduğunu savunan araştırmalara karşın NKX3.1'in FoxA1 ile birlikte sinerjistik şekilde prostat karsinom hücrelerinin sağ kalımı için gerekli genleri düzenlediklerini saptayan araştırmalar da olduğı unutulmamalıdır (160). NKX3.1'in tümör hücrelerinin sağ kalımını gen hedeflerinin direkt düzenlemesi ya da androjen reseptör düzenlemesi ile indirekt olarak apoptozisi engelleyerek gerçekleştirdiğı düşünülmektedir (160).

Bizim çalışmamızda, immünhistokimyasal olarak NKX3.1'in ekspresyon yüzdesi incelenen prostat lezyonları için ortalama %11 olarak saptanmış olup atrofi, boyanma yüzdesi ortalama %21 ile en yüksek NKX3.1 ekspresyonu gösteren prostat lezyonu olarak karşımıza çıkmıştır. NKX3.1'in prostatik atrofideki yerini araştıran bir araştırmada normal epitel ile kıyaslandığında atrofi alanlarında NKX3.1 boyanmasında anlamlı derecede azalma bildirilmektedir (20). Bizim araştırmamızda ise atrofi alanlarında ekspresyonun en yüksek orana sahip olması seçilen atrofi odaklarının tipi ile ilişkili olabilir. Çalışmamızda özellikle

atrofide, inflamasyonun mikroyarray için seçtiğimiz alanlarda bulunmamasına dikkat edilmiştir. Literatürdeki araştırmalarda HG-PIN ve karsinom ile olan yakın ilişkisinden dolayı atrofik odak olarak genelde PIA seçilmesine karşın, bizim araştırmamızda karşımıza rutin pratikte sık çıkan ve morfolojik olarak prostatik adenokarsinom ile karışabilen bir atrofi tipi olan küçük gland formasyonundaki basit atrofi seçilmiştir. Atrofi odaklarına eşlik eden inflamatuvar hücrelerden salınan sitokinler başta olmak üzere birçok otokrin ve parakrin etki NKX3.1 ekspresyonunun azalmasının nedeni olabilir. Bir atrofi tipi olmasına karşın araştırmamızda PAH ile basit atrofi arasında anlamlı farklılık saptanmış olması atrofi tipleri arasında morfolojiden öte patogenetik olarak da farklılık olduğunu gösteriyor olabilir.

Atipik adenomatöz hiperplazi, yapısal olarak iyi diferansiye prostat karsinomunu taklit eden, prostatın küçük asiner proliferasyonlarının son noktasını oluşturan bir diğer taklitçi lezyondur. Araştırmalar AAH ve karsinom alanlarının, normal ve hiperplastik epitel ile kıyaslandığında, artmış AGNOR sayımları, küçük asiner karsinom ile benzer topografik dağılım, artmış nükleer hacim ve çap içerdiklerini göstermektedir (94, 181-184). Ayrıca lüminal kristaloid varlığının, prostatik adenokarsinom dışında izlendiği tek lezyon AAH'dir. Bunların yanı sıra, düşük proliferatif aktivite göstermesi ve in-situ hibridizasyon yöntemleri ile nadir kromozomal anomali saptanması, preneoplastik lezyon olduğu yönündeki bulguları desteklememektedir (185, 186). Genel olarak adenokarsinomdan, nükleus ve nükleol irileşmesinin izlenmemesi ve fragmente bazal tabakaya sahip olmasıyla ayrılmaktadır. AAH'nin histolojik ve sitolojik olarak, iyi diferansiye

prostat karsinomları ve BPH arasında bulunduğunu belirten otörler yanı sıra AAH'nin moleküler ve immünohistokimyasal profiliyle ilgili de az sayıda araştırma bulunmaktadır (187). Bizim çalışmamızda, AAH, incelediğimiz prostat lezyonları içerisinde, HG-PIN ve GG 3 karsinomalar ile birlikte, en düşük NKX3.1 ekspresyonunun saptandığı grup olmuştur. Bu bulgu, literatürde belirtildiği üzere AAH de saptanan 8p kolundaki, %12 ila %60 arasında değişen oranlardaki yüksek alelik dengesizlik sonucunu destekler niteliktedir (188, 189).

Prostat karsinom taklitçisi olabilen lezyonların dışında, çalışmamızda incelenen ve sık görülen bir prostatik lezyon olan nodüler hiperplazi (NH) alanlarındaki NKX3.1 ekspresyon oranı ortalama %9 olarak belirlenmiştir. NH patogeneğinde, hücre proliferasyonunda rol alan büyüme faktörleri ile bunlara antagonist etki gösteren faktörler arasındaki dengesizlik söz konusudur (190). Tümöral gelişimde de hücre proliferasyonu kilit role sahiptir, ancak nodüler hiperplazide ortaya çıkan hücre proliferasyonu tetikleyen mekanizmaların eksternal olması iki lezyon arasındaki temel farklılığı oluşturmaktadır. Literatürde BPH'nın prekanseröz bir lezyon olduğunu belirten bir çalışma sonucu bulunmamaktadır. Araştırmalarda NKX3.1 knockout homozigot farelerde daha belirgin olmak üzere heterozigot farelerde de, NKX3.1 gen kaybının epitelde hiperplazi gelişimine sebep olduğu gözlenmiştir (9). BPH ve prostatik karsinomu karşılaştıran bir çalışmada, NKX3.1 ekspresyonun, prostatik karsinomda BPH'ya oranla anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir (191). Normal prostatik epitel ile kıyaslandığında ise BPH'da, NKX3.1 ekspresyonunun anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır (22). Tüm veriler ele alındığında NKX3.1'in

BPH gelişiminde önemli bir role sahip olduğu ve belki de yeni tedavi stratejilerinde yer alabileceği düşünülmektedir (22). Bizim çalışmamızda nodüler hiperplazi alanlarında NKX3.1 ekspresyonu ortalama %9 olarak saptanmış olup (tüm lezyonların ortalaması %11), incelenen diğer lezyonlar ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark görülmemiştir.

Klinik olarak PIN, ileri yaşta izlenen, digital rektal muayene ile ya da ultrasonografi ile saptanamayan bir lezyondur. Dolayısıyla tanı rastlantısal olarak konur. LG-PIN karsinom gelişimi için öncül bir lezyon değildir ve eşlik eden bir malignite ile ilişkisi bildirilmemiştir (101-105). Ancak, HG-PIN prostatik karsinom için kabul edilen tek pre-neoplastik lezyondur ve iğne biyopsisi, trans-üretral rezeksiyon (TUR) ve radikal prostatektomilerde belirtilmesi gereken bir tanıdır (106, 114, 115).

