



## ARAŞTIRMA YAZISI

### RADİKAL PROSTATEKTOMİ SPESMENLERİNDEKİ VEGF'İN, E-CADHERİN'İN VE BIM'İN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL EKSPRESYONLARININ PROGNOTİK DEĞERİ

Erem Kaan Başok<sup>1</sup>, Asıf Yıldırım<sup>1</sup>, Adnan Başaran<sup>1</sup>, Ebru Zemheri<sup>2</sup>, Reşit Tokuç<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SB İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. Üroloji, İstanbul, Türkiye <sup>2</sup>SB İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji, İstanbul, Türkiye

#### ÖZET

**Giriş:** Bu çalışmanın amacı radikal prostatektomi spesmenlerindeki vasküler büyüme faktörü (VEGF), E-Cadherin ve Bim ekspresyonlarını değerlendirmek ve prognoz üzerine etkisini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Radikal prostatektomi uygulanan 66 hastanın (51 hasta pT2, 13 hasta pT3, 2 hasta pT4) spesmenleri VEGF, E-Cadherin ve Bim antikorları ile boyandı. VEGF, E-Cadherin ve Bim immünoreaktivite sonuçlarının Gleason skoru ve biyokimyasal nüks ile olan ilişkileri araştırıldı. İmmünohistokimyasal ve klinik verilere göre istatistiksel analiz yapıldı.

**Bulgular:** Hastalar Gleason skoruna (Gleason score <7 and Gleason ≥7) ve biyokimyasal nüks (Prostat spesifik antijen (PSA) >0,2 ng/ml) göre gruplara ayrıldı. Gruplar arasında VEGF, E-Cadherin ve Bim ekspresyonlarında anlamlı fark olmamasına rağmen, biyokimyasal nüks saptanan hastalarda VEGF ekspresyonu %59,74 ve biyokimyasal nüks saptanmayan hastalarda %44,47 bulundu (p=0,058). Spearman korelasyon testi uygulandığında, VEGF ve E-Cadherin arasında anlamlı bir ilişki tespit edildi (p=0,05).

**Sonuç:** Tedaviye karar aşamasında yüksek riskli hasta grubunun belirlenmesinde kullanılabilecek biyobelirteçe henüz sahip değiliz. Düşüncemiz daha büyük sayılı çalışmalarda bu biyobelirteçlerin araştırılması ve immünohistokimyasal değerlendirmede imaj analiz yönteminin kullanılmasıdır.

**Anahtar sözcükler:** Prostat kanseri, VEGF, E-Cadherin, Bim

### PROGNOSTIC VALUE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF VEGF, E-CADHERIN AND BIM IN RADICAL PROSTATECTOMY SPECIMENS

#### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to evaluate the expressions of vascular endothelial growth factor (VEGF), E-Cadherin and Bim in radical prostatectomy specimens and to assess their prognostic value.

**Materials and Methods:** Sixty-six radical prostatectomy specimens from prostate cancer (51 stage pT2, 13 pT3, 2 pT4) were stained using VEGF, E-cadherin and Bim antibody. The correlations of VEGF, E-Cadherin and Bim immunoreactivity levels with Gleason scores and biochemical recurrence were examined. A statistical analysis was then performed according to the immunohistochemical and clinical data.

**Results:** Patients were grouped according to the Gleason score (Gleason score <7 and Gleason ≥7) and biochemical recurrence (Prostate specific antigen (PSA)>0.2 ng/ml). Although there were insignificant differences in the expressions of VEGF, E-Cadherin and Bim in these groups, the expressions of VEGF were 59.74% in patients with biochemical recurrence and 44.47% in patients without biochemical recurrence (p=0,058). In a Spearman correlation test, there was a significant correlation between expressions of VEGF and E-Cadherin (p=0.05).

**Conclusion:** We currently have no useful biomarker for the early identification of high risk patients and for deciding on treatment. These biomarkers should be studied in larger series of patients and immunohistochemical staining could be examined with quantitative image analysis method.

**Keywords:** Prostate cancer, VEGF, E-Cadherin, Bim

#### İletişim Bilgileri:

Dr. Asıf Yıldırım

SB İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1. Üroloji, İstanbul, Türkiye

e-mail: asifkad@superonline.com

Marmara Medical Journal 2009;22(3);203-216



## GİRİŞ

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen ve insidansı yaş ile artan bir hastalıktır. Avrupa'da erkek kanserlerinin %11'ini ve erkekler arasında kanser ölümlerinin %9'unu oluşturmaktadır<sup>1</sup>. Prostat spesifik antijen'in (PSA) tarama amaçlı kullanılmasından sonra organa sınırlı prostat kanseri insidansında belirgin bir artış görülmüştür<sup>2,3</sup>. Prostat kanserlerinin büyük çoğunluğu oldukça yavaş seyirlidir ve oldukça büyük bir kısmı hastanın yaşamına tehdit oluşturmaz, fakat hızla ilerleme gösterip hastanın sağlığına ve yaşamına ciddi tehdit oluşturabilecek olanları da ayırt etmek gereklidir. Organ sınırlı prostat kanseri tedavi alternatiflerinden olan radikal prostatektomi sırasında lenf nodu pozitifliği veya postoperatif erken ve geç dönemde rekürrens görülebilmektedir. Preoperatif PSA, transrektal ultrasonografi-biyopsi Gleason skoru, parmakla rektal muayene kullanarak hazırlanan nomogramlar ve bunlara patolojik Gleason skoru, cerrahi sınır tutulumu, ekstraprostatik yayılım, kapsüller ve seminal vezikül invazyon gibi histopatolojik bulgular ile hastalığın klinik progresyonunun önceden belirlenmesini amaçlanmaktadır<sup>3-5</sup>. Patolojik Gleason skoru progresyonu belirlemede en kuvvetli prognostik faktördür<sup>6</sup>. Henüz patolojik Gleason skorundan daha iyi prognostik bilgi veren parametre bulunmamasına rağmen, birçok yeni biyobelirteçin prognostik önemi araştırılma aşamasındadır. Prostat kanserinde prognostik faktör olarak kullanılması gündemde olan p53, p27, p21, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), androjen reseptör durumu ve mikrodamar dansitesi yakın zamanda bu konuda araştırılan biyobelirteçlerin en önemlilerindendir<sup>6</sup>.

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) endotel hücrelerinin proliferasyonunu, migrasyonunu ve diferansiyasyonunu sağlamaktadır<sup>7,8</sup>. Ayrıca, VEGF muhtemel temel anjiyojenik faktör olmanın yanında, VEGF'e maruz kalan damarlarda, endotel hücreleri arasında fenestrasyon, veziküler organeller ve transsellüler aralık oluşumuna olanak sağlayarak damar geçirgenliğini artırır

ve hücre-dışı matriks yıkımından sorumlu olan matriks metalloproteazların, ürokinazın, doku tipi plasminojen aktivatörlerinin salınımını da uyarır. Böylelikle invazyon ve metastazı da kolaylaştırır<sup>9</sup>.

