



**SAKARYA**  
ÜNİVERSİTESİ

**T.C.**  
**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE *TARANTULA CUBENSIS***  
**ALKOLİK EKSTRAKTININ *İN VİTRO* TERAPÖTİK ETKİNLİĞİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. DENİZ GÜL**

**EYLÜL-2021**



T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE *TARANTULA CUBENSIS*  
ALKOLİK EKSTRAKTININ *İN VİTRO* TERAPÖTİK  
ETKİNLİĞİ

UZMANLIK TEZİ

DR. DENİZ GÜL

DANIŞMAN

DOÇ.DR. HACI İBRAHİM ÇİMEN

EYLÜL-2021

## **BEYAN**

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

31/08/2021

Deniz GÜL

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım, mesleki gelişimime çok değerli katkıları bulunan, cerrahi becerilerimin ve bilimsel bakış açımın gelişmesinde büyük emekleri olan başta anabilim dalı başkanı ve klinik eğitim sorumlumuz Prof.Dr. Hasan Salih SAĞLAM ve klinik idari sorumlumuz Prof.Dr. Ahmet GÖKÇE olmak üzere değerli hocalarım Doç.Dr. Osman KÖSE, Doç.Dr. Fikret Halis, Doç.Dr. Salih BUDAK ve Doç.Dr. Hüseyin Aydemir'e; zorlu asistanlık sürecinde hem sosyal hem de mesleki açıdan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli ağabeyim, hocam ve tez danışmanım Doç.Dr. Hacı İbrahim ÇİMEN'e; hem kıdemlim hem de uzmanım olarak birlikte çalışma fırsatı bulduğum, birlikte çalışmaktan keyif aldığım ve dostluğunu her zaman hissettiğim Op.Dr. Yavuz Tarık ATİK'e; asistanlık sürecine birlikte adım attığım, birlikte güzel günler geçirdiğimiz, zorlu günlere de birlikte göğüs gerdiğimiz yol arkadaşım, değerli dostum Dr. Anıl ERDİK'e ve bu yolda keyifli bir çalışma ortamı içinde bulunduğum tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşire, sekreter ve personeline; tez sürecimde büyük katkıları olan, özellikle laboratuvar çalışmalarındaki desteklerinden dolayı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Gamze Güney ESKİLER ve Dr. Asuman Deveci ÖZKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tüm hayatım boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bu günlere gelmemde büyük pay sahibi olan, sevgilerini her daim hissettiğim annem, babam ve ablama; arkadaşlığıyla hayatıma giren, sevgisiyle hayatımda yer edinen, güler yüzü ve sabrıyla her zaman yanımda olan sevgili eşim Uz.Dr. Sıdıka Sinem GÜL'e ve varlıklarıyla hayatımı güzelleştiren, hayatıma değer katan biricik çocuklarım, kızım Nehir ve oğlum Tuna'ya sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2020-7-25-16 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Deniz GÜL

# İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	v
ŞEKİLLER.....	vii
TABLolar .....	ix
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2 GENEL BİLGİLER .....	3
2.1 PROSTAT .....	3
2.1.1 Anatomisi .....	3
2.1.2 Embriyolojisi.....	6
2.1.3 Histolojisi .....	7
2.2 PROSTAT KANSERİ.....	8
2.2.1 Epidemiyoloji.....	8
2.2.2 Etiyoloji ve Risk Faktörleri.....	10
2.2.3 Patoloji .....	14
2.2.4 Tarama ve Erken Tanı.....	17
2.2.5 Klinik Tanı .....	20
2.2.6 Klinik Evreleme ve Sınıflama.....	29
2.2.7 Tedavi.....	34
2.2.8 Metastatik Prostat Kanseri ve Tedavisi.....	43
2.3 APOPTOTİK HÜCRE ÖLÜMÜ.....	58
2.3.1 İçsel Apoptoz Yolu .....	60

2.3.2	Dışsal Apoptoz Yolu.....	61
2.4	TARANTULA CUBENSİS ALKOLİK EKSTRAKTI .....	63
3	GEREÇ VE YÖNTEM .....	65
3.1	HÜCRE ÖZELLİKLERİ.....	65
3.2	HÜCRE KÜLTÜRÜ .....	66
3.3	WST-1 HÜCRE CANLILIK ANALİZİ.....	66
3.4	ANNEXIN V ANALİZİ.....	67
3.5	AKRİDİN-ORANJ BOYAMASI.....	68
3.6	İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	69
4	BULGULAR.....	70
4.1	TCAE'NİN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNİN CANLILIĞI ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ.....	70
4.2	TCAE'NİN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE APOPTOTİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ.....	79
4.3	TCAE'NİN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNİN MORFOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ.....	84
5	TARTIŞMA VE SONUÇ .....	87
	ÖZET.....	94
	SUMMARY .....	96
	KAYNAKLAR .....	98

## KISALTMA VE SİMGELER

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>ADT</b>	: Androjen deprivasyon tedavisi
<b>APAF1</b>	: Apoptotik proteaz aktive edici faktör 1
<b>AR</b>	: Androjen reseptörü
<b>ASAP</b>	: Atipik küçük asiner proliferasyon (atypic small aciner proliferation)
<b>BPH</b>	: Benign prostat hiperplazisi
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı tomografi
<b>CARD</b>	: Kaspaz toplanma alanı (caspase recruitment domain)
<b>DBD</b>	: DNA bağlama alanı (DNA binding domain)
<b>DED</b>	: Ölüm aktive edici alanı (death-inducing domain)
<b>DHT</b>	: Dihidrotestosteron
<b>DISC</b>	: Ölüm aktive edici sinyal kompleksi (death-inducing signal complex)
<b>EAU</b>	: Avrupa Üroloji Derneği (European Association of Urology)
<b>FSH</b>	: Folikül uyarıcı hormon (Follicle stimulating hormone)
<b>HIFU</b>	: Yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrason (high intensity focused ultrasound)
<b>HUVEC</b>	: İnsan umbilikal ven endotel hücre hattı (Human Umbilical Vein Endothelial Cells)
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>ISUP</b>	: Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği (International Society of Urological Pathology)
<b>LBD</b>	: Ligand bağlanma alanı (ligand binding domain)
<b>LH</b>	: Lüteinleştirici hormon (luteinizing hormone)
<b>LHRH</b>	: Luteinize edici hormon salgılayıcı hormon (luteinizing hormone releasing hormone)
<b>MPT</b>	: Mitokondriyal geçirgenlik geçişi (mitochondrial permeability transition)
<b>MRG</b>	: Manyetik rezonans görüntüleme
<b>mpMRG</b>	: Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme



<b>NTD</b>	: N-terminal alanı (N-terminal domain)
<b>PARP</b>	: Poli (ADP-riboz) polimeraz
<b>PBS</b>	: Fosfat tuzlu çözelti (phosphate buffered saline)
<b>PET</b>	: Pozitron emisyon tomografi
<b>PHI</b>	: Prostat sağlık indeksi (Prostat Health Index)
<b>PIN</b>	: Prostatik intraepitelyal neoplazi
<b>PI-RADS</b>	: Prostat Görüntüleme Raporlama ve Veri Sistemi (Prostate Imaging Reporting and Data System)
<b>PRM</b>	: Parmakla rektal muayene
<b>PSA</b>	: Prostat spesifik antijen
<b>PSMA</b>	: Prostat spesifik membran antijeni
<b>RECIST</b>	: Solid tümörlerde cevap değerlendirme kriterleri (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours)
<b>TCAE</b>	: <i>Tarantula cubensis</i> alkolik ekstraktı
<b>TMPRSS2</b>	: Transmembran proteaz serin 2
<b>TNF</b>	: Tümör nekroz faktörü
<b>TNM</b>	: Tümör Nod Metastaz
<b>TRUS</b>	: Transrektal ultrason
<b>TRUS-BX</b>	: Transrektal ultrason eşliğinde prostat biyopsisi

## ŞEKİLLER

Şekil 1 Prostat arteryel dolaşımı .....	4
Şekil 2 Prostatın zonal anatomisi .....	5
Şekil 3 Erkek aksesuar seks bezlerinin gelişimi ve embriyolojik kökeni .....	6
Şekil 4 Dünya genelinde 2020 yılında yeni kanser vaka sayıları.....	8
Şekil 5 Dünya genelinde prostat kanseri insidans ve ölüm oranları .....	9
Şekil 6 Türkiye’de erkeklerde en sık görülen kanserlerin insidansları .....	10
Şekil 7 Gleason derecelendirme sistemi .....	15
Şekil 8 Prostatın endokrin fizyolojisi.....	45
Şekil 9 Androjen reseptör geni ve yolağı.....	46
Şekil 10 Prostat kanserinde kastrasyon direnci oluşumundaki olası mekanizmalar ..	52
Şekil 11 Apoptozun içsel ve dışsal yollarının ana bileşenlerinin özeti.....	62
Şekil 12 Tarantula cubensis .....	63
Şekil 13 TCAE'nin DU-145, LNCaP ve HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi.....	72
Şekil 14 Farklı dozlardaki TCAE'nin DU-145 ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması.....	74
Şekil 15 Farklı dozlardaki TCAE'nin LNCaP ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması.....	76
Şekil 16 Farklı dozlardaki TCAE'nin DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması.....	78
Şekil 17 Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 hücrelerinde neden olduğu apoptotik etki.....	80
Şekil 18 Farklı dozlarda TCAE uygulamasının LNCaP hücrelerinde neden olduğu apoptotik etki.....	81
Şekil 19 Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik etkisinin kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	82
Şekil 20 Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik etkisinin karşılaştırılması. ....	84