NKX3.1 ekspresyonları açısından karşılaştırıldığında, çalışmamızda HG-PIN ile LG-PIN arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak ortalama değerler açısından (LG-PIN; %17, HG-PIN %3) bakıldığında, aralarındaki fark, iki lezyonun birbirini takip eden lezyonlar olmaktan çok, farklı patogenetik mekanizmalara sahip lezyonlar olduğuna işaret ediyor olabilir. LG-PIN, tekrar biyopsilerinde artmış karsinom riski ile ilişkili olmamasına karşın, HG-PIN belirgin şekilde artmış karsinom riski taşımaktadır (192). Moleküler çalışmalarda da HG-PIN ve karsinom arasında ortak genetik değişiklikler ortaya konmuştur (193, 194). Ribeiro ve ark. prostat karsinomu gelişiminde iki yol tariflemiştir (195): birincisi 8p delesyonu ve HG-PIN üzerinden karsinom gelişimi, ikincisi ise 13q kaybı ile HG-PIN olmaksızın karsinom gelişimidir. NKX3.1 geninin de 8p'de

yerleştiği göz önünde tutulursa Bethel ve ark.'ın HG-PIN ve karsinom odaklarında azalmış NKX3.1 ekspresyonuna ait bulgular elde etmiş olmaları, bizi 8p delesyonunun NKX3.1 ekspresyonunda azalmaya yol ağtığı sonucuna götürebilir (20). Bizim alışmamızda, NKX3.1 ekspresyonun en düşük saptandığı lezyon GG 3 adenokarsinomlardı. GG 4 ve GG 5 tümörlerde ise daha yüksek NKX3.1 ekspresyonu saptanmıştı. Literatürde, HG-PIN'in, radikal prostatektomilerde %80 GG 3 tümörler ile ilişkili olduğu ve bu karsinomların da %84,4'ünün organa sınırlı olduğu gözlenmiştir (196). Dolayısıyla, HG-PIN, yüksek dereceli karsinomlar ile değil de, daha çok GG 3 tümörler ile ilişkili bir lezyon olabilir. Bizim alışmamızda da istatiksel olarak anlamlı olmamasına karşın, HG-PIN ve GG 3 adenokarsinomların NKX3.1 ekspresyonu açısından, yüksek dereceli tümörlere göre daha benzer bir profil göstermeleri, moleküler patogenetik yolakların her iki tümör grubu için farklı olabileceğini düşündürmüştür. Literatürdeki araştırmalarda, HG-PIN alanlarında 8p21.2 bölgesinde %12 ila %83 arasında değişen oranlarda LOH saptanmıştır (20, 111, 197, 198). Benzer şekilde adenokarsinom olgularında da %35 ila %86 oranında 8p21.2 bölgesinde LOH izlenmiştir (12, 20, 110, 111, 197-200). Daha az sayıdaki araştırmada ise tümör derecesi ile 8p21.2 bölgesinde izlenen LOH oranının arttığı belirtilmektedir ancak bu durumun yalnızca iki çalışmada saptanmış olması ve az sayıda vakaya ait sonuçlar olması değerliliklerini düşürmektedir (12, 20).

Bizim alışmamızda, metastatik prostat adenokarsinomu olgularımızda NKX3.1, 19 vakanın 10'unda (%52,63) saptanmış olup, ekspresyon yüzdesi ortalama %15 olarak belirlenmiştir. Metastatik karsinomlar çalışmamızdaki diğer

gruplar ile karşılaştırıldığında, diğer gruplar ile arasında ekspresyon oranı açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Bir araştırmada ise NKX3.1'in metastatik prostat karsinomlarında %80,5 oranında pozitiflik gösterdiği belirtilmektedir (21). Benzer şekilde, prostat dışı tümörlerde NKX3.1 ekspresyonunu değerlendiren bir başka araştırmada, sadece metastatik meme lobüler karsinomunda %28 ve metastatik meme duktal karsinomunda %5 oranında pozitiflik saptanmıştır (4). Dolayısıyla cinsiyet de göz önünde bulundurulduğunda NKX3.1, prostat karsinomu için oldukça özgül ve duyarlı bir belirteç gibi görünmektedir. Bizim çalışmamızda, boyanma göstermeyen metastatik olgu sayısının fazla olması ve boyanma yüzdelerinin düşük olması, tümör kökenini belirlemek amaçlı immünohistokimyasal bir belirteç olarak NKX3.1 kullanımının tanısal değerinin sorgulanması gerektiğini düşündürmüştür. Bununla birlikte, bu durum araştırmamızda kullandığımız antikör klonu ile de ilişkili olabilir. Daha önce de belirttiğimiz gibi, aynı antijeni belirlemek için farklı klonlara sahip antikörler kullanıldığında farklı sonuçlar alınabilmektedir.

Şu anki bilgilerimiz, hem prostatik karsinom gelişimi hem diğer prostatik lezyonların gelişiminde NKX3.1'in önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle prostat karsinogenezinin çok basamaklı yolağı ve NKX3.1'in hücresel fonksiyonlar içerisindeki rolü ile ilgili bilgilerimizin henüz yeterli olmaması nedeniyle daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ

1. NKX3.1 non-neoplastik, pre-neoplastik ve neoplastik prostat dokularında eksprese edilmektedir.
2. NKX3.1 in non-neoplastik, pre-neoplastik ve neoplastik prostat dokularındaki ortalama ekspresyon oranı düşük olup, bu çalışmada %11 olarak saptanmıştır.
3. NKX3.1 ekspresyonunun yaygınlığı açısından, atrofi ile karşılaştırıldığında HG-PIN, GG3 adenokarsinom, GG4 adenokarsinom, PAH ve adenozis arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Ayrıca LG-PIN ile GG 3 adenokarsinom arasında anlamlı farklılık izlenmiştir.
4. NKX3.1 metastatik prostat adenokarsinomlarının %52'sinde, ortalama %15 boyanma yaygınlığı ile pozitiflik göstermiştir.

7. ÖZET

Prostat embriyogenezi, epitelyal diferansiasyon ve prostat karsinogenezinde yer aldığı gösterilmiş olan genlerden birisi NKX3.1'dir. NKX3.1 geninin yer aldığı bölge 8p21 kromozom bölgesi olup bu bölgede farklı prostatik lezyonlarda farklı oranlarda delesyon varlığı söz konusudur. Literatürde NKX3.1 ile ilgili genetik araştırmalar ve immünohistokimyasal ekspresyon profillerinin ortaya konmaya çalışıldığı araştırmalar mevcut olmakla birlikte embriyogenezden tümöral gelişime, benign neoplazilere ve inflamatuvar süreçlere kadar birçok farklı hücresel olayda görev aldığı düşünülen bir gen için araştırma sayısı oldukça azdır. Biz araştırmamızda NKX3.1 ekspresyonunu, 260 olguda, immünohistokimyasal olarak, nodüler hiperplazi, atrofi, postatrofik hiperplazi (PAH), adenozis, düşük ve yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (LGPIN, HGPIN), Gleason Grade (GG) 3, 4 ve 5 tümörler ile metastatik prostat karsinomlarında değerlendirdik. Çalışmamızda NKX3.1 in her lezyon grubunda eksprese edildiğini gördük, ancak tüm vakaların boyanma yaygınlığı, ortalama %11 olarak izlendi. NKX3.1 ekspresyonun en yüksek izlendiği lezyon atrofi, en düşük izlendiği lezyon ise GG 3 adenokarsinom olarak saptandı. Atrofi ile karşılaştırıldığında, GG3 ve GG4 tümör, HG-PIN, PAH ve adenozis arasında anlamlı farklılık saptandı. Lezyonlar benign, LG-PIN, HG-PIN ve malign olarak sınıflandığında ise HG-PIN ile benign grup ve LG-PIN arasında anlamlı farklılık saptandı. Metastatik tümörlerin ise %52'sinde NKX3.1 pozitif bulundu.