E-Cadherin epitelyal hücrelerdeki önemli adezyon molekülüdür ve hücreler arasındaki moleküler bağlantıyı, yapışma kavşaklarında fermuara benzer yapılar oluşturarak sağlarlar. Tümör hücrelerinde E-Cadherin ekspresyonunun azaldığı ve epitel hücrelerinin göç kabiliyetlerinin arttığı belirlenmiştir. Böylece, E-Cadherin'in invaziv özelliğe karşı koruyucu olduğu sonucuna varılmıştır<sup>6</sup>.

Apoptozisi tetikleyen stres faktörlerinin kaspaz aktivasyonu yoluyla hücre ölümünde Bcl-2 proteinleri önemli rol oynamaktadır. Bcl-2 proteinleri, mitokondri dış zarının geçirgenliğini değiştirmek suretiyle etki göstermektedir. Bcl-2 ailesindeki üç alt gruptan biri olan 'BH3-only' Bcl-2 ailesinde Bad, Bik, Hrk, Noxa, Bid, Bmf, p53 upregulated modifier of apoptosis (PUMA) ve Bim yer alır<sup>10-12</sup>.

Bu çalışmada amaç, radikal prostatektomi uygulanmış hastaların doku örneklerinde VEGF, E-Cadherin, ve Bim biyobelirteçlerini immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirmek ve prostat kanserinin prognozu üzerine öngörü değerlerini ortaya koymaktır.

## GEREÇ-YÖNTEM

Hastane Etik Kurulundan onay alındıktan sonra S.B. İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1.Üroloji Kliniği'nde 2002-2007 tarihleri arasında klinik organa sınırlı prostat kanseri tanısı ile radikal prostatektomi operasyonu uygulanmış ve günümüze kadar takiplerine düzenli olarak gelmiş olan 66 hastanın patoloji örnekleri çalışmaya alınmıştır (onay tarihi: 26.09.2007, karar no: 39/A). Olguların yaş, preoperatif ve postoperatif prostat spesifik antijen (PSA), klinik ve patolojik evre, transrektal ultrasonografi-prostat biyopsi ve radikal prostatektomi Gleason skoru, tümör çapı,



sinir, kapsül ve seminal vezikül tutulumu, ekstrakapsüler uzanım (ekstraprostatik yayılım), cerrahi sınır pozitifliği, lenf nodu metastazı, biyokimyasal rekürrens, klinik progresyon verileri değerlendirildi (Tablo I). Hastaların klinik ve patolojik evrelemesi için TNM evreleme sistemi (2002) kullanıldı<sup>5</sup>. Hastalarda izlem sırasında ölçülebilen PSA değerinin 0,2 ng/ml ve üzerinde olması biyokimyasal rekürrens, kemik sintigrafisi veya diğer görüntüleme yöntemleri ile metastaz saptanması progresyon olarak değerlendirildi<sup>3,5</sup>.

Patoloji örnekleri tek bir patoloji uzmanı tarafından önceki patoloji sonucu bilinmeksizin tekrar değerlendirildi. Bu 66 olguya ait patoloji örneklerinin hematoksilin-eosin boyalı kesitleri incelenerek, olgulara ait bloklar arasından her bir olgu için tümörü en iyi örnekleyen, immünohistokimyasal çalışması için uygun yeterlilikte doku bulunduran, 66 parafin blok çalışma için seçildi. Çalışmaya seçilen bloklardaki doku örnekleri tümöral ve nontümöral alanları birlikte içermektedir. Seçilen her parafin bloğa VEGF, E-Cadherin ve Bim boyaları immünohistokimyasal olarak uygulandı.

**Tablo I.** Hastaların klinik ve histopatolojik özellikleri.

		<b>n</b>	<b>(%)</b>
	<4	6	9
<b>Preoperatif PSA (ng/ml)</b>	<b>4,1-10</b>	25	38
	<b>10,1-20</b>	23	35
	>20	12	18
<b>Gleason skoru</b>	<7	47	71
	≥7	19	29
<b>Klinik evre</b>	<b>T1</b>	29	44
	<b>T2</b>	37	56
	<b>T2</b>	51	77
<b>Patolojik evre</b>	<b>T3</b>	13	20
	<b>T4</b>	2	3
	<b>Yok</b>	42	64
	<b>Var</b>	24	36
<b>Kapsüler invazyon</b>	<b>Yok</b>	42	64
	<b>Var</b>	24	36
<b>Cerrahi sınır tutulumu</b>	<b>Yok</b>	42	64
	<b>Var</b>	24	36
<b>Ekstraprostatik yayılım</b>	<b>Yok</b>	55	83
	<b>Var</b>	11	17
<b>Seminal vezikül invazyonu</b>	<b>Yok</b>	57	86
	<b>Var</b>	9	14
<b>Perinöral invazyon</b>	<b>Yok</b>	20	33
	<b>Var</b>	46	67
<b>Vasküler invazyon</b>	<b>Yok</b>	61	92
	<b>Var</b>	5	8
<b>Lenf nodu metastazı</b>	<b>Yok</b>	61	92
	<b>Var</b>	5	8



### İmmünohistokimyasal boyama işlemleri:

Seçilen parafin bloklardan elde edilen 5 mikrometre kalınlıktaki kesitler, önceden poly-L-Lysin ile kaplanmış lamlara alındı. Kesitler bir gece önce 57 C °'lik sıcaklıkta etüvde bekletildi. Deparafinizasyon işlemi için etüvden alınan kesitler 30 dakika süresince 3 ayrı şale ile ksilolden geçirildi. Daha sonra derecesi azalan alkollerden 20 dakikada geçirilen kesitler distile su ile yıkandı. Antijen retrieval amacıyla plastik taşıyıcıya alınan kesitler, kesit yüzeyini örtecek şekilde pH6 sitrat buffer solusyonu içine yerleştirildi. Üç kez 5'er dakikalık sürelerle toplam 15 dakika mikrodalga fırında şoklandı. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra kesitler distile su ile yıkandı. Dokuların etrafı hidrofobik kalem ile çizildi ve kesitler PBS (phosphate buffered saline) ile yıkandı. Dokudaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak amacıyla, kesitlerin üzerine hidrojen peroksidin %0,3'lük çözeltisi damlatılarak 15 dakika bekletildi. Kesitler tekrar PBS ile yıkandı. Nonspesifik bağlanmaları engellemek amacıyla kesitler üzerine Ultra V Block Nonspecific Blocking Reagent (Lab Vision Corporation, CA, USA ) 10 dakika uygulandı. Ardından VEGF (Epitope Spesific Rabbit Antibody, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA USA), E-Cadherin (Epitope Spesific Rabbit Antibody, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA USA), BIM/BOD (bcl-2-related Ovarian Death Gene) Ab-1 (Rabbit polyclonal antibody, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA USA) damlatılıp 60 dakika bekletildi. Dört ayrı PBS banyosunda 10 dakika yıkandı. Sekonder antikor olarak Biotinylated Goat Anti-Polyvalent (Lab Vision Corporation, CA USA) uygulandı ve 15 dakika bekletildi. Kesitler tekrar 4 ayrı PBS banyosunda yıkandı ve kesitlerin üzerine immün reaksiyonu gözlemlmek için işaretleyici (label) olarak Streptavidin Peroxidase (Lab Vision Corporation, 47790 CA, USA) damlatılarak 15 dakika beklendi. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine immün reaksiyonu

gözlemlmek için AEC kromojen sistemi (AEC Substrate system, Thermo Fisher Scientific Anatomical Pathology, CA USA) kullanıldı. Yirmi mikrolitre AEC kromojen, 1 ml AEC substrat ile karıştırıldıktan sonra kesitlere 10 dakika süre ile uygulandı. Daha sonra kesitler distile su ile yıkanıp zıt boya olarak 1,5 dakika hematoksilin ile boyandı. Su bazlı kapama maddesi damlatılarak kesitler kapatıldı.