Şekil 21 TCAE'nin DU-145 ve LNCaP hücrelerinde neden olduğu apoptotik etkinin morfolojik olarak görüntülenmesi..... 86



## TABLolar

Tablo 1 Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği 2014 derecelendirmesi.....	17
Tablo 2 EAU prostat kanserinde tarama ve erken tanı önerileri .....	19
Tablo 3 Düşük PSA değerlerine bağlı olarak prostat kanseri riski .....	21
Tablo 4 Transrektal prostat biyopsisi (TRUS-Bx) sonrası komplikasyonlar.....	25
Tablo 5 Negatif prostat biyopsi sonucu olan hastalarda tekrar biyopsi endikasyonları .....	26
Tablo 6 PI-RADS skorlarının değerlendirme kategorileri .....	28
Tablo 7 Prostat kanserinde klinik TNM evrelemesi.....	30
Tablo 8 Lokalize ve lokal ileri prostat kanserinde biyokimyasal rekürrens için EAU risk sınıflaması .....	33
Tablo 9 EAU'nun prostat kanseri risk gruplarına göre evreleme için görüntüleme önerileri .....	34
Tablo 10 Prostat kanserinde brakiterapi uygulama kriterleri .....	38
Tablo 11 Metastatik prostat kanserinde CHARTED ve LATITUDE çalışmalarına göre hacim ve risk tanımlaması.....	43
Tablo 12 Metastatik prostat kanserinde ADT sonrası PSA düzeyine göre prognoz..	44
Tablo 13 Farklı dozlardaki TCAE'nin 24 ve 48 saatlik uygulamasının DU-145 ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması .....	73
Tablo 14 Farklı dozlardaki TCAE'nin 24 ve 48 saatlik uygulamasının LNCaP ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması .....	75
Tablo 15 Farklı dozlardaki TCAE'nin 24 ve 48 saatlik uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması.....	77
Tablo 16 Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik hücre oranlarının karşılaştırılması.....	83

# 1 GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat kanseri, tüm dünyada erkeklerde ikinci en sık görülen kanserdir (Sung et al., 2021). Prostat kanserinin %95'inden fazlasını adenokarsinomlar oluşturur ve prostat glandlarının duktal ya da asiner epitelyum hücrelerinden gelişmektedir (Reynard et al., 2013). Yaş, genetik faktörler, metabolik ve hormonal faktörler, diyet ve enfeksiyöz ilişkili faktörler prostat kanseri ile ilişkili risk faktörleri olarak görülmekle beraber başlangıcının ve ilerlemesinin altında yatan nedenler tam olarak aydınlatılamamıştır (Mottet et al., 2020). Tedavide lokalize hastalık için altın standart tedavi cerrahi olmakla birlikte, radyasyon tedavisi, kriyoterapi, fokal tedavi, yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrason tedavisi gibi seçenekler de bulunmaktadır. Metastatik hastalık, hormon duyarlı veya hormon dirençli olarak sınıflandırılabilir ve tedavisinde hormonal tedavi, kemoterapi, immünoterapi ve bu tedavi seçeneklerinin kombinasyonları uygulanmaktadır. Tüm bu tedavi seçeneklerinin istenmeyen yan etkileri olmaktadır. Bu nedenle, yan etkilerden sakınmak için, farklı tedavi arayışları araştırmacıların ilgi odağı haline gelmektedir.

Homeopatik tedavi, alternatif ve tamamlayıcı tıp uygulamaları içerisinde yer almaktadır. 'Bir madde sağlıklı insanlara verildiğinde o insanlarda hangi hastalığa benzer belirtilere yol açıyorsa, o hastalığa gerçekten yakalanmış hasta kişiler bu etken madde ile tedavi edilebilir' ilkesinden yola çıkmıştır (Pingel, 1992). Homeopatinin düşük yan etki profili, ilk olarak tanımlandığı 18.yy sonlarından günümüze popülerliğini arttırmıştır ve homeopatik tedavi ile ilgili araştırmalar her alanda artmaktadır (Merrell & Shalts, 2002). Prostat kanserinde, homeopatik tedavinin etkilerini araştıran az sayıda çalışma bildirilmiştir ve bu çalışmaların çoğunda, kullanılan farklı homeopatik maddelere karşı alınan tedavi yanıtı çelişkilidir (Jonas et al., 2006; Thangapazham et al., 2006a; Thangapazham et al., 2006b). Bunun yanında, cüce palmye bitkisi olarak bilinen '*sabal serrulata*' bitkisinden hazırlanan homeopatik ilacın prostat kanseri hücreleri üzerinde hücre

proliferasyonunu azaltma yönünde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (MacLaughlin et al., 2006).

Homeopatik ilaç olarak veteriner hekimlikte kullanılan *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı (TCAE), '*Tarantula cubensis*' örümceğinin tamamının %60'lık alkolde işleminden geçirilmesi ile elde edilmektedir. TCAE'nin antiinflamatuvar, demarkatif, nekrotizan, rezorptif etkilerinin olduğu, yara iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Stampa, 1986). Hayvanlarda oral, cilt ve meme başı papillomatozisinde klinik faydaları bildirilmiştir (Çam et al., 2007; İcen et al., 2011; Paksoy et al., 2015). Bunun yanında, TCAE'nin kanser tedavisindeki etkinliği ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Meme ve kolon kanseri üzerine yapılmış bazı *in vivo* veya *in vitro* çalışmaların olumlu sonuçları, TCAE'nin kanser tedavisindeki yeri ve önemini arttırmaktadır (Gültiken & Vural, 2007; Er et al., 2017; Ghasemi-Dizgah et al., 2017; Er et al., 2019). Ancak, literatürde TCAE'nin prostat kanseri üzerindeki etkisiyle ilgili çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, prostat kanserinde homeopatik bir ilaç olan TCAE'nin terapötik etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 PROSTAT

#### 2.1.1 Anatomisi

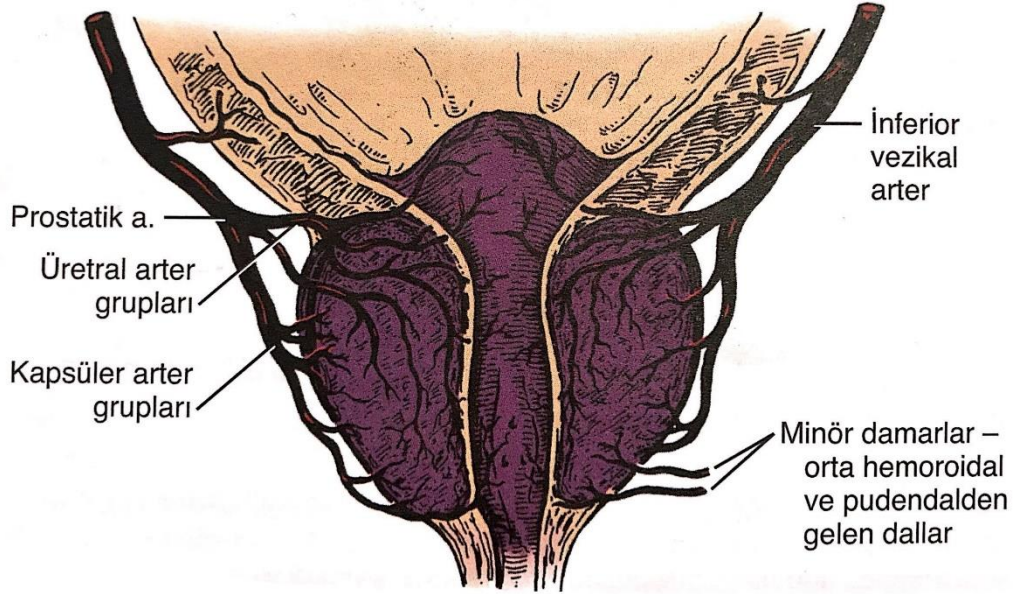
Prostat; 3 cm uzunluğunda, 4 cm genişliğinde, 2 cm kalınlığında yaklaşık 18-20 gr ağırlığında ovoid şekilli bir organdır. Anterior, posterior ve lateral yüzleri mevcuttur. Üstte mesane tabanı ile devam eden geniş bir tabanı mevcuttur, alt tarafta daralmış bir apeks ile sonlanır ve içerisinden geçen üretra bölümü prostatik üretra olarak adlandırılır. Ayrıca kollajen, elastin ve yoğun düz kas yapısından oluşan bir kapsül ile çevrilidir (Kavoussi, 2016).