Sonuçta, NKX3.1'in benign ve malign prostat dokularını birbirinden ayırt etmede klinik uygulamada yararlı olmadığını ve metastatik prostat

karsinomlarında eksprese ediliyor olmasına karşın, primer prostat kökenini belirleme amaçlı rutin olarak kullanılmaya başlamadan önce, ekspresyonunun geniş tümör serilerinde değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: NKX3.1, immünhistokimya, prostat

8. SUMMARY

NKX3.1 is one of genes that have been linked to prostate embryogenesis and epithelial differentiation. NKX3.1 is located in the short arm of chromosome 8 and this locus has been linked with some benign and malignant lesions of the prostate. There are several papers about genomic and immunohistochemical expression of NKX3.1 but number of these papers are not enough when the critical roles of NKX3.1 in embryogenesis, tumorigenesis and inflammatory disorders addressed. In our study we evaluated immunohistochemical expression of NKX3.1 in 260 microarray tissues with diagnoses of nodular hyperplasia (NH), atrophy, post-atrophic hyperplasia (PAH), adenosis, low grade prostatic intraepithelial neoplasia (LG-PIN), high grade prostatic intraepithelial neoplasia (HG-PIN), Gleason Grade (GG) 3, 4 and 5 tumors and metastatic disease. NKX3.1 expression was observed in all of the lesions evaluated. Average extend of staining was %11. Average staining was highest in atrophy and least in GG 3 tumors. There was a significant difference in atrophy when compared with GG3, GG4, HG-PIN, PAH and adenosis. %52 of metastatic tumors was positive with NKX3.1 stain.

In conclusion, with clinical perspective, NKX3.1 is not sufficient for separating nonneoplastic, preneoplastic and neoplastic prostatic lesions. Despite it shows positivity in metastatic prostate carcinomas, it is not enough to discriminate prostatic origin of tumor. More studies with wider patients is needed before using NKX3.1 in practical pathology.

Key Words: NKX3.1, immunohistochemistry, prostate

9. KAYNAKLAR

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin*. 2008 Mar-Apr;58(2):71-96.
2. Etzioni R, Tsodikov A, Mariotto A, Szabo A, Falcon S, Wegelin J, et al. Quantifying the role of PSA screening in the US prostate cancer mortality decline. *Cancer Cause Control*. 2008 Mar;19(2):175-81.
3. Asatiani E, Huang WX, Wang A, Ortner ER, Cavalli LR, Haddad BR, et al. Deletion, methylation, and expression of the NKX3.1 suppressor gene in primary human prostate cancer. *Cancer Research*. 2005 Feb 15;65(4):1164-73.
4. Gelmann EP, Bowen C, Bubendorf L. Expression of NKX3.1 in normal and malignant tissues. *Prostate*. 2003 May 1;55(2):111-7.
5. Tanaka M, Lyons GE, Izumo S. Expression of the Nkx3.1 homeobox gene during pre and postnatal development. *Mech Dev*. 1999 Jul;85(1-2):179-82.
6. Abate-Shen C, Shen MM, Gelmann E. Integrating differentiation and cancer: the Nkx3.1 homeobox gene in prostate organogenesis and carcinogenesis. *Differentiation*. 2008 Jul;76(6):717-27.
7. Anderson PD, McKissic SA, Logan M, Roh M, Franco OE, Wang J, et al. Nkx3.1 and Myc crossregulate shared target genes in mouse and human prostate tumorigenesis. *J Clin Invest*. 2012 May 1;122(5):1907-19.
8. Bieberich CJ, Fujita K, He WW, Jay G. Prostate-specific and androgen-dependent expression of a novel homeobox gene. *Journal of Biological Chemistry*. 1996 Dec 13;271(50):31779-82.
9. Bhatia-Gaur R, Donjacour AA, Sciavolino PJ, Kim M, Desai N, Young P, et al. Roles for Nkx3.1 in prostate development and cancer. *Gene Dev*. 1999 Apr 15;13(8):966-77.
10. Shen MM, Abate-Shen C. Roles of the Nkx3.1 homeobox gene in prostate organogenesis and carcinogenesis. *Dev Dynam*. 2003 Dec;228(4):767-78.
11. Zhou J, Qin L, Tien JC, Gao L, Chen X, Wang F, et al. Nkx3.1 functions as para-transcription factor to regulate gene expression and cell proliferation in non-cell autonomous manner. *J Biol Chem*. 2012 May 18;287(21):17248-56.
12. Vocke CD, Pozzatti RO, Bostwick DG, Florence CD, Jennings SB, Strup SE, et al. Analysis of 99 microdissected prostate carcinomas reveals a high frequency of allelic loss on chromosome 8p12-21. *Cancer Res*. 1996 May 15;56(10):2411-6.
13. Lei QY, Jiao J, Xin L, Chang CJ, Wang SY, Gao J, et al. NKX3.1 stabilizes p53, inhibits AKT activation, and blocks prostate cancer initiation caused by PTEN loss. *Cancer Cell*. 2006 May;9(5):367-78.
14. Bowen C, Gelmann EP. NKX3.1 activates cellular response to DNA damage. *Cancer Res*. 2010 Apr 15;70(8):3089-97.
15. Bhatia-Gaur R, Donjacour AA, Sciavolino PJ, Kim M, Desai N, Young P, et al. Roles for Nkx3.1 in prostate development and cancer. *Genes Dev*. 1999 Apr 15;13(8):966-77.
16. Schneider A, Brand T, Zweigerdt R, Arnold H. Targeted disruption of the Nkx3.1 gene in mice results in morphogenetic defects of minor salivary glands:

parallels to glandular duct morphogenesis in prostate. *Mech Dev.* 2000 Jul;95(1-2):163-74.

17. Tanaka M, Komuro I, Inagaki H, Jenkins NA, Copeland NG, Izumo S. Nkx3.1, a murine homolog of *Drosophila* bagpipe, regulates epithelial ductal branching and proliferation of the prostate and palatine glands. *Dev Dyn.* 2000 Oct;219(2):248-60.

18. Chuang AY, DeMarzo AM, Veltri RW, Sharma RB, Bieberich CJ, Epstein JI. Immunohistochemical differentiation of high-grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2007 Aug;31(8):1246-55.

19. Bowen C, Bubendorf L, Voeller HJ, Slack R, Willi N, Sauter G, et al. Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. *Cancer Research.* 2000 Nov 1;60(21):6111-5.

20. Bethel CR, Faith D, Li X, Guan B, Hicks JL, Lan F, et al. Decreased NKX3.1 protein expression in focal prostatic atrophy, prostatic intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma: association with gleason score and chromosome 8p deletion. *Cancer Res.* 2006 Nov 15;66(22):10683-90.

21. Gurel B, Ali TZ, Montgomery EA, Begum S, Hicks J, Goggins M, et al. NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am J Surg Pathol.* 2010 Aug;34(8):1097-105.

22. Irer B, Toyly A, Aslan G, Celebi I, Yorukoglu K, Atabey N. Increased expression of NKX3.1 in benign prostatic hyperplasia. *Urology.* 2009 May;73(5):1140-4.

23. Khalili M, Mutton LN, Gurel B, Hicks JL, De Marzo AM, Bieberich CJ. Loss of Nkx3.1 expression in bacterial prostatitis: a potential link between inflammation and neoplasia. *Am J Pathol.* 2010 May;176(5):2259-68.

24. Mills SE. *Histology for pathologists.* 3rd ed. / editor, Stacey E. Mills. ed. Philadelphia ; London: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.

25. Wong YC, Wang XH, Ling MT. Prostate development and carcinogenesis. *Int Rev Cytol.* 2003;227:65-130.

26. Timms BG, Lee CW, Aumuller G, Seitz J. Instructive induction of prostate growth and differentiation by a defined urogenital sinus mesenchyme. *Microsc Res Tech.* 1995 Mar 1;30(4):319-32.

27. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, Ewing LL. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. *J Urol.* 1984 Sep;132(3):474-9.

28. McNeal J. Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. *Urol Clin North Am.* 1990 Aug;17(3):477-86.

29. Campbell MF, Walsh PC, Retik AB. *Campbell's urology.* 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2002.

30. Aquilina JW, McKinney L, Pacelli A, Richman LK, Waters DJ, Thompson I, et al. High grade prostatic intraepithelial neoplasia in military working dogs with and without prostate cancer. *Prostate.* 1998 Aug 1;36(3):189-93.