### İmmünreaktivitenin değerlendirilmesi

Bu çalışmada pozitif kontrol için çevre malign olmayan prostat dokusu dikkate alındı. VEGF, E-Cadherin, Bim immünreaktivitesi sitoplazmik boyanmanın varlığında pozitif kabul edildi. Boyanma yaygınlık ve boyanma şiddeti açısından değerlendirildi. VEGF boyanma şiddetinin değerlendirilmesinde sitoplazmik boyanma dikkate alındı. Boyanma yok ise (-), hafif boyanma (+), orta derecede boyanma (++) , kuvvetli boyanma (+++) ve VEGF boyanma yaygınlığı boyanma yok (-), %0-%25 (+), %25-%50 (++) ve %50'nin üstünde (+++) kabul edildi. E-Cadherin ile boyanmanın değerlendirilmesinde ise membranöz boyanma dikkate alındı. Boyanma yok (-), hafif boyanma (+), orta derecede boyanma (++) ve kuvvetli boyanma (+++) kabul edildi. Bim ile boyanmanın değerlendirilmesinde nükleer boyanma dikkate alındı ve boyanmanın olmaması (-), %10'un altında boyanma (+), %10-%25 boyanma (++) ve %25'in üstünde boyanma (+++) olarak değerlendirildi (Resim 1)<sup>13</sup>.

### İstatistiksel değerlendirme:

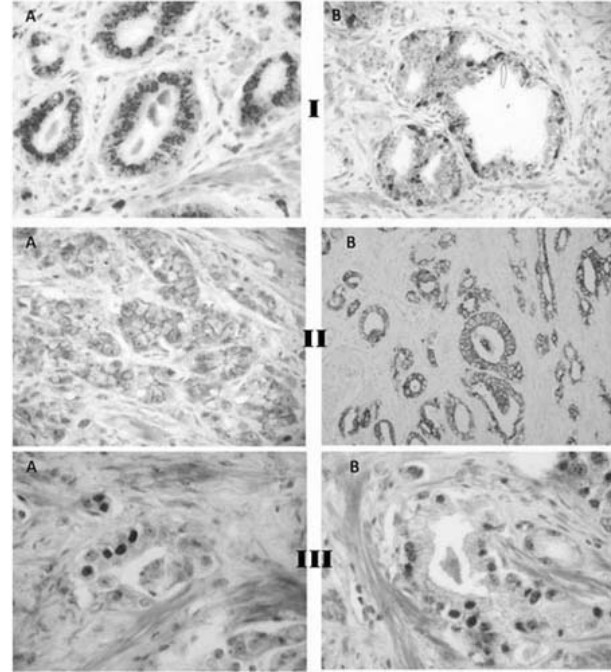
İstatistiksel analizler NCSS 2007 paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanılmıştır. Biyobelirteçlerin (VEGF, E-Cadherin ve Bim) immünohistokimyasal çalışmalarından elde edilen verilerin birbirleri ile ilişkilerinin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon testi kullanıldı.



Sonuçlar, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

### BULGULAR

Tüm olgular Gleason skoru  $< 7$  ve Gleason skoru  $\geq 7$  olmak üzere gruplandırıldı. Bu iki grubun operasyon öncesi verileri, patoloji örnekleri ve izlem sonuçları karşılaştırıldı. Yaş, tümör çapı, izlem süresi ve prostatik intraepitelyal neoplazi (PİN) dışında kalan tüm veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0,05$ ) (Tablo II ve III). Yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda VEGF ve E-Cadherin ekspresyon yüzdeleri karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ( $p > 0,05$ ) (Tablo II).



**Resim 1:** Boyanma dereceleri: I-VEGF (sitoplazmik) kuvvetli [A] ve orta [B], II-E – Cadherin (membranöz) orta [A] ve kuvvetli [B], III-Bim (nükleer) %10-25(++) [A] ve %25'in üstünde (+++) boyanma [B].

**Tablo II.** Hastaların radikal prostatektomi Gleason skoruna göre dağılımları.

	Gleason $< 7$	Gleason $\geq 7$	t	p
Yaş (yıl)	63,02±5,89	64,63±6,46	-0,98	0,332
Preoperatif PSA (ng/ml)	10,37±8,42	25,86±17,69	-3,66	<b>0,001</b>
TRUS-biyopsi Gleason skoru	5,68±0,75	6,11±1,05	-1,84	0,07
Tümör çapı (cm)	1,46±0,89	1,85±0,81	-1,67	0,1
İzlem süresi (ay)	40,89±12,26	39,21±15,62	0,47	0,643
VEGF en şiddetlinin %si	44,79±26,88	58,95±34,46	-1,78	0,079
E-cadherin en şiddetlinin %si	47,98±30,67	38,16±29,78	1,19	0,239
E-cadherin en yaygın şiddetin %si	72,02±12,58	69,47±13,93	0,72	0,473





PSA rekürrensi gözlenen hasta sayısı 19 (%29) iken rekürrens saptanmayan hasta sayısı 47 (%71) idi. Rekürrens durumuna göre hastaların verileri karşılaştırıldığında, tümör çapı, histopatolojik Gleason skoru ve preoperative PSA arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0.05$ ). Yapılan immünohistokimyasal boyama sonucunda VEGF en şiddetli ekspresyonunun PSA rekürrensi olanlarda %59,74 ve rekürrens saptanmayanlarda %44,47 olduğu gözlemlendi ( $p=0,058$ ). E-Cadherin en şiddetli düzeyde ekspresyonu rekürrens olanlarda %45,21 ve rekürrens olmayanlarda %45,27 ( $p=0,98$ ) iken, E-Cadherin en yaygın şiddetinde ekspresyonunun rekürrens olanlarda %72,2 ve rekürrens olmayanlarda %68,9 olduğu izlendi. Tüm veriler karşılaştırıldığında, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ( $p=0,354$ ) (Tablo IV).