Prostat, pelvik diyafram ile peritoneal kavite arasındaki subperitoneal kompartmana yerleşiktir. Simfisis pubisin posteriorunda, rektumun anteriorunda ve mesanenin inferiorundadır (Lee et al., 2011).

Prostat ile rektum arasında denonvillier fasyası adı verilen fasya bulunmaktadır ve bariyer görevi görmektedir. Posterior yüz seminal vezikül ve ductus deferensin ampullası ile komşudur (Raychaudhuri & Cahill, 2008). Prostatın anterior ve anterolateral yüzeylerinde kapsül endopelvik fasyanın visseral uzantısı ile karışır. Apekse doğru puboprostatik ligamanlar prostatı pubik kemiğe asmak üzere anteriora doğru uzanırlar. Lateralde prostat, levator ani'nin pubokoksik kısmı ile komşu olup levator ani üzerindeki endopelvik fasya ile direkt ilişkilidir (Kavoussi, 2016).

Prostatın arteryel dolaşımı esasen hipogastrik arterin dalı olan inferior vezikal arterden kaynaklanmaktadır. Prostatik arter, beze yaklaştıkça iki ana dala ayrılır (Şekil 1). İlk ana dal olan üretral arter, prostatovezikal bileşkeyi posterolateralden penetre eder ve üretraya dik olarak içe doğru seyrederek. Mesane boynuna saat 1 ile 5 pozisyonunda ve 7 ile 11 pozisyonunda yaklaşırlar ve en büyük dallar posteriora lokalizedir. Sonra üretrayı, periüretral bezleri ve transizyonel zonu beslemek için

üreyra paralel olarak kaudale dönerler. Bu nedenle bu arterler benign prostatik hipertrofideki adenomun temel arterleridir. Kapsüler arter prostatik arterin ikinci ana dalıdır. Bu arter prostatik kapsülün üzerinde dallara ayrılır. Bu arterin büyük bir kısmı kavernöz sinirlerle beraber prostatın posterolaterinde seyrederek ve pelvik diyaframda sonlanır. Kapsüler dallar dik açıyla prostatı delerek girerler ve glandüler dokuların beslenmesini sağlarlar (Kavoussi, 2016). Prostat venleri periprostatik venöz pleksusa drene olmaktadır. Periprostatik venöz pleksus da vezikal ve pudental venlerle ilişki içerisine girdikten sonra, internal iliak venlere drene olmaktadır (Yücel, 2003).



**Şekil 1 Prostat arteriyel dolaşımı** (Kavoussi, 2016)

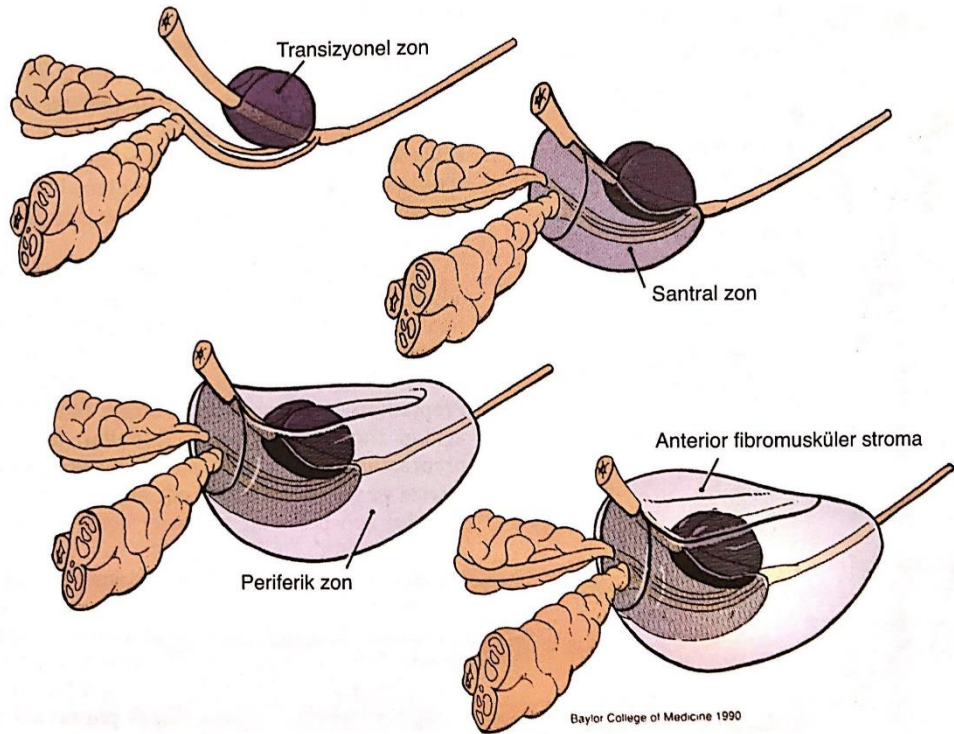
Lenfatik drenaj primer olarak obturator ve internal iliak nodlardır. Drenajın küçük bir kısmı direkt olarak presakral ya da eksternal iliak nodlara olabilir (Kavoussi, 2016).

Prostatın innervasyonu, pelvik pleksustan gelen sempatik ve parasempatik lifleri içeren kavernöz sinir aracılığıyla olmaktadır. Parasempatik lifler asinüslerde sonlanır ve



sekresyonu başlatırlar. Sempatik lifler ise kapsülün ve stromanın düz kaslarının kontraksiyonuna neden olurlar (Kavoussi, 2016).

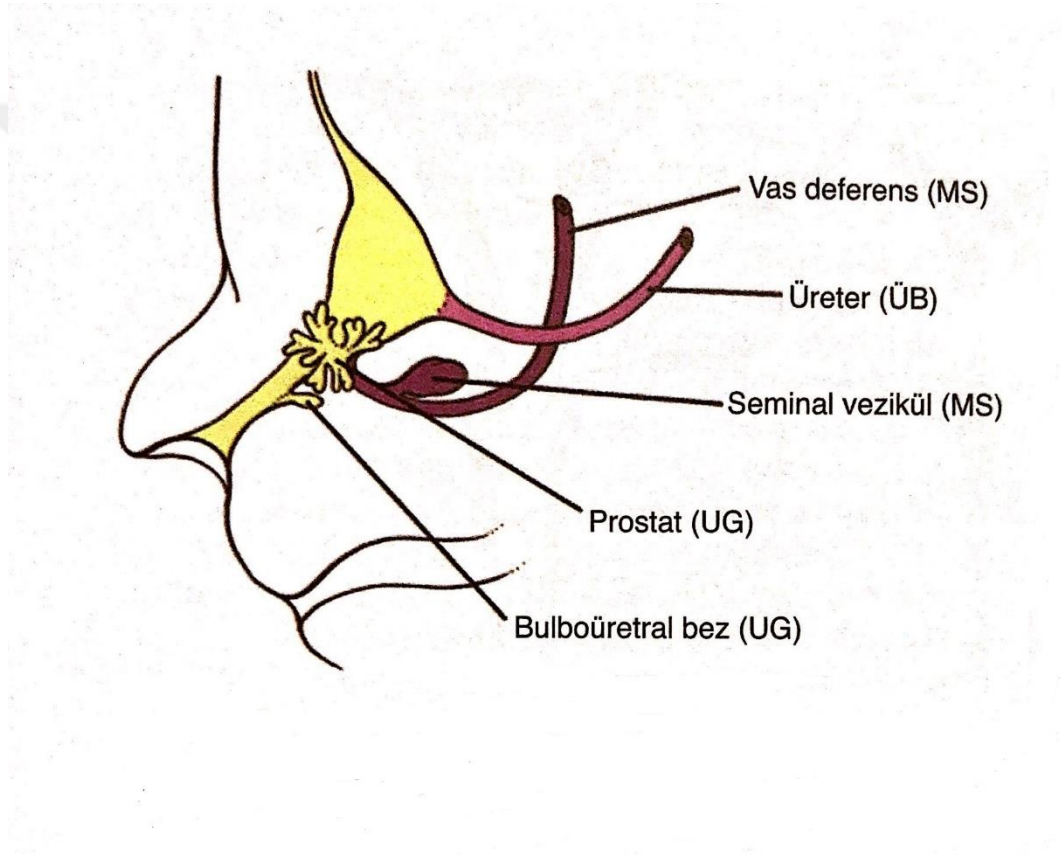
Prostat, anatomik olarak McNeal tarafından tanımlandığı şekliyle dört anatomik zondan oluşmaktadır (Şekil 2). Transizyonel zon, ejakulatuar kanalların proksimalinde üretrayı sarar ve prostatın glandüler dokusunun %5-10'unu oluşturur. Benign prostatik hipertrofi genellikle bu zondan oluşur ve yaklaşık olarak prostat adenokarsinomunun %20'sinin bu zondan köken aldığı tahmin edilmektedir. Santral zon, prostatın glandüler dokusunun %25'ini oluşturur, ejakulatuar kanalları sarar ve mesane tabanına doğru projekte olur. Adenokarsinomların yaklaşık %1-5'i santral zon kaynaklıdır. Periferik zon, prostatik glandüler dokunun %70'ini oluşturur ve bezin posterior ve lateral bölümlerini sarar. Prostat kanserlerinin %70'i bu zondan kaynaklanmaktadır ve kronik prostatit en çok bu zonu etkiler. Prostatın kalan son bölümü nonglandüler yapıda olan anterior fibromusküler stromadır ve nadiren karsinom tarafından invaze edilir (Kavoussi, 2016).