31. Cornell KK, Bostwick DG, Cooley DM, Hall G, Harvey HJ, Hendrick MJ, et al. Clinical and pathologic aspects of spontaneous canine prostate carcinoma: a retrospective analysis of 76 cases. *Prostate.* 2000 Oct 1;45(2):173-83.

32. Sesterhenn IA, Davis CJ, Mostofi FK. Benign prostate, prostatic hyperplasia, and prostatic carcinoma in female patients. *Modern Pathol.* 1998 Jan;11(1):95a-a.
33. Tepper SL, Jagirdar J, Heath D, Geller SA. Homology between the female paraurethral (Skene's) glands and the prostate. Immunohistochemical demonstration. *Arch Pathol Lab Med.* 1984 May;108(5):423-5.
34. Wernert N, Albrecht M, Sesterhenn I, Goebbels R, Bonkhoff H, Seitz G, et al. The 'female prostate': location, morphology, immunohistochemical characteristics and significance. *Eur Urol.* 1992;22(1):64-9.
35. Kamoshida S, Tsutsumi Y. Extraprostatic localization of prostatic acid phosphatase and prostate-specific antigen: distribution in cloacogenic glandular epithelium and sex-dependent expression in human anal gland. *Hum Pathol.* 1990 Nov;21(11):1108-11.
36. Pollen JJ, Dreilinger A. Immunohistochemical identification of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen in female periurethral glands. *Urology.* 1984 Mar;23(3):303-4.
37. Sloboda J, Zaviacic M, Jakubovsky J, Hammar E, Johnsen J. Metastasizing adenocarcinoma of the female prostate (Skene's paraurethral glands). Histological and immunohistochemical prostate markers studies and first ultrastructural observation. *Pathol Res Pract.* 1998;194(2):129-36.
38. Bostwick DG, Dundore PA. *Biopsy pathology of the prostate.* 1st ed. London ; New York: Chapman & Hall Medical; 1997.
39. Bostwick DG, Brawer MK. Prostatic intra-epithelial neoplasia and early invasion in prostate cancer. *Cancer.* 1987 Feb 15;59(4):788-94.
40. Babinski MA, Chagas MA, Costa WS, Sampaio FJ. Prostatic epithelial and luminal area in the transition zone acini: morphometric analysis in normal and hyperplastic human prostate. *BJU Int.* 2003 Oct;92(6):592-6.
41. Zhao H, Ramos CF, Brooks JD, Peehl DM. Distinctive gene expression of prostatic stromal cells cultured from diseased versus normal tissues. *J Cell Physiol.* 2007 Jan;210(1):111-21.
42. van der Heul-Nieuwenhuijsen L, Hendriksen PJ, van der Kwast TH, Jenster G. Gene expression profiling of the human prostate zones. *BJU Int.* 2006 Oct;98(4):886-97.
43. Sokoll LJ, Chan DW. Prostate-specific antigen. Its discovery and biochemical characteristics. *Urol Clin North Am.* 1997 May;24(2):253-9.
44. Bostwick DG, Cheng L. *Urologic surgical pathology.* 2nd ed. St. Louis, Mo.: Mosby/Elsevier; 2008.
45. Signoretti S, Loda M. Defining cell lineages in the prostate epithelium. *Cell Cycle.* 2006 Jan;5(2):138-41.
46. Maygarden SJ, Strom S, Ware JL. Localization of epidermal growth factor receptor by immunohistochemical methods in human prostatic carcinoma, prostatic intraepithelial neoplasia, and benign hyperplasia. *Arch Pathol Lab Med.* 1992 Mar;116(3):269-73.
47. Karaivanov M, Todorova K, Kuzmanov A, Hayrabedyan S. Quantitative immunohistochemical detection of the molecular expression patterns in proliferative inflammatory atrophy. *J Mol Histol.* 2007 Mar;38(1):1-11.

48. Adlakha H, Bostwick DG. Paneth cell-like change in prostatic adenocarcinoma represents neuroendocrine differentiation: report of 30 cases. *Hum Pathol*. 1994 Feb;25(2):135-9.
49. Yuan TC, Veeramani S, Lin FF, Kondrikou D, Zelivianski S, Igawa T, et al. Androgen deprivation induces human prostate epithelial neuroendocrine differentiation of androgen-sensitive LNCaP cells. *Endocr Relat Cancer*. 2006 Mar;13(1):151-67.
50. Abrahamsson PA, Alumets J, Wadstrom LB, Falkmer S, Grimelius L. Peptide hormones, serotonin, and other cell differentiation markers in benign hyperplasia and in carcinoma of the prostate. *Prog Clin Biol Res*. 1987;243A:489-502.
51. Abrahamsson PA, Wadstrom LB, Alumets J, Falkmer S, Grimelius L. Peptide-hormone- and serotonin-immunoreactive tumour cells in carcinoma of the prostate. *Pathol Res Pract*. 1987 Jun;182(3):298-307.
52. Disantagnese PA. Neuroendocrine Differentiation in Prostatic-Carcinoma - Recent Findings and New Concepts. *Cancer*. 1995 Apr 1;75(7):1850-9.
53. Aprikian AG, Cordon-Cardo C, Fair WR, Reuter VE. Characterization of neuroendocrine differentiation in human benign prostate and prostatic adenocarcinoma. *Cancer*. 1993 Jun 15;71(12):3952-65.
54. Hameed O, Humphrey PA. Immunohistochemistry in diagnostic surgical pathology of the prostate. *Semin Diagn Pathol*. 2005 Feb;22(1):88-104.
55. Dabbs DJ. Diagnostic immunohistochemistry : theranostic and genomic applications. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders /Elsevier; 2010.
56. Gretzer MB, Partin AW. PSA markers in prostate cancer detection. *Urol Clin North Am*. 2003 Nov;30(4):677-86.
57. Nadji M, Tabei SZ, Castro A, Chu TM, Murphy GP, Wang MC, et al. Prostatic-specific antigen: an immunohistologic marker for prostatic neoplasms. *Cancer*. 1981 Sep 1;48(5):1229-32.
58. Keillor JS, Aterman K. The response of poorly differentiated prostatic tumors to staining for prostate specific antigen and prostatic acid phosphatase: a comparative study. *J Urol*. 1987 May;137(5):894-6.
59. Bostwick DG. Prostate-specific antigen. Current role in diagnostic pathology of prostate cancer. *Am J Clin Pathol*. 1994 Oct;102(4 Suppl 1):S31-7.
60. Hameed O, Sublett J, Humphrey PA. Immunohistochemical stains for p63 and alpha-methylacyl-CoA racemase, versus a cocktail comprising both, in the diagnosis of prostatic carcinoma: a comparison of the immunohistochemical staining of 430 foci in radical prostatectomy and needle biopsy tissues. *Am J Surg Pathol*. 2005 May;29(5):579-87.
61. van Dieijen-Visser MP, Delaere KP, Gijzen AH, Brombacher PJ. A comparative study on the diagnostic value of prostatic acid phosphatase (PAP) and prostatic specific antigen (PSA) in patients with carcinoma of the prostate gland. *Clin Chim Acta*. 1988 May 31;174(2):131-40.
62. Ersev A, Ersev D, Turkeri L, Ilker Y, Simsek F, Kullu S, et al. The relation of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen with tumour grade in prostatic adenocarcinoma: an immunohistochemical study. *Prog Clin Biol Res*. 1990;357:129-34.