PSA rekürrensi gözlenen ile rekürrens gözlenmeyen olguların operasyon öncesi verilerinin, patoloji örneklerinin ve izlem sonuçlarının kendi aralarında karşılaştırılması Tablo V'te gösterilmiştir. Klinik evre, PİN, sağkalım ve hastalığa bağlı mortalite dışında tüm veriler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0.05$ )

Patoloji örneklerinin biyobelirteçlerle boyanma şiddetleri Gleason skoru ve PSA rekürrensine göre değerlendirildi. Gleason skoru  $<7$  ve  $\geq 7$  olarak ayrılan her iki grupta sırası ile VEGF kuvvetli immünoaktivite gösterme oranlarının %27,7 ve %47,4 ( $p=0,196$ ), VEGF kuvvetli yaygınlık immünoaktivite gösterme oranlarının %21,3

ve %42,1 ( $p=0,29$ ), E-Cadherin kuvvetli immünoaktivite gösterme oranlarının %91,5 ve %78,9 ( $p=0,157$ ), E-Cadherin kuvvetli yaygınlık immünoaktivite gösterme oranlarının %46,8 ve %26,3 olduğu gözlemlendi ( $p=0,303$ ). Ayrıca Gleason 7'nin altında olanlarda Bim kuvvetli immünoaktivite gösterme oranı %12,8 iken Gleason 7 ve üzerinde olanlarda bu oran %21,1 idi ( $p=0,657$ ). Tüm biyobelirteçler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo VI).

PSA rekürrensi gözlenen olgularda immünohistokimyasal boyamalar yapıldıktan sonra sırası ile VEGF kuvvetli immünoaktivite gösterme oranı %52,6 ( $p=0,161$ ), VEGF kuvvetli yaygınlık immünoaktivite gösterme oranı %47,4 ( $p=0,099$ ), E-Cadherin kuvvetli immünoaktivite gösterme oranı %78,9 ( $p=0,157$ ), E-Cadherin kuvvetli yaygınlık immünoaktivite gösterme oranı %36,8 ( $p=0,896$ ) ve Bim kuvvetli immünoaktivite gösterme oranı %31,6 idi ( $p=0,895$ ). Hiçbir biyobelirteçin kuvvetli immünoaktivite gösterme oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo VII).

Gleason skoru ve rekürrens gelişimi açısından biyobelirteçlerde istatistiksel anlam görülmemesine karşın immünohistokimyasal çalışmalarından elde edilen verilerin birbirleri ile ilişkilerini belirlemede Spearman korelasyon testi kullanıldığında E-Cadherin ve VEGF arasında istatistiksel anlamda korelasyon saptandı ( $p=0,05$ ) (Tablo VIII ve IX).

**Tablo III.** Histopatolojik Gleason skoruna göre prognostik faktörlerin karşılaştırması.

		Gleason <7		Gleason ≥7		
	<4	6	%12,8	0	%0,0	
Preoperatif PSA (ng/ml)	4,1-10	23	%48,9	2	%10,5	$\chi^2:15,2$ <b>p=0,002</b>
	10,1-20	13	%27,7	10	%52,6	
	>20	5	%10,6	7	%36,8	
TRUS-biyopsi	<7	43	%91,5	11	%57,9	$\chi^2:10,2$ <b>p=0,001</b>
	≥7	4	%8,5	8	%42,1	
Klinik evre	T1	25	%53,2	4	%21,1	$\chi^2:5,67$ <b>p=0,017</b>
	T2	22	%46,8	15	%78,9	
Patolojik evre	T2	43	%91,5	8	%42,1	$\chi^2:19,5$ <b>p=0,0001</b>
	T3	4	%8,5	9	%47,4	
	T4		%0,0	2	%10,5	
Kapsüler invazyon	Yok	35	%74,5	7	%36,8	$\chi^2:8,27$ <b>p=0,004</b>
	Var	12	%25,5	12	%63,2	
Cerrahi sınır tutulumu	Yok	35	%74,5	7	%36,8	$\chi^2:8,27$ <b>p=0,004</b>
	Var	12	%25,5	12	%63,2	
Ekstraprostatik yayılım	Yok	44	%93,6	11	%55,6	$\chi^2:13,4$ <b>p=0,0001</b>
	Var	3	%6,4	8	%44,4	
Seminal vezikül invazyonu	Yok	45	%95,7	12	%63,2	$\chi^2:12,2$ <b>p=0,0001</b>
	Var	2	%4,3	7	%36,8	
Perinöral invazyon	Yok	19	%40,4	1	%5,3	$\chi^2:7,92$ <b>p=0,005</b>
	Var	28	%59,6	18	%94,7	
Vasküler invazyonu	Yok	46	%97,9	15	%78,9	$\chi^2:6,92$ <b>p=0,009</b>
	Var	1	%2,1	4	%21,1	
PİN	Yok	28	%59,6	14	%73,7	$\chi^2:1,16$ <b>p=0,281</b>
	Var	19	%40,4	5	%26,3	
Lenf nodu metastazı	Yok	46	%97,9	15	%78,9	$\chi^2:6,92$ <b>p=0,009</b>
	Var	1	%2,1	4	%21,1	
Klinik progresyon	Yok	47	%100,0	17	%89,5	$\chi^2:5,1$ <b>p=0,024</b>
	Var	0	%0,0	2	%10,5	
Yaşam	Eksitus	2	%4,3	4	%21,1	$\chi^2:4,61$ <b>p=0,032</b>
	Hayatta	45	%95,7	15	%78,9	
Ölüm nedeni	Prostat kanseri	0	%0,0	2	%10,5	$\chi^2:5,47$ <b>p=0,019</b>
	Diğer	2	%4,3	2	%10,6	
PSA rekürrensi	Yok	42	%89,4	5	%26,3	$\chi^2:26,2$ <b>p=0,0001</b>
	Var	5	%10,6	14	%73,7	

**Tablo IV.** Hastaların PSA rekürrensi durumuna göre dağılımları.

	Nüks (-)	Nüks (+)	t	p
Yaş (yıl)	63,13±5,98	64,37±6,32	-0,75	0,455
Preoperatif PSA (ng/ml)	10,29±8,32	26,05±17,62	-3,74	<b>0,001</b>
TRUS-biyopsi Gleason skoru	5,7±0,75	6,05±1,08	-1,51	0,136
Histopatolojik Gleason skoru	5,89±0,56	7,42±1,35	-4,78	<b>0,0001</b>
Tümör çapı (cm)	1,41±0,84	1,96±0,86	-2,41	<b>0,019</b>
İzlem süresi (ay)	41,43±13,18	37,89±13,29	0,98	0,329
VEGF en şiddetlinin %si	44,47±28,54	59,74±30,48	-1,93	0,058
E-cadherin en şiddetlinin %si	45,21±31,79	45±27,94	0,03	0,98
E-cadherin en yaygın şiddetin %si	72,23±12,46	68,95±14,1	0,93	0,354