**Şekil 2 Prostatın zonal anatomisi (Kavoussi, 2016)**

### 2.1.2 Embriyolojisi

Prostat ürogenital sinüs epitelinden dışarı uzanan epitelyal tomurcukların proliferasyonu yoluyla mesane boynunun hemen kaudal kısmında gelişir (Şekil 3). Prostat tomurcuklanması gebeliğin 10. haftasında oluşur ve 16. haftada tamamlanır (Park, 2016). Mezenşimal hücreler 16. haftaya kadar tübüllerin etrafında gelişmeye başlar ve prostatik kapsülü oluşturmak için uçlarda daha yoğun hale gelir. Yirmi ikinci haftaya kadar mürsküler stroma oldukça gelişmiş haldedir ve doğuma kadar gelişimini kademeli olarak sürdürür (Tanagho et al., 2020).



**Şekil 3 Erkek aksesuar seks bezlerinin gelişimi ve embriyolojik kökeni** (Park, 2016) Onuncu haftadan sonra seminal veziküller testosteronun etkisiyle distal mezonefrik kanallardan (MS), prostat ve bulboüretral bezler ise dihidrotestosteronun varlığında ürogenital sinüsten (UG) gelişir. UB:Üreter tomurcuğı

Beş epitel tomurcuk grubundan sonuç olarak ön, arka, medyan ve iki yan lob olmak üzere 5 lob oluşur. Başlangıçta bu loblar geniş bir şekilde ayrılır ancak daha sonra onları bölen belirli bir septa olmadan birleşirler. Her lobun tübülleri birbiriyle iç içe girmez, sadece yan yana dururlar (Tanagho et al., 2020).

Prostat, androjenlerin varlığında ürogenital sinüs epitelyumu ve mezenşim arasındaki karmaşık etkileşim sonucu gelişmektedir (Cunha et al., 2004). Gelişimin başlarında, androjen reseptör (AR)'leri sadece ürogenital sinüs mezenşiminden salınır. Androjenin etkisi altında, mezenşim epitel tomurcuğunun büyümesini ve dallanmasını düzenler, salgı epitelinin farklılaşmasını teşvik eder (Tanagho et al., 2020).

### **2.1.3 Histolojisi**

Prostat, yaklaşık 30-50 adet dallanmış tübüloalveoler bezden oluşmaktadır ve bu bezlerin kanalları prostatik üretraya açılır. Prostatta üç ayrı bölge bulunur. Birincisi santral zondur ve bezin hacminin %25'ini kaplar. Yalancı çok katlı bir epiteli mevcuttur. Bezin %70'ini periferal zon oluşturur ve burası prostat kanserinin geliştiği başlıca bölgedir. Transizyonel zon, prostat hastalıkları açısından önemlidir. Çünkü burası benign prostat hiperplazi (BPH)'lerinin büyük bir bölümünün kaynaklandığı bölgedir (Junqueira & Carneiro, 2006).

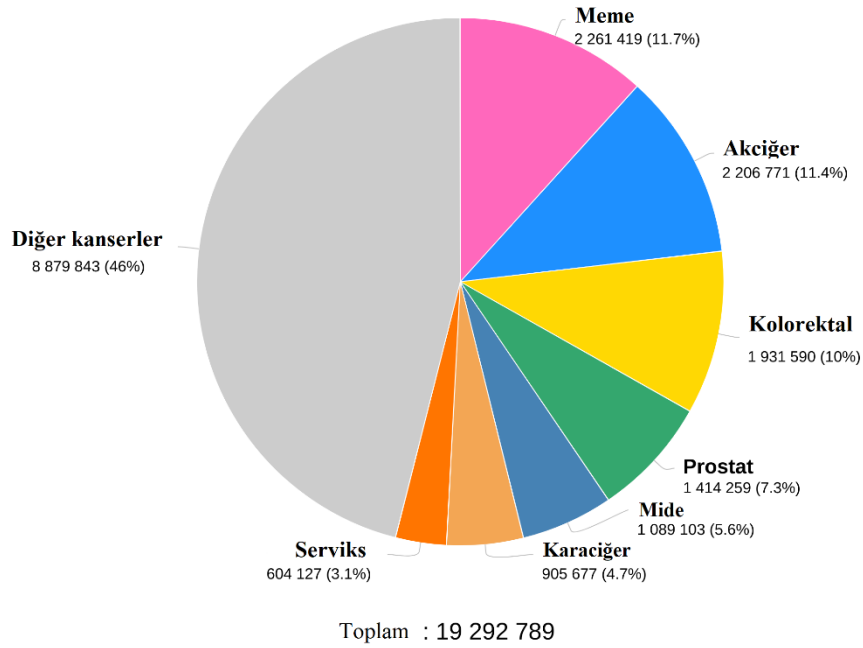
Prostatın tübüloalveoler bezleri kübik ya da yalancı çok katlı silindirik epitel içerir. Bezleri son derece zengin bir fibromusküler stroma çevreler. Prostat bezi düz kas liflerinden zengin bir fibroelastik kapsül ile örtülüdür. Kapsülden çıkan septumlar bezin içine doğru uzanırlar ve bezi bölmelere ayırırlar. Bu bölmeler erişkin erkekte kolaylıkla seçilemez (Junqueira & Carneiro, 2006).

Prostatın yapısı ve işlevi testosteron düzeyine bağlıdır. Prostat bezlerinin lümeninde sıklıkla 0,2-2 mm çapında glukoprotein yapısında küçük küresel cisimcikler bulunur. Bunlar prostat taşları ya da korpora amilasea olarak adlandırılır. Önemi anlaşılammış olmakla birlikte sayıları ilerleyen yaşla birlikte artmaktadır (Junqueira & Carneiro, 2006).

## 2.2 PROSTAT KANSERİ

### 2.2.1 Epidemiyoloji

Prostat kanseri, tüm dünyada erkeklerde en sık görülen ikinci kanserdir. 2020 yılında yaklaşık 1,4 milyon erkek prostat kanseri tanısı almıştır ve her iki cinsiyette ve tüm yaşlarda tanı alan tüm kanserlerin %7,3'ünü oluşturur (Şekil 4) (Sung et al., 2021).