63. Bostwick DG, Pacelli A, Blute M, Roche P, Murphy GP. Prostate specific membrane antigen expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: a study of 184 cases. *Cancer*. 1998 Jun 1;82(11):2256-61.
64. Chang SS, Reuter VE, Heston WD, Gaudin PB. Comparison of anti-prostate-specific membrane antigen antibodies and other immunomarkers in metastatic prostate carcinoma. *Urology*. 2001 Jun;57(6):1179-83.
65. Chang SS, Reuter VE, Heston WD, Hutchinson B, Grauer LS, Gaudin PB. Short term neoadjuvant androgen deprivation therapy does not affect prostate specific membrane antigen expression in prostate tissues. *Cancer*. 2000 Jan 15;88(2):407-15.
66. Lane Z, Hansel DE, Epstein JI. Immunohistochemical expression of prostatic antigens in adenocarcinoma and villous adenoma of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol*. 2008 Sep;32(9):1322-6.
67. Jiang Z, Wu CL, Woda BA, Iczkowski KA, Chu PG, Tretiakova MS, et al. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a multi-institutional study of a new prostate cancer marker. *Histopathology*. 2004 Sep;45(3):218-25.
68. Shah RB, Zhou M, LeBlanc M, Snyder M, Rubin MA. Comparison of the basal cell-specific markers, 34betaE12 and p63, in the diagnosis of prostate cancer. *Am J Surg Pathol*. 2002 Sep;26(9):1161-8.
69. Shah RB, Kunju LP, Shen R, LeBlanc M, Zhou M, Rubin MA. Usefulness of basal cell cocktail (34betaE12 + p63) in the diagnosis of atypical prostate glandular proliferations. *Am J Clin Pathol*. 2004 Oct;122(4):517-23.
70. Weinstein MH, Signoretti S, Loda M. Diagnostic utility of immunohistochemical staining for p63, a sensitive marker of prostatic basal cells. *Mod Pathol*. 2002 Dec;15(12):1302-8.
71. Sheridan T, Herawi M, Epstein JI, Illei PB. The role of P501S and PSA in the diagnosis of metastatic adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol*. 2007 Sep;31(9):1351-5.
72. Yin M, Dhir R, Parwani AV. Diagnostic utility of p501s (prostein) in comparison to prostate specific antigen (PSA) for the detection of metastatic prostatic adenocarcinoma. *Diagn Pathol*. 2007;2:41.
73. Marker PC, Donjacour AA, Dahiya R, Cunha GR. Hormonal, cellular, and molecular control of prostatic development. *Dev Biol*. 2003 Jan 15;253(2):165-74.
74. Partin AW, Catalona WJ, Finlay JA, Darte C, Tindall DJ, Young CY, et al. Use of human glandular kallikrein 2 for the detection of prostate cancer: preliminary analysis. *Urology*. 1999 Nov;54(5):839-45.
75. Darson MF, Pacelli A, Roche P, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Young CY, et al. Human glandular kallikrein 2 (hK2) expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: a novel prostate cancer marker. *Urology*. 1997 Jun;49(6):857-62.
76. Haese A, Graefen M, Steuber T, Becker C, Noldus J, Erbersdobler A, et al. Total and Gleason grade 4/5 cancer volumes are major contributors of human kallikrein 2, whereas free prostate specific antigen is largely contributed by benign gland volume in serum from patients with prostate cancer or benign prostatic biopsies. *J Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2269-73.
77. Humphrey PA. Prostate pathology. Chicago: ASCP Press; 2003.

78. Foster CS. Pathology of benign prostatic hyperplasia. *Prostate Suppl.* 2000;9:4-14.
79. Gardner WA, Jr., Culberson DE. Atrophy and proliferation in the young adult prostate. *J Urol.* 1987 Jan;137(1):53-6.
80. Billis A. Prostatic atrophy: an autopsy study of a histologic mimic of adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 1998 Jan;11(1):47-54.
81. Franks LM. Atrophy and hyperplasia in the prostate proper. *J Pathol Bacteriol.* 1954 Oct;68(2):617-21.
82. Oppenheimer JR, Wills ML, Epstein JI. Partial atrophy in prostate needle cores: another diagnostic pitfall for the surgical pathologist. *Am J Surg Pathol.* 1998 Apr;22(4):440-5.
83. Herawi M, Parwani AV, Irie J, Epstein JI. Small glandular proliferations on needle biopsies: most common benign mimickers of prostatic adenocarcinoma sent in for expert second opinion. *Am J Surg Pathol.* 2005 Jul;29(7):874-80.
84. Wang W, Sun X, Epstein JI. Partial atrophy on prostate needle biopsy cores: a morphologic and immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol.* 2008 Jun;32(6):851-7.
85. Worschech A, Meirelles L, Billis A. Expression of alpha-methylacyl coenzyme A racemase in partial and complete focal atrophy on prostate needle biopsies. *Anal Quant Cytol Histol.* 2009 Dec;31(6):424-31.
86. De Marzo AM, Platz EA, Epstein JI, Ali T, Billis A, Chan TY, et al. A working group classification of focal prostate atrophy lesions. *Am J Surg Pathol.* 2006 Oct;30(10):1281-91.
87. Moore RA. The Evolution and Involution of the Prostate Gland. *Am J Pathol.* 1936 Sep;12(5):599-624 7.
88. Amin MB, Tamboli P, Varma M, Srigley JR. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland: a detailed analysis of its morphology in needle biopsy specimens. *Am J Surg Pathol.* 1999 Aug;23(8):925-31.
89. Anton RC, Kattan MW, Chakraborty S, Wheeler TM. Postatrophic hyperplasia of the prostate: lack of association with prostate cancer. *Am J Surg Pathol.* 1999 Aug;23(8):932-6.
90. Shah R, Mucci NR, Amin A, Macoska JA, Rubin MA. Postatrophic hyperplasia of the prostate gland: neoplastic precursor or innocent bystander? *Am J Pathol.* 2001 May;158(5):1767-73.
91. Billis A, Magna LA. Prostate elastosis: a microscopic feature useful for the diagnosis of postatrophic hyperplasia. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Sep;124(9):1306-9.
92. Bostwick DG, Algaba F, Amin MB, Ayala A, Eble J, Goldstein N, et al. Consensus statement on terminology: recommendation to use atypical adenomatous hyperplasia in place of adenosis of the prostate. *Am J Surg Pathol.* 1994 Oct;18(10):1069-70.
93. Bostwick DG, Srigley J, Grignon D, Maksem J, Humphrey P, van der Kwast TH, et al. Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate: morphologic criteria for its distinction from well-differentiated carcinoma. *Hum Pathol.* 1993 Aug;24(8):819-32.