**Tablo V.** PSA rekürrensi olup olmamasına göre diğer prognostik faktörlerin karşılaştırması.

		Rekürrens (-) %		Rekürrens (+) %		
	<4	6	12,8		0,0	
Preoperatif PSA (ng/ml)	4,1-10	24	51,1	1	5,3	$\chi^2:19$ <b>p=0,0001</b>
	10,1-20	12	25,5	11	57,9	
	>20	5	10,6	7	36,8	
TRUS-biyopsi skoru	<7	42	89,4	12	63,2	$\chi^2:6,24$
	$\geq 7$	5	10,6	7	36,8	<b>p=0,012</b>
Klinik evre	T1	24	51,1	5	26,3	$\chi^2:3,36$
	T2	23	48,9	14	73,7	<b>p=0,067</b>
	T2	43	91,5	8	42,1	
Patolojik evre	T3	4	8,5	9	47,4	$\chi^2:19,5$
	T4		0,0	2	10,5	<b>p=0,0001</b>
	<7	42	89,4	5	26,3	
Patolojik Gleason skoru	$\geq 7$	5	10,6	14	73,7	$\chi^2:26,23$ <b>p=0,0001</b>
	Yok	34	72,3	8	42,1	$\chi^2:5,34$
Kapsül invazyonu	Var	13	27,7	11	57,9	<b>p=0,021</b>
	Yok	34	72,3	8	42,1	$\chi^2:5,34$
Cerrahi sınır tutulumu	Var	13	27,7	11	57,9	<b>p=0,021</b>
	Yok	44	93,6	10	55,6	$\chi^2:13,4$
Ekstra prostatik yayılım	Var	3	6,4	8	44,4	<b>p=0,0001</b>
	Yok	46	97,9	11	57,9	$\chi^2:18,3$
Seminal vezikül invazyonu	Var	1	2,1	8	42,1	<b>p=0,0001</b>
	Yok	18	38,3	2	10,5	$\chi^2:4,94$
Perinöral invazyon	Var	29	61,7	17	89,5	<b>p=0,026</b>
	Yok	46	97,9	15	78,9	$\chi^2:6,92$
Vasküler invazyon	Var	1	2,1	4	21,1	<b>p=0,009</b>
	Yok	27	57,4	15	78,9	$\chi^2:2,7$
PİN	Var	20	42,6	4	21,1	<b>p=0,1</b>
	Yok	47	100,0	14	73,7	$\chi^2:13,3$
Lenf nodu metastazı	Var		0,0	5	26,3	<b>p=0,0001</b>
	Yok	47	100,0	17	89,5	$\chi^2:5,1$
Klinik progresyon	Var		0,0	2	10,5	<b>p=0,024</b>
	Eksitus	3	6,4	3	15,8	$\chi^2:1,44$
Yaşam	Hayatta	44	93,6	16	84,2	<b>p=0,229</b>
	Prostat kanseri	0	0,0	2	10,5	$\chi^2:6,32$
Ölüm nedeni	Diğer	3	6,4	1	5,3	<b>p=0,097</b>



**Tablo VI.** Hastaların Gleason skoruna göre biyobelirteçlerin dağılımları.

Biyobelirteç	Şiddet	Gleason <7		Gleason ≥7		
		n	%	n	%	
VEGF şiddet	(-)	5	10,6	2	10,5	$\chi^2:4,68$ p=0,196
	(+)	9	19,1	5	26,3	
	(++)	20	42,6	3	15,8	
	(+++)	13	27,7	9	47,4	
VEGF yaygınlık	(-)	5	10,6	2	10,5	$\chi^2:3,74$ p=0,29
	(+)	8	17,0	1	5,3	
	(++)	24	51,1	8	42,1	
	(+++)	10	21,3	8	42,1	
E-Cadherin en şiddetli	(++)	4	8,5	4	21,1	$\chi^2:1,99$ p=0,157
	(+++)	43	91,5	15	78,9	
E-Cadherin en yaygın şiddet	(+)	6	12,8	3	15,8	$\chi^2:2,38$ p=0,303
	(++)	19	40,4	11	57,9	
	(+++)	22	46,8	5	26,3	
	(-)	21	44,7	9	47,4	
Bim	(+)	18	38,3	6	31,6	$\chi^2:1,61$ p=0,657
	(++)	2	4,3	0	0,0	
	(+++)	6	12,8	4	21,1	

**Tablo VII.** Hastalarda PSA rekürrensi saptanmasına göre biyobelirteçlerin dağılımları.

Biyobelirteç	Şiddet	Rekürrens (-)		Rekürrens (+)		
		n	%	n	%	
VEGF Şiddet	(-)	6	12,8	1	5,3	$\chi^2:5,15$ p=0,161
	(+)	10	21,3	4	21,1	
	(++)	19	40,4	4	21,1	
	(+++)	12	25,5	10	52,6	
VEGF yaygınlık	(-)	6	12,8	1	5,3	$\chi^2:6,26$ p=0,099
	(+)	8	17,0	1	5,3	
	(++)	24	51,1	8	42,1	
	(+++)	9	19,1	9	47,4	
E-Cadherin en şiddetli	(++)	4	8,5	4	21,1	$\chi^2:1,99$ p=0,157
	(+++)	43	91,5	15	78,9	
E-Cadherin en yaygın şiddet	(+)	6	12,8	3	15,8	$\chi^2:0,22$ p=0,896
	(++)	21	44,7	9	47,4	
	(+++)	20	42,6	7	36,8	
	(-)	22	46,8	8	42,1	
Bim	(+)	19	40,4	5	26,3	$\chi^2:6,36$ p=0,095
	(++)	2	4,3	0	0,0	
	(+++)	4	8,5	6	31,6	

**Tablo VIII.** E-Cadherin ve VEGF' nin Spearman korelasyon testi ile karşılaştırılması

		VEGF şiddet	VEGF yaygınlık
<b>Gleason skoru</b>	r	0,128	0,176
	p	0,307	0,156
<b>E-Cadherin en şiddetli</b>	r	<b>0,243</b>	0,093
	p	<b>0,05</b>	0,457
<b>E-Cadherin en yaygın şiddetli</b>	r	0,161	0,099
	p	0,196	0,429
<b>Bim</b>	r	0,185	0,137
	p	0,136	0,273

**Tablo IX.** E-Cadherin ve VEGF' nin Spearman korelasyon testi ile karşılaştırılması

		E-Cadherin en şiddetli	E-Cadherin en yaygın şiddetli	Bim
<b>Gleason skoru</b>	r	-0,04	-0,067	0,037
	p	0,749	0,591	0,769
<b>VEGF Şiddet</b>	r	<b>0,243</b>	0,161	0,185
	p	<b>0,05</b>	0,196	0,136
<b>VEGF yaygınlık</b>	r	0,093	0,099	0,137
	p	0,457	0,429	0,273

## TARTIŞMA

Prostat kanserinin biyolojik heterojenitesi, her hastaya özgü bir karar almayı gerektirmektedir. Prognoz hakkında bilgi sahibi olmak, prostat kanseri tedavi alternatifleri arasında seçim yapmak ve daha sonraki dönemdeki riskleri belirlemek açısından önemlidir. Prognostik parametreler ve bunlar üzerinden oluşturulan birçok nomogram yardımıyla patolojik evrenin ve izlemde olası senaryoların önceden belirlenmesi amaçlanmıştır<sup>3-5</sup>. Buna rağmen, literatürde organa sınırlı prostat kanseri tanısı ile radikal prostatektomi uygulanan hastaların %30-45'inde, bizim çalışmamızda % 17'sinde patolojik olarak ekstraprostatik yayılım gözlenmiştir<sup>14</sup>. Bu nedenle, kısa sürede progresyon gösterecek yüksek riskli hasta gruplarının önceden belirlenmesi amacıyla birçok yeni patolojik faktörün prognostik önemi araştırılmaktadır. Ancak bu faktörlerden hiçbirisi henüz Gleason skorunun ötesinde prognostik bilgi verememektedir<sup>3-6</sup>.