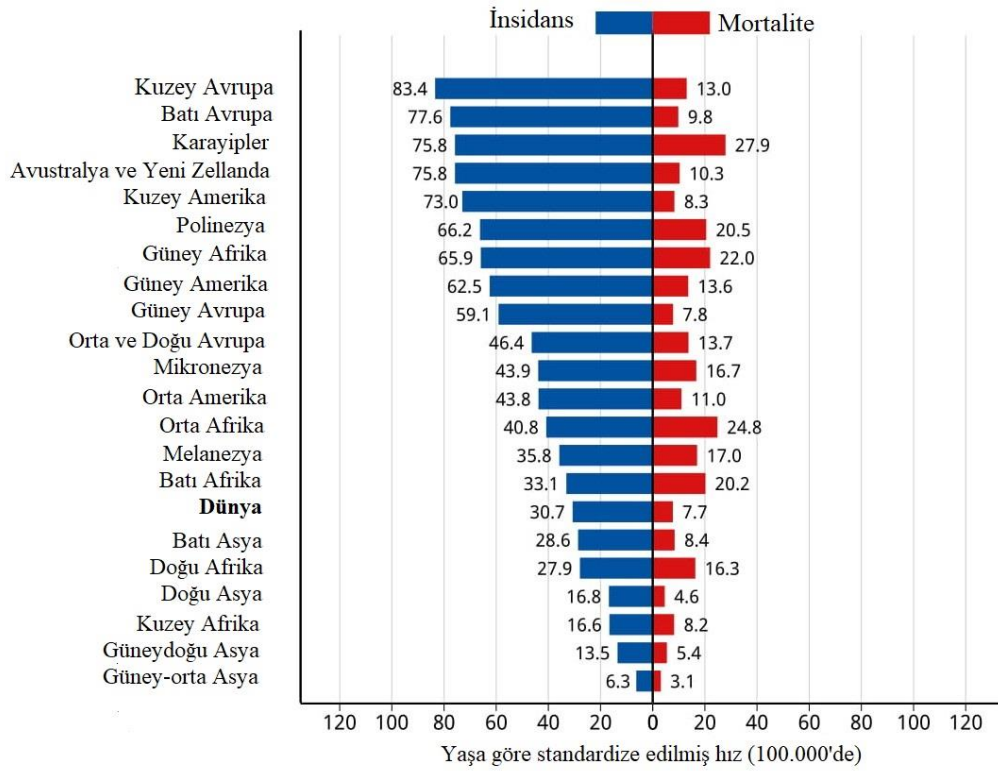


Şekil 4 Dünya genelinde 2020 yılında yeni kanser vaka sayıları (Sung et al., 2021)

Otopsi çalışmalarının sistematik bir derlemesinde, prostat kanseri prevalansı 30 yaş altında %5 olarak bildirilmiş ve yaşla beraber bu oranın arttığı, 79 yaş üstünde prostat kanseri prevalansının %59'a (%48-71) ulaştığı saptanmıştır (Bell et al., 2015).

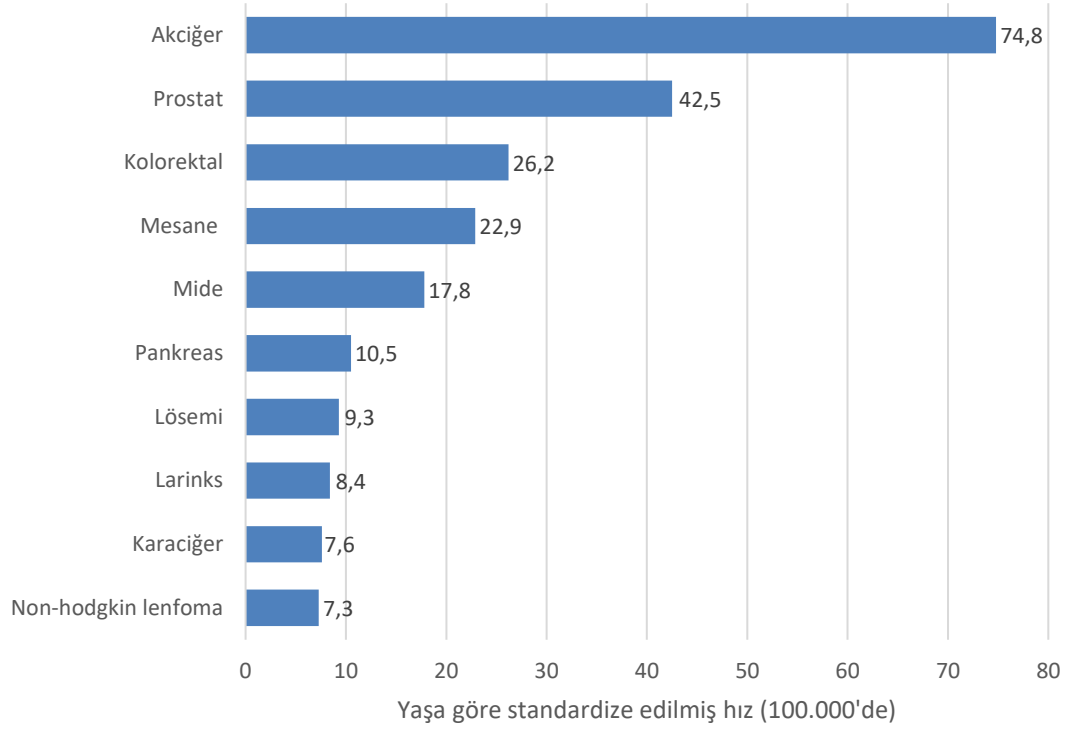
Prostat kanseri insidansı farklı coğrafik bölgeler arasında da değişiklik göstermektedir. Kuzey Avrupa ve Batı Avrupa sırasıyla 100.000'de 83,4 ve 77,6 ile en yüksek insidans oranlarına sahipken bunu Karayipler, Avustralya-Yeni Zelanda

ve Kuzey Amerika (sırasıyla 100.000’de 75,8, 75,8 ve 73,0) izlemektedir. Yaşlı popülasyonun fazlalığı ve prostat spesifik antijen (PSA) testinin yaygın kullanımının bu coğrafyadaki yüksek insidans oranlarına neden olduğu tahmin edilmektedir. Diğer taraftan Güneydoğu ve Güney-Orta Asya sırasıyla 100 000’de 13,5 ve 6,3 ile prostat kanseri insidansının en düşük olduğu coğrafi bölgelerdir (Şekil 5) (Sung et al., 2021).



**Şekil 5 Dünya genelinde prostat kanseri insidans ve ölüm oranları** (Sung et al., 2021)

Ülkemizde de Dünya genelindekine benzer şekilde prostat kanseri erkeklerde en sık görülen ikinci kanserdir. İnsidansı 100 000’de 42,5 olup akciğer kanserinden sonra yer almaktadır (Şekil 6) (Sung et al., 2021).



**Şekil 6 Türkiye’de erkeklerde en sık görülen kanserlerin insidansları (Sung et al., 2021)**

## 2.2.2 Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Prostat kanserinin başlangıcının ve ilerlemesinin altında yatan nedenler her ne kadar tam olarak aydınlatılamamış olsa da bazı çevresel ve genetik faktörlerin hastalığın oluşumunda ve yayılmasında rol oynadığı bilinmektedir.

### 2.2.2.1 Yaş

Prostat kanseri oluşumunda en önemli değiştirilemez etken yaştır. Prostat kanseri insidansı ile yaş arasında güçlü bir ilişki olduğu ortaya konmuştur ve prostat kanseri insidansı yaşla beraber artmaktadır (Pienta & Esper, 1993). Prostat kanseri, 40 yaşın altındaki erkeklerde nadir görülür, ancak prostat kanserine yakalanma riski 50 yaşından sonra hızla artar, 65 ve 74 yaşları arasında pik yapar (Bashir, 2015).

### 2.2.2.2 Aile öyküsü ve genetik faktörler

Aile öyküsü, ırk ve etnik kökenin artmış prostat kanseri insidansı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ve bu ilişki genetik bir yatkınlığı düşündürmektedir (Hemminki, 2012;

Jansson et al., 2012). Herediter hastalık, ailede en az 3 prostat kanseri öyküsü olan veya erken başlangıçlı (<55 yaş) prostat kanseri olan 2 akraba bulunması olarak tanımlanmaktadır ve prostat kanserli erkeklerin yaklaşık %9'unu oluşturmaktadır (Hemminki, 2012). Herediter prostat kanseri, 6-7 yıl erken hastalık başlangıcı ile ilişkilidir, ancak hastalığın agresifliği ve klinik seyir açısından fark gözlenmemiştir (Hemminki, 2012; Randazzo et al., 2016).

Prostat kanseri ilişkili genom çalışmalarında, soylara özgü risk lokusları tanımlanmıştır (Conti et al., 2017) ve 100'den fazla gen lokusunun prostat kanseri riskinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Eeles et al., 2013; Amin Al Olama et al., 2015; Schumacher et al., 2018). Genetik ve çevresel faktörler arasındaki mekanizmaların çoğu bilinmemektedir. Bununla birlikte, Afrika kökenli erkeklerde prostat kanseri insidansının daha yüksek olduğu ve genellikle daha agresif bir hastalık seyrine sahip olduğu kabul edilmektedir (Tan et al., 2016).

Germline mutasyonları, herediter olmayan prostat kanserli erkeklerde de giderek artan bir şekilde tanımlanmaktadır ve metastatik prostat kanseri hastalarında, DNA onarım süreçlerine aracılık eden genlerde %11,8 germline mutasyonları saptanmıştır (Pritchard et al., 2016). BRCA1/2 ve HOXB13 gibi genlerdeki germline mutasyonları, artmış prostat kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir (Ewing et al., 2012; Lynch et al., 2016).

### **2.2.2.3 Metabolik sendrom**

Metabolik sendromun bileşenlerinden olan hipertansiyon ve artmış bel çevresi (>102 cm) prostat kanseri riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir. Ancak 3'ten fazla metabolik sendrom bileşenine sahip olmak ise azalmış prostat kanseri riski ilişkili bulunmuştur (Esposito et al., 2013; Blanc-Lapierre et al., 2015).