94. Bostwick DG, Qian J. Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate. Relationship with carcinoma in 217 whole-mount radical prostatectomies. *Am J Surg Pathol*. 1995 May;19(5):506-18.
95. Eble JN, World Health Organization., International Agency for Research on Cancer. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon
Oxford: IARC Press ;
Oxford University Press (distributor); 2004.
96. McNeal JE, Bostwick DG. Intraductal dysplasia: a premalignant lesion of the prostate. *Hum Pathol*. 1986 Jan;17(1):64-71.
97. Prostatic intraepithelial neoplasia: significance and correlation with prostate-specific antigen and transrectal ultrasound. Proceedings of a workshop of the National Prostate Cancer Detection Project. March 13, 1989, Bethesda, Maryland. *Urology*. 1989 Dec;34(6 Suppl):2-69.
98. Epstein JI, Grignon DJ, Humphrey PA, McNeal JE, Sesterhenn IA, Troncoso P, et al. Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 1995 Aug;19(8):873-86.
99. Allam CK, Bostwick DG, Hayes JA, Upton MP, Wade GG, Domanowski GF, et al. Interobserver variability in the diagnosis of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma. *Mod Pathol*. 1996 Jul;9(7):742-51.
100. Egevad L, Allsbrook WC, Jr., Epstein JI. Current practice of diagnosis and reporting of prostate cancer on needle biopsy among genitourinary pathologists. *Hum Pathol*. 2006 Mar;37(3):292-7.
101. Brawer MK, Bigler SA, Sohlberg OE, Nagle RB, Lange PH. Significance of prostatic intraepithelial neoplasia on prostate needle biopsy. *Urology*. 1991 Aug;38(2):103-7.
102. Aboseif S, Shinohara K, Weidner N, Narayan P, Carroll PR. The significance of prostatic intra-epithelial neoplasia. *Br J Urol*. 1995 Sep;76(3):355-9.
103. Langer JE, Rovner ES, Coleman BG, Yin D, Arger PH, Malkowicz SB, et al. Strategy for repeat biopsy of patients with prostatic intraepithelial neoplasia detected by prostate needle biopsy. *J Urol*. 1996 Jan;155(1):228-31.
104. Raviv G, Janssen T, Zlotta AR, Descamps F, Verhest A, Schulman CC. Prostatic intraepithelial neoplasia: influence of clinical and pathological data on the detection of prostate cancer. *J Urol*. 1996 Sep;156(3):1050-4; discussion 4-5.
105. Goeman L, Joniau S, Ponette D, Van der Aa F, Roskams T, Oyen R, et al. Is low-grade prostatic intraepithelial neoplasia a risk factor for cancer? *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2003;6(4):305-10.
106. Egevad L, Allsbrook WC, Epstein JI. Current practice of diagnosis and reporting of prostatic intraepithelial neoplasia and glandular atypia among genitourinary pathologists. *Mod Pathol*. 2006 Feb;19(2):180-5.
107. Montironi R, Mazzucchelli R, Algaba F, Lopez-Beltran A. Morphological identification of the patterns of prostatic intraepithelial neoplasia and their importance. *J Clin Pathol*. 2000 Sep;53(9):655-65.
108. Alers JC, Krijtenburg PJ, Vissers KJ, Bosman FT, van der Kwast TH, van Dekken H. Interphase cytogenetics of prostatic adenocarcinoma and precursor

- lesions: analysis of 25 radical prostatectomies and 17 adjacent prostatic intraepithelial neoplasias. *Genes Chromosomes Cancer*. 1995 Apr;12(4):241-50.
109. Bergerheim US, Kunimi K, Collins VP, Ekman P. Deletion mapping of chromosomes 8, 10, and 16 in human prostatic carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 1991 May;3(3):215-20.
 110. Bova GS, Carter BS, Bussemakers MJ, Emi M, Fujiwara Y, Kyprianou N, et al. Homozygous deletion and frequent allelic loss of chromosome 8p22 loci in human prostate cancer. *Cancer Res*. 1993 Sep 1;53(17):3869-73.
 111. Emmert-Buck MR, Vocke CD, Pozzatti RO, Duray PH, Jennings SB, Florence CD, et al. Allelic loss on chromosome 8p12-21 in microdissected prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Res*. 1995 Jul 15;55(14):2959-62.
 112. Cunningham JM, Shan A, Wick MJ, McDonnell SK, Schaid DJ, Tester DJ, et al. Allelic imbalance and microsatellite instability in prostatic adenocarcinoma. *Cancer Res*. 1996 Oct 1;56(19):4475-82.
 113. Bostwick DG, Amin MB, Dundore P, Marsh W, Schultz DS. Architectural patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol*. 1993 Mar;24(3):298-310.
 114. Bostwick DG. Prospective origins of prostate carcinoma. Prostatic intraepithelial neoplasia and atypical adenomatous hyperplasia. *Cancer*. 1996 Jul 15;78(2):330-6.
 115. Bostwick DG, Shan A, Qian J, Darson M, Maihle NJ, Jenkins RB, et al. Independent origin of multiple foci of prostatic intraepithelial neoplasia: comparison with matched foci of prostate carcinoma. *Cancer*. 1998 Nov 1;83(9):1995-2002.
 116. Davidson D, Bostwick DG, Qian J, Wollan PC, Oesterling JE, Rudders RA, et al. Prostatic intraepithelial neoplasia is a risk factor for adenocarcinoma: predictive accuracy in needle biopsies. *J Urol*. 1995 Oct;154(4):1295-9.
 117. Kronz JD, Allan CH, Shaikh AA, Epstein JI. Predicting cancer following a diagnosis of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia on needle biopsy: data on men with more than one follow-up biopsy. *Am J Surg Pathol*. 2001 Aug;25(8):1079-85.
 118. O'Dowd G J, Miller MC, Orozco R, Veltri RW. Analysis of repeated biopsy results within 1 year after a noncancer diagnosis. *Urology*. 2000 Apr;55(4):553-9.
 119. Quinn BD, Cho KR, Epstein JI. Relationship of severe dysplasia to stage B adenocarcinoma of the prostate. *Cancer*. 1990 May 15;65(10):2328-37.
 120. Greene DR, Wheeler TM, Egawa S, Dunn JK, Scardino PT. A comparison of the morphological features of cancer arising in the transition zone and in the peripheral zone of the prostate. *J Urol*. 1991 Oct;146(4):1069-76.
 121. Haggman M, Nordin B, Mattson S, Busch C. Morphometric studies of intra-prostatic volume relationships in localized prostatic cancer. *Br J Urol*. 1997 Oct;80(4):612-7.
 122. Sakr WA, Grignon DJ, Crissman JD, Heilbrun LK, Cassin BJ, Pontes JJ, et al. High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases. *In Vivo*. 1994 May-Jun;8(3):439-43.

123. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol.* 1999 Dec;155(6):1985-92.
124. Haas GP, Delongchamps NB, Jones RF, Chandan V, Serio AM, Vickers AJ, et al. Needle biopsies on autopsy prostates: sensitivity of cancer detection based on true prevalence. *J Natl Cancer Inst.* 2007 Oct 3;99(19):1484-9.
125. Baisden BL, Kahane H, Epstein JI. Perineural invasion, mucinous fibroplasia, and glomerulations: diagnostic features of limited cancer on prostate needle biopsy. *Am J Surg Pathol.* 1999 Aug;23(8):918-24.
126. Gaudin PB, Epstein JI. Adenosis of the prostate. Histologic features in transurethral resection specimens. *Am J Surg Pathol.* 1994 Sep;18(9):863-70.
127. Epstein JI. Diagnostic criteria of limited adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy. *Hum Pathol.* 1995 Feb;26(2):223-9.
128. Ro JY, Ayala AG, Ordonez NG, Cartwright J, Jr., Mackay B. Intraluminal crystalloids in prostatic adenocarcinoma. Immunohistochemical, electron microscopic, and x-ray microanalytic studies. *Cancer.* 1986 Jun 15;57(12):2397-407.
129. McIntire TL, Franzini DA. The presence of benign prostatic glands in perineural spaces. *J Urol.* 1986 Mar;135(3):507-9.
130. Carstens PH. Perineural glands in normal and hyperplastic prostates. *J Urol.* 1980 May;123(5):686-8.
131. Gleason DF. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep.* 1966 Mar;50(3):125-8.
132. Epstein JI. Gleason score 2-4 adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy: a diagnosis that should not be made. *Am J Surg Pathol.* 2000 Apr;24(4):477-8.
133. Sakr WA, Wheeler TM, Blute M, Bodo M, Calle-Rodrigue R, Henson DE, et al. Staging and reporting of prostate cancer--sampling of the radical prostatectomy specimen. *Cancer.* 1996 Jul 15;78(2):366-8.
134. Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB, Egevad LL. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2005 Sep;29(9):1228-42.
135. Gehring WJ, Muller M, Affolter M, Percival-Smith A, Billeter M, Qian YQ, et al. The structure of the homeodomain and its functional implications. *Trends Genet.* 1990 Oct;6(10):323-9.
136. Xu LL, Srikantan V, Sesterhenn IA, Augustus M, Dean R, Moul JW, et al. Expression profile of an androgen regulated prostate specific homeobox gene NKX3.1 in primary prostate cancer. *J Urol.* 2000 Mar;163(3):972-9.
137. Ornstein DK, Cinquanta M, Weiler S, Duray PH, Emmert-Buck MR, Vocke CD, et al. Expression studies and mutational analysis of the androgen regulated homeobox gene NKX3.1 in benign and malignant prostate epithelium. *J Urol.* 2001 Apr;165(4):1329-34.
138. Korkmaz CG, Korkmaz KS, Manola J, Xi Z, Risberg B, Danielsen H, et al. Analysis of androgen regulated homeobox gene NKX3.1 during prostate carcinogenesis. *J Urol.* 2004 Sep;172(3):1134-9.

139. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001 Feb 17;357(9255):539-45.
140. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int J Cancer*. 2007 Dec 1;121(11):2381-6.
141. Kawanishi S, Hiraku Y, Pinlaor S, Ma N. Oxidative and nitrative DNA damage in animals and patients with inflammatory diseases in relation to inflammation-related carcinogenesis. *Biol Chem*. 2006 Apr;387(4):365-72.
142. Nakai Y, Nonomura N. Inflammation and prostate carcinogenesis. *Int J Urol*. 2012 Jul 31.
143. Elkahwaji JE, Zhong W, Hopkins WJ, Bushman W. Chronic bacterial infection and inflammation incite reactive hyperplasia in a mouse model of chronic prostatitis. *Prostate*. 2007 Jan 1;67(1):14-21.
144. Ouyang X, DeWeese TL, Nelson WG, Abate-Shen C. Loss-of-function of Nkx3.1 promotes increased oxidative damage in prostate carcinogenesis. *Cancer Res*. 2005 Aug 1;65(15):6773-9.
145. Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby RM, Higgins SJ, et al. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr Rev*. 1987 Aug;8(3):338-62.
146. Keller ET, Ershler WB, Chang C. The androgen receptor: a mediator of diverse responses. *Front Biosci*. 1996 Mar 1;1:d59-71.
147. Cheng H, Snoek R, Ghaidi F, Cox ME, Rennie PS. Short hairpin RNA knockdown of the androgen receptor attenuates ligand-independent activation and delays tumor progression. *Cancer Res*. 2006 Nov 1;66(21):10613-20.
148. Galbraith SM, Duchesne GM. Androgens and prostate cancer: biology, pathology and hormonal therapy. *Eur J Cancer*. 1997 Apr;33(4):545-54.
149. Liao X, Tang S, Thrasher JB, Griebeling TL, Li B. Small-interfering RNA-induced androgen receptor silencing leads to apoptotic cell death in prostate cancer. *Mol Cancer Ther*. 2005 Apr;4(4):505-15.
150. Trapman J, Brinkmann AO. The androgen receptor in prostate cancer. *Pathol Res Pract*. 1996 Jul;192(7):752-60.
151. Knudson AG, Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1971 Apr;68(4):820-3.
152. Voeller HJ, Augustus M, Madike V, Bova GS, Carter KC, Gelmann EP. Coding region of NKX3.1, a prostate-specific homeobox gene on 8p21, is not mutated in human prostate cancers. *Cancer Res*. 1997 Oct 15;57(20):4455-9.
153. Venkatachalam S, Shi YP, Jones SN, Vogel H, Bradley A, Pinkel D, et al. Retention of wild-type p53 in tumors from p53 heterozygous mice: reduction of p53 dosage can promote cancer formation. *EMBO J*. 1998 Aug 17;17(16):4657-67.
154. Zheng L, Flesken-Nikitin A, Chen PL, Lee WH. Deficiency of Retinoblastoma gene in mouse embryonic stem cells leads to genetic instability. *Cancer Res*. 2002 May 1;62(9):2498-502.
155. Abdulkadir SA, Magee JA, Peters TJ, Kaleem Z, Naughton CK, Humphrey PA, et al. Conditional loss of Nkx3.1 in adult mice induces prostatic intraepithelial neoplasia. *Mol Cell Biol*. 2002 Mar;22(5):1495-503.

156. Mathupala SP, Ko YH, Pedersen PL. Hexokinase-2 bound to mitochondria: cancer's stygian link to the "Warburg Effect" and a pivotal target for effective therapy. *Semin Cancer Biol.* 2009 Feb;19(1):17-24.
157. Gurel B, Iwata T, Koh CM, Jenkins RB, Lan F, Van Dang C, et al. Nuclear MYC protein overexpression is an early alteration in human prostate carcinogenesis. *Mod Pathol.* 2008 Sep;21(9):1156-67.
158. Wang J, Kim J, Roh M, Franco OE, Hayward SW, Wills ML, et al. Pim1 kinase synergizes with c-MYC to induce advanced prostate carcinoma. *Oncogene.* 2010 Apr 29;29(17):2477-87.
159. Kim MJ, Cardiff RD, Desai N, Banach-Petrosky WA, Parsons R, Shen MM, et al. Cooperativity of Nkx3.1 and Pten loss of function in a mouse model of prostate carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Mar 5;99(5):2884-9.
160. Tan PY, Chang CW, Chng KR, Wansa KD, Sung WK, Cheung E. Integration of regulatory networks by NKX3-1 promotes androgen-dependent prostate cancer survival. *Mol Cell Biol.* 2012 Jan;32(2):399-414.
161. Craft N, Chhor C, Tran C, Beldegrun A, DeKernion J, Witte ON, et al. Evidence for clonal outgrowth of androgen-independent prostate cancer cells from androgen-dependent tumors through a two-step process. *Cancer Res.* 1999 Oct 1;59(19):5030-6.
162. Feldman BJ, Feldman D. The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer.* 2001 Oct;1(1):34-45.
163. Przybycin CG, Kunju LP, Wu AJ, Shah RB. Partial atrophy in prostate needle biopsies: a detailed analysis of its morphology, immunophenotype, and cellular kinetics. *Am J Surg Pathol.* 2008 Jan;32(1):58-64.
164. van Leenders GJ, Gage WR, Hicks JL, van Balken B, Aalders TW, Schalken JA, et al. Intermediate cells in human prostate epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. *Am J Pathol.* 2003 May;162(5):1529-37.
165. Putzi MJ, De Marzo AM. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology.* 2000 Nov 1;56(5):828-32.
166. Wang W, Bergh A, Damber JE. Morphological transition of proliferative inflammatory atrophy to high-grade intraepithelial neoplasia and cancer in human prostate. *Prostate.* 2009 Sep 15;69(13):1378-86.
167. De Marzo AM, Meeker AK, Zha S, Luo J, Nakayama M, Platz EA, et al. Human prostate cancer precursors and pathobiology. *Urology.* 2003 Nov;62(5 Suppl 1):55-62.
168. Postma R, Schroder FH, van der Kwast TH. Atrophy in prostate needle biopsy cores and its relationship to prostate cancer incidence in screened men. *Urology.* 2005 Apr;65(4):745-9.
169. Billis A. Prostatic atrophy. Clinicopathological significance. *Int Braz J Urol.* 2010 Jul-Aug;36(4):401-9.
170. Mikuz G, Algaba F, Beltran AL, Montironi R. Prostate carcinoma: atrophy or not atrophy that is the question. *Eur Urol.* 2007 Nov;52(5):1293-6.
171. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008 Jul 24;454(7203):436-44.

172. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002 Dec 19-26;420(6917):860-7.
173. Hudson JD, Shoaibi MA, Maestro R, Carnero A, Hannon GJ, Beach DH. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. *J Exp Med*. 1999 Nov 15;190(10):1375-82.
174. Sfanos KS, Sauvageot J, Fedor HL, Dick JD, De Marzo AM, Isaacs WB. A molecular analysis of prokaryotic and viral DNA sequences in prostate tissue from patients with prostate cancer indicates the presence of multiple and diverse microorganisms. *Prostate*. 2008 Feb 15;68(3):306-20.
175. Bergh J, Marklund I, Thellenberg-Karlsson C, Gronberg H, Elgh F, Alexeyev OA. Detection of *Escherichia coli* 16S RNA and cytotoxic necrotizing factor 1 gene in benign prostate hyperplasia. *Eur Urol*. 2007 Feb;51(2):457-62; discussion 62-3.
176. Boehm BJ, Colopy SA, Jerde TJ, Loftus CJ, Bushman W. Acute bacterial inflammation of the mouse prostate. *Prostate*. 2012 Feb;72(3):307-17.
177. Elkahwaji JE, Hauke RJ, Brawner CM. Chronic bacterial inflammation induces prostatic intraepithelial neoplasia in mouse prostate. *Br J Cancer*. 2009 Nov 17;101(10):1740-8.
178. Gonzalgo ML, Isaacs WB. Molecular pathways to prostate cancer. *J Urol*. 2003 Dec;170(6 Pt 1):2444-52.
179. Chin JL, Reiter RE. Genetic alterations in prostate cancer. *Curr Urol Rep*. 2004 Jun;5(3):157-65.
180. Abate-Shen C, Shen MM. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes Dev*. 2000 Oct 1;14(19):2410-34.
181. Lopez-Beltran A, Artacho-Perula E, Luque-Barona RJ, Roldan-Villalobos R. Nuclear volume estimates in prostatic atypical adenomatous hyperplasia. *Anal Quant Cytol Histol*. 2000 Dec;22(6):438-44.
182. Montironi R, Bartels PH, Hamilton PW, Thompson D. Atypical adenomatous hyperplasia (adenosis) of the prostate: development of a Bayesian belief network for its distinction from well-differentiated adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 1996 Apr;27(4):396-407.
183. Algaba F, Epstein JI, Fabus G, Helpap B, Nagle RB, Polito M. Working standards in prostatic intraepithelial neoplasia and atypical adenomatous hyperplasia. *Pathol Res Pract*. 1995 Sep;191(9):836-7.
184. Ghazizadeh M, Sasaki Y, Oguro T, Aihara K. Silver staining of nucleolar organizer regions in prostatic lesions. *Histopathology*. 1991 Oct;19(4):369-72.
185. Qian J, Jenkins RB, Bostwick DG. Chromosomal anomalies in atypical adenomatous hyperplasia and carcinoma of the prostate using fluorescence in situ hybridization. *Urology*. 1995 Dec;46(6):837-42.
186. Haussler O, Epstein JI, Amin MB, Heitz PU, Hailemariam S. Cell proliferation, apoptosis, oncogene, and tumor suppressor gene status in adenosis with comparison to benign prostatic hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, and cancer. *Hum Pathol*. 1999 Sep;30(9):1077-86.
187. Helpap BG, Bostwick DG, Montironi R. The significance of atypical adenomatous hyperplasia and prostatic intraepithelial neoplasia for the

- development of prostate carcinoma. An update. *Virchows Arch.* 1995;426(5):425-34.
188. Cheng L, Shan A, Cheville JC, Qian J, Bostwick DG. Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate: a premalignant lesion? *Cancer Res.* 1998 Feb 1;58(3):389-91.
 189. Doll JA, Zhu X, Furman J, Kaleem Z, Torres C, Humphrey PA, et al. Genetic analysis of prostatic atypical adenomatous hyperplasia (adenosis). *Am J Pathol.* 1999 Sep;155(3):967-71.
 190. Roehrborn CG. Pathology of benign prostatic hyperplasia. *Int J Impot Res.* 2008 Dec;20 Suppl 3:S11-8.
 191. Aslan G, Irer B, Tuna B, Yorukoglu K, Saatcioglu F, Celebi I. Analysis of NKX3.1 expression in prostate cancer tissues and correlation with clinicopathologic features. *Pathol Res Pract.* 2006;202(2):93-8.
 192. Epstein JI, Herawi M. Prostate needle biopsies containing prostatic intraepithelial neoplasia or atypical foci suspicious for carcinoma: implications for patient care. *J Urol.* 2006 Mar;175(3 Pt 1):820-34.
 193. Montironi R, Mazzucchelli R, Lopez-Beltran A, Cheng L, Scarpelli M. Mechanisms of disease: high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and other proposed preneoplastic lesions in the prostate. *Nat Clin Pract Urol.* 2007 Jun;4(6):321-32.
 194. Mosquera JM, Perner S, Genega EM, Sanda M, Hofer MD, Mertz KD, et al. Characterization of TMPRSS2-ERG fusion high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and potential clinical implications. *Clin Cancer Res.* 2008 Jun 1;14(11):3380-5.
 195. Ribeiro FR, Diep CB, Jeronimo C, Henrique R, Lopes C, Eknaes M, et al. Statistical dissection of genetic pathways involved in prostate carcinogenesis. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006 Feb;45(2):154-63.
 196. Al-Hussain TO, Epstein JI. Initial high-grade prostatic intraepithelial neoplasia with carcinoma on subsequent prostate needle biopsy: findings at radical prostatectomy. *Am J Surg Pathol.* 2011 Aug;35(8):1165-7.
 197. Haggman MJ, Wojno KJ, Pearsall CP, Macoska JA. Allelic loss of 8p sequences in prostatic intraepithelial neoplasia and carcinoma. *Urology.* 1997 Oct;50(4):643-7.
 198. Sakr WA, Macoska JA, Benson P, Grignon DJ, Wolman SR, Pontes JE, et al. Allelic loss in locally metastatic, multisampled prostate cancer. *Cancer Res.* 1994 Jun 15;54(12):3273-7.
 199. MacGrogan D, Levy A, Bostwick D, Wagner M, Wells D, Bookstein R. Loss of chromosome arm 8p loci in prostate cancer: mapping by quantitative allelic imbalance. *Genes Chromosomes Cancer.* 1994 Jul;10(3):151-9.
 200. Suzuki H, Emi M, Komiya A, Fujiwara Y, Yatani R, Nakamura Y, et al. Localization of a tumor suppressor gene associated with progression of human prostate cancer within a 1.2 Mb region of 8p22-p21.3. *Genes Chromosomes Cancer.* 1995 Jul;13(3):168-74.

10. ÖZGEÇMİŞ:

Adı: Erdem

Soyadı: Vargöl

Doğum Yeri ve Tarihi: İzmit 03.11.1980

Eğitimi:

Orta Öğretim: 1993-1999 Kocaeli Körfez Oruç Reis Anadolu Lisesi

Tıp Fakültesi: 2002-2008 Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi

Uzmanlık Eğitimi: 2008-20..., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi

Patoloji Anabilim Dalı, Ankara

Yabancı Dili: İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Ankara Patoloji Derneği