Yapılan çalışmalarda, bu prognostik faktörlere ilave olarak insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), androjen reseptör durumu, mikrodamar dansitesi, Ki-67 indeksi ve p53 geni mutasyonu gibi tümöre ait histopatolojik biyobelirteçlerin de hastalık progresyonun önceden belirlenmesinde faydalı olabileceği belirtilmektedir<sup>6</sup>.

Prostat kanseri progresyonu, anjiyogenez sayesinde yeterli vaskülarizasyon ve bölgesel lenf nodu, kemik metastazları ile ilişkilidir. Tümör hücreleri anjiyojenik faktörleri salgılayarak neovaskularizasyonu uyarır. Bu faktörler olmadan tümör hücreleri besin maddeleri ve oksijeni yeterli düzeyde alamayacağı için 2-3 mm'den fazla büyüyemeyecektir. Anjiyojenik faktörlerden biri olan VEGF'in hipoksi ile indüklenerek sentezinin artması neovaskularizasyona giden yolda çok önemli bir adımdır<sup>15</sup>. Artmış VEGF ekspresyonu progresyon ile yakından ilişkilidir. VEGF anjiyogenezi stimüle eder ve mikrodamar yoğunluğunu artırır; böylece



tümör dokusunun büyümesi kolaylaşır<sup>16</sup>. VEGF prostat kanseri progresyonunu, nöro-endokrin farklılaşmış prostat kanser hücrelerinden salıverilerek anjiyogenezi uyarması ve mikrodamar yoğunluğunu arttırmasının yanı sıra doğrudan prostat kanser hücrelerinde büyümeyi uyardığı düşünülmektedir<sup>6,16</sup>. Tüm bu verilere rağmen güncel literatürde prostat kanseri ile VEGF ekspresyonu arasındaki ilişki tartışmalıdır. Daha önceki çalışmalarda, prostat kanser epitelyumunda normal ve benign prostat dokusuna göre VEGF ekspresyonunun daha yüksek olduğu gösterilmiştir<sup>15,16</sup>. Bu bulguların aksine, Wu ve ark. çalışmalarında malign ve benign prostatik epitelyum arasında VEGF immünreaktivitesi açısından fark saptamamışlardır<sup>17</sup>. Joseph ve Isaacs, androjen tarafından kontrol edilen VEGF'in prostat kanseri büyümesinde etkili olduğunu bildirirken, West ve ark. tümör epitelindeki artmış VEGF immünreaktivitesinin daha yüksek serum PSA seviyesi ile anlamlı oranda ilişkisinin olduğunu göstermişlerdir<sup>18,19</sup>.

Birçok hayvan çalışmasında VEGF aşırı ekspresyonu ile lenfanjiyogenez ve lenf metastazı arasındaki ilişki tespit edilmiştir. VEGF lenf damarlarında hiperplazi ve yeni lenf damarı oluşumundan sorumlu tutulmuştur<sup>20,21</sup>. Ancak, prostat kanseri için bu bulgular da tartışmalıdır. Tsurusaki ve ark. VEGF ve lenf nodu metastazı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirirken, Zeng ve ark. tam tersine anlamlı bir ilişki saptamamışlardır<sup>22,23</sup>. Yine, VEGF ekspresyonu ve yüksek Gleason skoruna sahip tümörler arasındaki ilişki bazı çalışmalarda bildirilmiş, bazılarında bildirilmemiştir<sup>17-23</sup>. Ferer ve arkadaşları iyi diferansiye tümörlerde daha yoğun VEGF boyanmasını göstermişlerdir<sup>24</sup>. Bizim çalışmamızda bu belirsizliği destekler şekilde; Gleason skoru ve rekürrens verilerine göre gruplandırıldıktan sonra kendi aralarında immünohistokimyasal boyanma özelliklerine göre karşılaştırıldıklarında VEGF ile boyanma oranları Gleason skoru yüksek ve rekürrens gözlenen grupta daha fazla bulunmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

E-Cadherin epitelyal hücrelerdeki önemli adezyon molekülüdür. E-Cadherin bağımlı adezyonun kaybı, birçok kanser için kötü progresyon belirtisidir. E-Cadherin ekspresyonundaki azalmanın uzak metastaz, rekürrens ve azalmış toplam sağkalım ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar vardır<sup>25,26</sup>.

Çok yeni bir çalışmada; klinik önemli prostat kanserinde E-Cadherin anormal şekilde boyanmış iken klinik önemsiz prostat kanserinde E-Cadherin boyanmasının normal olduğunu göstermişlerdir<sup>26</sup>. İmmünohistokimyasal E-Cadherin seviyesi üzerine yapılan bir çalışmada malign prostat dokusunda %50 oranında azalma ve hatta bazı örneklerde E-Cadherin'in tamamen ortadan kalktığı, benign prostat dokusunun ise homojen kuvvetli pozitif boyandığını belirlemişlerdir<sup>27</sup>. Yine 89 prostat kanseri olgusunda düşük E-Cadherin immünohistokimyasal ekspresyonu saptananlarda yüksek ekspresyon saptananlara oranla daha kısa sağkalım süresi gözlenmiştir<sup>27,28</sup>. Van Oort ve ark. prostat kanserinde E-Cadherin ekspresyonu ile progresyon ve sağkalım arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Altmış beş radikal prostatektomi olgusunun histopatoloji örneği incelendiğinde; 36 olguda (%55,4) normal E-Cadherin boyanması izlenirken E-Cadherin ile normal boyananlarda 5 yıllık sağkalımın %79,2, boyanmayanlarda ise bu oranın %26,8 olduğu saptadılar ( $p<0.05$ )<sup>29</sup>. Musial ve ark. E-Cadherin anormal boyanmasının sağkalım süresi üzerinde negatif etkisi olan bağımsız bir prediktör faktör olduğunu bulmuşlardır<sup>30</sup>. De Marzo ve ark. azalmış E-Cadherin seviyesinin RP sonrası Gleason skoru yüksekliği ( $p=0.003$ ) ve patolojik evre ( $p=0.008$ ) ile ilişkili olduğunu, ve E-Cadherin'in progresyonu belirleyen bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini bildirdiler<sup>31</sup>. Aynı zamanda E-Cadherin'in metastazla ilişkisi de çalışmalarda bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada Junior ve ark. 28 kemik metastazlı hastada prostat kanseri ve kemik örneklerini histopatolojik olarak incelediklerinde kemik metastazı olan örneklerde E-Cadherin ekspresyonundaki



kaybın %86 olduğunu, primer prostat kanserinde ise %83 oranında E-Cadherin ekspresyonunun normal olduğunu gösterdiler<sup>32</sup>. Bizim çalışmamızda E-Cadherin ile anormal boyanma oranları Gleason skoru yüksek ve rekürrens saptanan grupta daha fazla bulunmasına rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Birçok tümörde anti-apoptotik proteinler, yüksek düzeyde pro-apoptotik moleküllerle beraber bulunur. İlk bakışta çelişkili görünen bu durum 30'dan fazla proteini içeren ve bir kısmı apoptozisi indükleyen bir kısmı da baskılayan Bcl-2 ailesi ile açıklanabilir. Bcl-2 ailesinden biri olan Bim'in apoptozisi uyarıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Tümör baskılayıcı bir protein olan p53 ile antiapoptotik etkili Bcl-2 kompleks oluşturur. Böylece proapoptotik etkisi olan Bim antiapoptotik proteinden ayrılır ve aktivasyon gerçekleşir<sup>33</sup>.