Diyabet tedavisinde kullanılan bir oral antidiyabetik olan metforminin prostat kanseri ile ilişkisi hakkında farklı görüşler mevcuttur. Metformin kullananların hiç kullanmayanlara göre daha az prostat kanseri teşhisi riski taşıdığı yönünde çalışmalar mevcut olsa da (Preston et al., 2014) prostat kanseri ile ilişkili olmadığı yönünde görüşler de mevcuttur (Freedland et al., 2013).

Hiperlipidemi ve prostat kanseri ilişkisini inceleyen çalışmalarda; total kolesterol, HDL, LDL düzeyleri ile prostat kanseri arasında bir ilişki saptanmamıştır ve statinlerin prostat kanseri üzerinde önleyici bir etkisi olduğu gösterilememiştir (Freedland et al., 2013; YuPeng et al., 2015).

Obezite ile prostat kanseri arasındaki ilişki prostat kanserinin derecesi ile değişkenlik göstermektedir. Düşük riskli prostat kanseri riskinde azalma ile ilişkili bulunmuşken, yüksek riskli prostat kanseri riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Vidal et al., 2014).

#### **2.2.2.4 Diyet**

Prostat kanserinin gelişiminde diyet önemli bir rol oynamaktadır ve batılı yaşam tarzındaki değişimin, prostat kanseri insidansında artış yarattığı gösterilmiştir. Afrika'da yaşayanlarla karşılaştırıldığında, Afrika kökenli Amerikalılar arasında prostat kanseri insidansının 40 kat daha yüksek olduğu, benzer şekilde ABD'de yaşayan Çinli erkekler için prostat kanseri insidansının Çin'de yaşayanlara göre 16 kat daha yüksek olduğu bildirilmiştir ve bu da çevresel faktörlerin önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Chu et al., 2011; Hsing et al., 2000).

Alkol alımının prostat kanseri oluşumunda etkisi olduğu yönünde çalışmalar mevcuttur ve yüksek alkol alımı, yüksek prostat kanseri riski ve prostat kanserine özgü mortalite ile ilişkili bulunmuştur (Zhao et al., 2016).

Kırmızı et tüketimi ile prostat kanseri mortalitesi arasında pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır. Izgara veya mangalda et, serbest radikallerin üretilmesiyle lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı ile sonuçlanabilecek N-nitrozo bileşiklerinin oluşmasına neden olur (Sinha et al., 2009).

Likopen, güçlü antioksidan özelliklere sahip bir karotenoiddir ve prostat dokusunda yüksek konsantrasyonlarda birikir. Likopen gibi antioksidanlar, oksidasyonun dokulardaki zararlı etkilerini sınırlar. Ayrıca AR'ler üzerine etki eder ve dihidrotestosteron (DHT)'un etkilerini tersine çevirir (Liu et al., 2008). Meta-analizlerde domates tüketiminin ve likopenlerin prostat kanseri insidansı üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir (P. Chen et al., 2015; Rowles et al., 2018).



D vitamini düzeyi prostat kanseri ile ilişkisi gösterilmiş önemli bir vitamindir. Hem yüksek hem de düşük vitamin D konsantrasyonu artmış prostat kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur ve yüksek dereceli hastalıkla ilişkisi daha güçlüdür (Kristal et al., 2014; Nyame et al., 2016).

Süt ve süt ürünleri yoluyla kalsiyum ihtiyacımızın çoğu karşılanmaktadır ancak diyetle fazla kalsiyum alımı prostat kanseri riskinde artış ile ilişkili bulunmuştur (Gao et al., 2005). Öte yandan meyve-sebze tüketiminin prostat kanseri riskini anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir (Askari et al., 2014).

#### **2.2.2.5 Hormonal aktif ilaçlar**

Testosteronun daha potent form olan DHT'ye dönüşümünü engelleyerek etki gösteren 5-alfa redüktaz inhibitörleri, BPH'nin tedavisinde önemli yer tutmaktadır. Prostat kanserinin, özellikle de düşük dereceli tümörlerin önlenmesi ve geciktirilmesinde etkili olabileceği yönünde görüşler olsa da, yüksek dereceli prostat kanseri riskinde az da olsa artışa neden olabileceği akılda tutulmalıdır (Thompson et al., 2003; Kramer et al., 2009; Andriole et al., 2010).

Testosteron seviyesinin prostat kanseri ile olan ilişkisi de incelenmiş olup çok düşük serbest testosteron konsantrasyonuna sahip erkeklerin ortalamasının altında prostat kanseri riskine sahip olduğu bildirilmiştir (Watts et al., 2018). Bununla beraber, hipogonadizmi erkeklerde testosteron tedavisi ile prostat kanseri riskinde artış olmadığı gösterilmiştir (Haider et al., 2015).

#### **2.2.2.6 Diğer potansiyel risk faktörleri**

Hormonal mekanizmaların rol oynadığı prostat kanseri patofizyolojisi ile benzerlik gösteren erkek tipi kellik, artmış fatal prostat kanseri riski ile ilişkili bulunmuştur (Zhou et al., 2016). Cinsel aktivite ve cinsel yolla bulaşan hastalıkların prostat kanseri ile ilişkisi çelişkilidir ve bazı çalışmalarda aralarında ilişki gösterilebilmişken bazılarında gösterilememiştir. Gonore, artmış prostat kanseri insidansı ile ilişkili bulunmuştur (Lian et al., 2015). Benzer şekilde HPV ve sifiliz ile prostat kanseri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (Huang et al., 2008; Sutcliffe, 2010). Ejakülasyon sıklığının prostat kanseri üzerinde koruyucu bir etkisi olduğu tartışılmıştır. Yapılan çalışmalar göstermiş ki; ayda 21 defadan fazla ejakülasyon, %20 daha az prostat

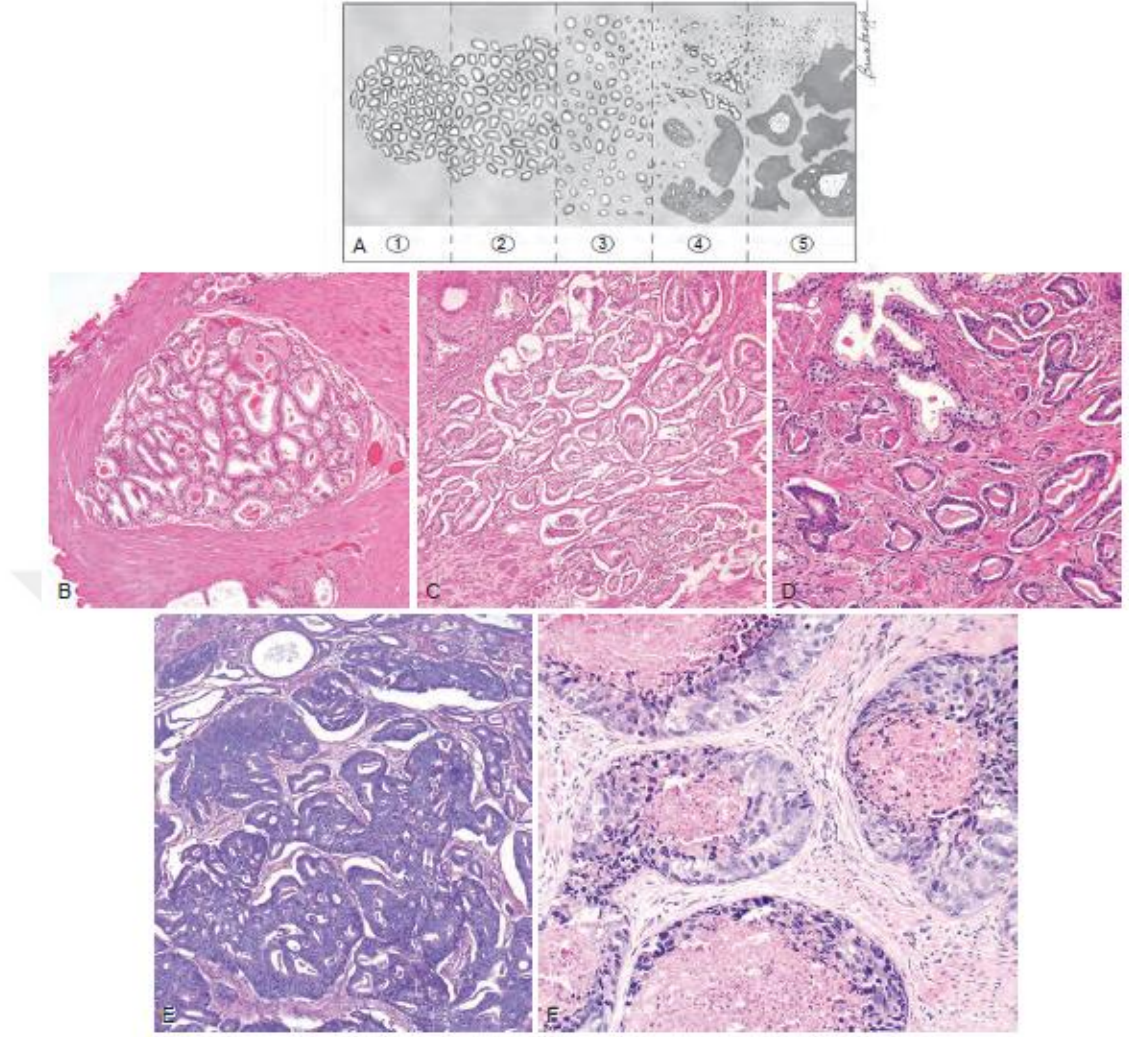
kanseri riski ile ilişkilidir (Rider et al., 2016). Vazektominin, daha önceleri prostat kanseri riskinde artışa neden olduğu düşünölmekteydi ancak güncel çalışmalar vazektomi sonrası prostat kanseri riskinde artış olmadığını göstermiştir (Cox et al., 2002; Holt et al., 2008). Sünnet ise prostat kanseri ile az da olsa koruyucu bir ilişki içinde olduğu bildirilmiştir (Pabalan et al., 2015).

### **2.2.3 Patoloji**

Prostat kanserlerinin %95'inden fazlası adenokarsinomlardır. Prostat kanserinin kalan %5'inin histolojisi ise heterojen olup stromal, epitel veya ektopik hücrelerden kaynaklanabilir. Adenokarsinom olmayan varyantlar hücresel kökene göre epitelyal ve epitelyal olmayan şekilde iki gruba ayrılabilir. Epitelyal varyantlar; müsin, taşlı yüzük, adenoid kistik, adenoskuamöz, yassı hücreli, değişici epitel hücreli, nöroendokrin karsinom ve komedokarsinomdan oluşur. Non-epitelyal varyantlar ise; rabdomyosarkom, leiomyosarkom, osteosarkom, anjiyosarkom, karsinosarkom, malign lenfoma ve metastatik neoplazmları içermektedir (Cooperberg et al., 2020).

Adenokarsinom, prostat glandlarının duktal ya da asiner epitelyum hücrelerinden gelişmektedir. Çoğunlukla periferal zonda yerleşik olmaktadır ve yine çoğunlukla multifokal olarak gözlenmektedirler (Reynard et al., 2013). Prostat kanserinin sitolojik özellikleri arasında belirgin nükleoller olan hiperkromatik, genişlemiş nükleuslar bulunur. Sitoplazma genellikle bol miktarda bulunur; bu nedenle nükleo-sitoplazmik oran, diğer birçok neoplazmin teşhisinde yararlı olmasına rağmen, prostat kanserinin teşhisinde nadiren yararlıdır. Bazal hücre tabakası prostat kanserinde bulunmazken, normal bezlerde, BPH bezlerinde ve prostat kanserinin öncü lezyonlarında bulunur (Cooperberg et al., 2020).

Histopatolojik derecelendirme prostat kanserinde önemli bir prognostik bulgudur ve bu konuda en yaygın kullanılan sistem Gleason skorlamasıdır (Mellinger et al., 1967; Gleason & Mellinger, 1974). Gleason skorlamasında hücrelerin mikroskop altındaki görünümleri 1'den 5'e kadar olacak şekilde sınıflandırılır (Şekil 7)



**Şekil 7 Gleason derecelendirme sistemi (J. I. Epstein, 2016)**

(A, Gleason derecelendirme sisteminin şematik diyagramı. B, Gleason patern 1: Yakın dizilmiş bezlerden oluşan iyi sınırlı nodül. C, Gleason patern 2: Daha gevşek bezlere sahip nodül. D, Gleason patern 3: Benign bezler arasında infiltratif bir patern bulunan küçük bezler. E, Gleason patern 4: Büyük, düzensiz kribriform bezler F, Gleason patern 5: Solid adalar ve merkezi komedonekrozis.)

Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) ve atipik küçük asiner proliferasyon (ASAP: Atypic small aciner proliferation)'un olası prekürsör lezyonlar olduğu düşünülmektedir ve sonraki patolojik örneklemeler için yüksek prostat kanseri riski oluştururlar (Cooperberg et al., 2020).

Prostat kapsülünün invazyonu sıklıkla görülmekle birlikte seminal vezikül invazyonu bölgesel veya uzak metastaz ile ilişkilidir. Lokal ileri prostat kanserinde mesane trigon invazyonu görülebilmektedir ancak rektal tutulum denonvillier fasyasının oluşturduğu güçlü bariyer nedeniyle nadirdir. Lenfatik metastaz ise en sık obturator, eksternal iliak, ve internal iliak lenf nodlarına olmaktadır (Cooperberg et al., 2020).

Prostat kanseri en sık uzak metastazını iskelet sistemine yapmaktadır. Aksiyel iskelet sistemi ve özellikle de lomber vertebralar metastazın en yoğun olduğu bölgedir. Diğer yaygın yerler; proksimal femur, pelvis, torasik vertebra, kostalar, sternum, kraniyum ve humerustur. Kemik lezyonları osteoplastik ve sklerotiktir. Ağır yük taşıyan kemiklerin tutulumu sonucu patolojik kemik kırıkları meydana gelebilir. Visseral metastazlar ise en sık akciğer, karaciğer ve adrenal bezde gözlenir. Merkezi sinir sistemi tutulumu genellikle kraniyum veya vertebra metastazlarının invazyonu sonucu ortaya çıkabilir (Cooperberg et al., 2020).

Prostat kanseri dokusunda sıklıkla aşırı eksprese edilen iki transkripsiyon faktörü ERG ve EtV1'dir. Androjene duyarlı olan transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) pek çok olguda bu genlere kaynaşarak aşırı ekspresyonlarını sağlar. TMPRSS2:ERG füzyonu prostat tümörlerinin yaklaşık %50'sinde tanımlanmıştır ve muhtemelen karsinogeneizde erken bir moleküler olayı temsil etmektedir (Cooperberg et al., 2020).

Prostat kanserlerinde bir diğer genetik mekanizma BRCA2 ve diğer DNA onarım yolu genlerindeki mutasyonlardır. Prostat, meme ve over kanseri pozitif aile öyküsü olan erkekler bu mutasyonlar için risk altındadır (Giri et al., 2018).

### **2.2.3.1 Gleason Derecelendirmesi**

Gleason derecelendirilmesi; rölatif olarak düşük büyütmeye tümörün glandüler paternine göre tanımlanır. En iyi diferansiye olan patern grade 1, en az diferansiye olan patern grade 5 olarak değerlendirilir. Orijinal Gleason sisteminde, en yaygın ve en yaygın ikinci paternler birleştirilmesine rağmen, 2005 yılında Gleason sistemi, biyopside en yaygın ve en yüksek dereceli paternlerin sonuca eklenmesi şeklinde bir değişiklik ile güncellendi ve değiştirildi (Epstein et al., 2005).

Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği (ISUP: International Society of Urological Pathology)'nin; en son 2014 yılında düzenlediği derecelendirme sisteminde gleason skorları baz alınmaktadır (Tablo 1) (Epstein et al., 2016). EAU, prostat kanseri derecelendirilmesinde ISUP 2014 sisteminin kullanılmasını önermektedir (Mottet et al., 2020).

**Tablo 1 Uluslararası Ürolojik Patoloji Derneği 2014 derecelendirmesi** (Epstein et al., 2016)

Gleason skoru	ISUP derecesi
2-6	1
7 (3+4)	2
7 (4+3)	3
8 (4+4 ya da 3+5 ya da 5+3)	4
9-10	5

#### 2.2.4 Tarama ve Erken Tanı

Toplum taraması, risk altındaki asemptomatik erkeklerin sistemik muayenesi olarak tanımlanır ve prostat kanserine bağlı mortaliteyi azaltmayı ve yaşam kalitesindeki artışı hedeflemektedir (Mottet et al., 2020). Prostat kanserine bağlı ölüm oranı çoğu batı ülkesinde azalmıştır, ancak azalmanın boyutu ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Günümüzde prostat kanseri taraması, ürolojik literatürdeki en tartışmalı konulardan biri olmaya devam etmektedir (Etzioni et al., 2013). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde ilk yaygın agresif taramanın mortalitede azalma ile sonuçlandığı bildirildi (Loeb, 2014).