Howard ve ark. E-Cadherin'in azalmış ve Bcl-2'nin aşırı ekspresyonunun dolaşımdaki tümör hücreleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir<sup>34</sup>. Hipoksi ile indüklenen strese Bcl-2 aşırı ekspresyonu ve anjiogenezin uyarılması, tümör hücrelerinin apoptozisten kaçarak yaşam sürelerini uzatır. Yapılan invivo bir çalışmada hipoksi koşulları oluşturulduktan sonra Bcl-2 aşırı ekspresyonu olan prostat kanser hücrelerinde daha yüksek oranda VEGF olduğunu göstermişlerdir<sup>35</sup>. Sinha ve ark. hormonal tedavi alan lokal ileri veya metastatik prostat kanserli hastalarda Bcl-2 aşırı ekspresyonunun sağkalım ile ters ilişkili olduğunu göstermişlerdir<sup>36</sup>. Diğer bir çalışmada da Bcl-2 ve mikrodamar yoğunluğunun prostat kanserli hastalardaki ölümü gösteren bağımsız prediktör faktörler olduğu bulunmuştur<sup>37</sup>. Bcl-2 aşırı ekspresyonunun erken evre tümörlerde de görülebilmeye karşın ileri evre prostat kanserlerinde ekspresyon artışına çok daha sık saptanır<sup>38</sup>. Ayrıca McDonnell ve ark. androjen bağımsız olan prostat kanserinde yaygın ve yüksek oranda Bcl-2 boyanması gösterilmiştir. Bcl-2 ekspresyonunun prostat kanserinin androjen bağımlı halden androjen bağımsız duruma geçişi ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir<sup>39</sup>. Androjen ablasyonu tedavisi

sırasında kanser hücrelerinin androjensiz ortamda kalmaları yoğun Bcl-2 ekspresyonuyla hücreleri apoptozisten korumakta ve androjen duyarlı hücreler hormona dirençli hale gelmektedir<sup>40</sup>.

Bim'in prostat kanserindeki prognostik değerini araştıran çalışma sayısı sınırlıdır<sup>33</sup>. Bim'in klinik önemi tedavide hedef olarak kullanılabilmesindedir. Yapılan bir çalışmada invivo ortamda 1,3-thiazolidione (DBPT) maddesinin Bim fosforilasyonu yaparak Bcl-2 ekspresyonu fazla olan hücrelerde de apoptozisi, indüklediği ve VEGF ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir<sup>41</sup>. Bizim çalışmamızda yine Bim seviyesinin de radikal prostatektomi sonrası prognozu belirlemede Gleason skoru ile kıyaslandığında ek bir katkı sağlamadığı görüldü.

Çalışmamızda boyanma özellikleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olmamasına rağmen biyobelirteçler arasında spearman korelasyon testi ile karşılaştırma yapıldığında bazı alanlarda kendi aralarında anlamlı ilişki saptandı. E-Cadherin en şiddetli boyanması ile VEGF şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu.

Son yıllarda bizim çalışmamızda da olduğu gibi prostat kanserinin anjiyogenez, proliferasyon ve genetik özelliklerinin beraber değerlendirildiği çalışmalar planlanarak pratik uygulamada kullanılabilecek veriler elde edilmek istenmektedir. Ancak bu çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmektedir. Çalışmamızın sonucunda VEGF ve E-Cadherin'in biri birleri ile ilişkili olmalarına rağmen Gleason skoru ve PSA rekürrensi ile ilişkisi bulunamamıştır. Böylece, VEGF, E-Cadherin ve Bim biyobelirteçlerinin radikal prostatektomi sonrası progresyonu belirlemede ek bir katkı sağlamadığını düşünmekteyiz. Bu nedenle patolojik evre ve Gleason skoru gibi histopatolojik parametreler bugün için en iyi prognostik belirteçlerdir.

İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesinde bilgisayar programı ile yapılan imaj analiz yöntemi günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde



immünohistokimyasal reaksiyon sonucu oluşan boyamanın derecesi objektif olarak bilgisayar programı ile değerlendirilmektedir<sup>42</sup>. İmaj analiz bilgisayar programının pahalı olması ve hastanemizde olmamasından dolayı imaj analiz yöntemi çalışmamızda kullanılmadı.

Gleason skoru halen en önemli prognostik faktör olmasına rağmen, klinik lokalize prostat kanseri tanısı ile radikal prostatektomi operasyonu olan hastaların yaklaşık üçte birinde gözlenen rekürrensi, önceden belirlememize yetmemektedir. Bu nedenle hastanın prognozunu önceden ortaya koyacak yeni biyobelirteçlere ihtiyaç vardır. Radikal prostatektomi patoloji örneklerinin Gleason skorları literatürdeki verilerle uyumlu olarak daha agresif tümörlerle ve daha kötü progresyon ile uyumlu idi. Preoperatif ve postoperatif veriler de incelendiğinde nüks gözlenen hastalarda daha olumsuz veriler saptandı. Biyobelirteçlerin (VEGF, E-Cadherin ve Bim) immünohistokimyasal çalışmalarla elde edilen verileri değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel anlamda fark olmamasına karşın özellikle VEGF'de anlamlılığa yakın derecede fark gözlemlendi. Bu durum olgu sayısının az olması ile açıklanabilir. Daha çok sayıda olgu ile immünohistokimyasal boyanın 'İmaj Analiz' yöntemi ile değerlendirilmesinin biyobelirteçlerin prognostik değerini daha net ortaya koyacağı düşüncesindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Bray F, Sankila R, Ferlay J, Parkin DM. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. *Eur J Cancer* 2002; 38: 99-166.
2. Terakawa T, Miyake H, Kanomata N, et al. Inverse association between histologic inflammation in needle biopsy specimens and prostate cancer in men with serum PSA of 10-50 ng/mL. *Urology* 2008; 72: 1194-1197.
3. Acar C, Sözen S, Erdem Ö, ve ark. Prostat kanserinde mikrodamar yoğunluğu, Kİ-67 ve p53 ekspresyonu ile klinikopatolojik ölçütler ve hasta prognozu arasındaki ilişki. *Türk Üroloji Dergisi* 2006; 32: 478-485.
4. Partin AW, Kattan MW, Subong EN, et al. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *JAMA* 1997; 277: 1445-1451.
5. Him HH, Cho SY, Park DS, et al. Prognostic factors of biochemical recurrence after radical prostatectomy in

- Korean men with high-risk prostate cancer. *EJSO*, article in press.
6. Eskiçorapçı SY. Prostat kanseri doğal seyri, prognostik faktörler ve nomogramlar. In:Özen H, Türkeri L, eds. *Üroonkoloji Kitabı. Üroonkoloji Derneği; Ankara, Ertem Basım Yayın, 2007. 593-603.*
7. Klagsbrun M, D'Amore PA. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 1996; 7: 259-270.
8. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995; 146: 1029-1039.
9. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4-25.
10. Shibue T, Taniguchi T. BH3-only proteins: integrated control points of apoptosis. *Int J Cancer* 2006; 119: 2036-2043.
11. Yee KS, Vousden KH. Complicating the complexity of p53. *Carcinogenesis* 2005; 26: 1317-1322.
12. Chipuk JE, Bouchier-Hayes L, Kuwana T, et al. PUMA couples the nuclear and cytoplasmic proapoptotic function of p53. *Science* 2005; 309: 1732-1735.
13. Mungan MU, Gurel D, Canda AE, ve ark. Expression of COX-2 in normal and pyelonephritic kidney, renal intraepithelial neoplasia, and renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2006; 50: 92-97.
14. Noldus J, Graefen M, Haese A, et al. Stage migration in clinically localized prostate cancer. *Eur Urol* 2000; 38: 74-78.
15. Nicholson B, Theoderescu D. Angiogenesis and prostate cancer tumor growth, *J Cell Biochem* 2004; 91: 125-150.
16. Claffey KP, Brown LF, Del Aguila LF, et al. Expression of vascular endothelial growth factor by melanoma cells increases tumor growth angiogenesis and experimental metastasis. *Cancer Res* 1996; 56: 172-177.
17. Wu TT, Wang JS, Jiann BP, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in Taiwanese benign and malignant prostate tissues. *J Chin Med Assoc* 2007; 70: 380-384.
18. Joseph IB, Isaacs JT. Potentiation of the antiangiogenic ability of linomide by androgen ablation involves down-regulation of vascular endothelial growth factor in human androgen-responsive prostatic cancers. *Cancer Res* 1997; 57: 1054-1057.
19. West AF, O'Donnell M, Charlton RG, et al. Correlation of vascular endothelial growth factor expression with fibroblast growth factor-8 expression and clinicopathologic parameters in human prostate cancer. *Br J Cancer* 2001; 85: 576-583.
20. Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, et al. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science* 1997; 276: 1423-1425.
21. Oh SJ, Jeltsch MM, Birkenhäger R, et al. VEGF and VEGF-C: specific induction of angiogenesis and lymphangiogenesis in the differentiated avian chorioallantoic membrane. *Dev Biol* 1997; 188: 96-109.
22. Tsurusaki T, Kanda S, Sakai H, et al. Vascular endothelial growth factor-C expression in human prostatic carcinoma and its relationship to lymph node metastasis. *Br J Cancer* 1999; 80: 309-313.
23. Zeng Y, Opeskin K, Baldwin ME, et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptor-3 by lymphatic endothelial cells is associated with lymph node metastasis in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5137-5144.





24. Ferrer FA, Miller LJ, Andrawis RI, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human prostate cancer: in situ and in vitro expression of VEGF by human prostate cancer cells. *J Urol* 1997; 157: 2329-2333.
25. Otto T, Birchmeier W, Schmidt U, et al. Inverse relation of E-Cadherin and autocrine motility factor receptor expression as a prognostic factor in patient with bladder carcinomas. *Cancer Res* 1994; 54: 3120-3123.
26. van Gils MP, Hessels D, Hulsbergen-van de Kaa CA, et al. Detailed analysis of histopathological parameters in radical prostatectomy specimens and PCA3 urine test results. *Prostate* 2008; 68(11): 1215-1222.
27. Buhmeida A, Pyrhönen S, Laato M, Collan Y. Prognostic factors in prostate cancer. *Diagn Pathol* 2006; 1: 1-15.
28. Umbas R, Isaacs WB, Bringuier PP, et al. Decreased E-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 3929-3933.
29. van Oort IM, Tomita K, van Bokhoven A, et al. The prognostic value of E-cadherin and the cadherin-associated molecules alpha-, beta-, gamma-catenin and p120ctn in prostate cancer specific survival: a long-term follow-up study. *Prostate* 2007; 67: 1432-1438.
30. Musiał J, Sporny S, Nowicki A. Prognostic significance of E-cadherin and ezrin immunohistochemical expression in prostate cancer. *Pol J Pathol* 2007; 58: 235-243.
31. De Marzo AM, Knudsen B, Chan-Tack K, Epstein JI. E-cadherin expression as a marker of tumor aggressiveness in routinely processed radical prostatectomy specimens. *Urology* 1999; 53: 707-713.
32. Junior JP, Srougi M, Borra PM, et al. E-cadherin and beta-catenin Loss of Expression Related to Bone Metastasis in Prostate Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008 Aug 5. [Epub ahead of print]
33. Liu JW, Chandra D, Tang SH, et al. Identification and characterization of Bimgamma, a novel proapoptotic BH3-only splice variant of Bim. *Cancer Res* 2002; 62: 2976-2981.
34. Howard EW, Leung SC, Yuen HF, et al. Decreased adhesiveness, resistance to anoikis and suppression of GRP94 are integral to the survival of circulating tumor cells in prostate cancer. *Clin Exp Metastasis* 2008; 25: 497-508.
35. Fernandez A, Udagawa T, Schwesinger C, et al. Angiogenic potential of prostate carcinoma cells overexpressing bcl-2. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 208-213.
36. Sinha BK, Yamazaki H, Eliot HM, et al. Relationships between proto-oncogene expression and apoptosis induced by anticancer drugs in human prostate tumor cells. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1270: 12-18.
37. Concato J, Jain D, Li WW, et al. Molecular markers and mortality in prostate cancer. *BJU Int* 2007; 100: 1259-1263.
38. Çal Ç, Şimşir A. Prostat kanseri hücrelerinde androjen baskılama tedavisinde direnç gelişiminin mekanizmaları. *Türk Üroloji Dergisi* 2005; 31: 21-30.
39. McDonnell TJ, Troncso P, Brisbay SM, et al. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 6940-6944.
40. Colombel M, Olsson CA, Ng PY, Buttyan R. Hormone-regulated apoptosis results from reentry of differentiated prostate cells onto a defective cell cycle. *Cancer Res* 1992; 52: 4313-4319.
41. Teraishi F, Wu S, Inoue S, et al. Antitumor activity and downregulation of pro-angiogenic molecules in human prostate cancer cells by a novel thiazolidione compound. *Prostate* 2006; 66: 430-438.
42. Kuniyasu H, Troncso P, Johnston D, et al. Relative expression of Type IV collagenase, E-cadherin, and vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in prostatectomy specimens distinguishes organ-confined from pathologically advanced prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2295-2308.