Birinci basamak sağlık hizmeti ortamında parmakla rektal muayene (PRM)'nin tek başına kullanımı, muhtemelen deneyimsizliğe bağlı olarak %60'ın altında bir duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir ve bu nedenle prostat kanserini dışlamak için önerilemez (Naji et al., 2018). Erken tanı talep eden bilgilendirilmiş erkeklere PRM'ye ek olarak PSA testi yapılmalıdır (Loeb et al., 2006). PSA'nın ortaya çıkmasından bu yana prostat kanseri ilişkili mortalite 20 yıldır azalmaktadır (Siegel et al., 2019). Bununla birlikte tarama ile artan erken tanı, gereksiz tedavi riskini de beraberinde getirebilmektedir.

Prostat kanserine yakalanma riski yüksek olan erkekler; 50 yaş üstü (Carlsson et al., 2017) veya 45 yaşın üzerinde olup ailesinde prostat kanseri öyküsü olanlar (Albright et al., 2015) veya Afrika kökenli (Kamangar et al., 2006) olan kişilerdir. Afrika kökenli erkeklerde ilerlemiş hastalık teşhisi konma olasılığı daha yüksektir (Karami et al., 2007). Ayrıca meme kanserinde önemli bir genetik anormallik olan BRCA2 mutasyonunun erkek taşıyıcılarında PSA taraması, mutasyonsuz taşıyıcılara kıyasla daha genç yaşta daha fazla klinik önemli kanserler saptanmasını sağlamıştır (Page et al., 2019).

Prostat kanserinde takip aralıkları da bir diğer önemli konudur ve risk altındaki kişiler daha sıkı takip edilmelidir. PSA düzeyi 40 yaşlarında 1 ng/mL (Vickers et al., 2013) ve 60 yaşlarında 2 ng/mL üzerinde olan erkekler (Carlsson et al., 2014) birkaç dekat sonra prostat kanserine bağlı ölüm veya prostat kanseri metastazı açısından artmış risk altındadır. Avrupa Üroloji Derneği (EAU: European Association of Urology)'nin prostat kanseri taraması ve erken tanı ile ilgili önerileri Tablo 2'de özetlenmiştir.

**Tablo 2 EAU prostat kanserinde tarama ve erken tanı önerileri (Mottet et al., 2021)**

<b>Öneri</b>	<b>Kanıt düzeyi</b>	<b>Öneri derecesi</b>
Potansiyel risk ve faydaları hakkında bilgi verilmeden PSA testi uygulanmamalıdır.	3	Güçlü
İyi performans statüsü ve en az 10–15 yıl yaşam beklentisi olan, iyi bilgilendirilmiş erkekler için, kişisel riske göre belirlenmiş bir erken tanı stratejisi oluşturulmalıdır	3	Zayıf
Yüksek prostat kanseri riski olan, iyi bilgilendirilmiş erkekler için erken PSA testi önerilmelidir: <ul style="list-style-type: none"><li>• 50 yaş üstü erkekler</li><li>• 45 yaş üstü ve ailesinde prostat kanseri öyküsü olan erkekler</li><li>• 45 yaş üstü Afrika kökenli erkekler</li><li>• 40 yaş üstü BRCA2 mutasyonu olan erkekler</li></ul>	2b	Güçlü
Başlangıçta risk durumu aşağıdakilerden biri olan hastalara, kişisel riske göre belirlenmiş (başlangıç PSA değerleri baz alınarak) iki yıllık takip aralıkları olan bir strateji belirlenmelidir <ul style="list-style-type: none"><li>• 40 yaşında PSA düzeyi &gt; 1 ng/mL olan erkekler</li><li>• 60 yaşında PSA düzeyi &gt; 2 ng/mL olan erkekler</li></ul> Risk altında olmayanlarda takibi 8 yıla kadar erteleyin.	3	Zayıf
Prostat kanserinin erken teşhisi, yaşam beklentisi ve performans durumuna dayalı olarak karar verilmeli ve durdurulmalıdır. Yaşam beklentisi 15 yıldan az olan erkeklerin erken teşhisten faydalanma olasılığı düşüktür.	3	Güçlü

## **2.2.5 Klinik Tanı**

### **2.2.5.1 Parmakla rektal muayene (PRM)**

Prostat kanseri tanısında PRM oldukça önemlidir ve klinik hakkında önemli bilgiler verir. Prostat kanseri çoğu zaman periferik yerleşimlidir ve 0,2 ml'den büyük nodüller PRM sırasında tespit edilebilir. Prostat kanseri olgularının %18'inde PSA düzeyinden bağımsız olarak sadece şüpheli PRM bulgusu ile tanı konulabilir (Richie et al., 1993). PSA düzeyi 2 ng/ml altında olan hastalarda dahi şüpheli PRM bulgusunun pozitif prediktif değerinin %5-30 arasında olduğu gösterilmiştir (Carvalho et al., 1999). PRM'de şüpheli bulguların varlığı daha yüksek ISUP derecesi ile ilişkilidir ve prostat biyopsisi için endikasyondur (Okotie et al., 2007).

### **2.2.5.2 Prostat spesifik antijen (PSA)**

Prostat spesifik antijen (PSA); ilk olarak 1970 yılının sonlarına doğru tanımlanmış, kallikrein ailesi içinde yer alan, serin proteaz olarak görev yapan, 33kD'luk bir glikoproteindir (Ablin et al., 1970; Yousef & Diamandis, 2001). PSA organa özgü bir antijendir fakat kansere özgü değildir ve BPH, prostatit ve diğer malign olmayan durumlarda da yükselebilir. Yaşlandıkça PSA değerinin yükseldiği bilinmektedir ve bu artış BPH'sı olmayan erkeklerde yıllık 0,04 ng/dl iken, BPH'sı olan erkeklerde yıllık 0,07-0,27 ng/ml arasındadır (Carter et al., 1992). Oesterling ve ark., yaşa özgü PSA değerlerini 40-49 yaş arası 0-2,5 ng/ml, 50-59 yaş arası 0-3,5 ng/ml, 60-69 yaş arası 0-4,5 ng/ml, 70-79 yaş arası 0-6,5 ng/ml olarak bildirmişlerdir (Oesterling et al., 1993). PSA dinamik bir belirteçtir ve daha yüksek PSA değerleri daha yüksek prostat kanseri ihtimalini göstermektedir. Bununla beraber düşük PSA seviyelerinde de prostat kanseri riskinin devam ettiği bilinmelidir (Tablo 3) (Thompson et al., 2004).



**Tablo 3 Düşük PSA değerlerine bağlı olarak prostat kanseri riski** (Thompson et al., 2004)

PSA düzeyi (ng/ml)	Prostat kanseri riski (%)	GS $\geq$ 7 riski (%)
0,0-0,5	6,6	0,8
0,6-1,0	10,1	1,0
1,1-2,0	17,0	2,0
2,1-3,0	23,9	4,6
3,1-4,0	26,9	6,7

PSA: Prostat spesifik antijen, GS: Gleason skoru

#### **2.2.5.2.1 PSA dansitesi (PSAD)**

PSA dansitesi (PSAD), PSA'nın prostat hacmine bölünmesi ile elde edilir ve ilk olarak 1992 yılında tanımlanmıştır (Benson et al., 1992). PSA'nın, BPH ve prostatit gibi diğer durumlarda yükselmesini prostat kanserinden ayırmak için kullanılmaktadır. Yüksek PSAD klinik olarak anlamlı prostat kanseri ihtimalini arttırmaktadır. PSA düzeyi 4-10 arası normal PRM bulguları olan erkeklerde PSAD 0,15 üzerinde ise prostat biyopsisi önerilmektedir (Seaman et al., 1993).

#### **2.2.5.2.2 PSA hızı ve PSA ikilenme zamanı**

PSA hızı, serum PSA düzeyinde ng/ml cinsinden mutlak yıllık artışın; PSA ikilenme zamanı ise, PSA düzeyinin ikiye katlanma süresinin ay olarak ifade edilmesidir. PSA düzeyinin 4 ile 10 ng/ml arasında olan erkeklerde PSA hızı değerinin 0,75 ng/ml/yıl üzerinde olmasının prostat kanserinin varlığı için spesifik bir belirteç olduğu belirtilmiştir (Carter et al., 1992). Ancak daha güncel veriler her iki parametrenin de prostat kanserinin tedavisinde prognostik role sahip olduğunu ancak tanısal kullanımların sınırlı olduğunu göstermiştir (Arlen et al., 2008). Ayrıca tek başına PSA ölçümü ile karşılaştırıldığında ek bilgi sağlamadıkları gösterilmiştir (Vickers et al., 2009).

#### **2.2.5.2.3 Serbest/total PSA (s/t PSA)**

Prostat kanserli erkekler, genellikle prostat kanseri olmayanlara göre daha yüksek oranda kompleks PSA içerirler ve dolayısıyla daha düşük oranda serbest PSA formu

taşırlar (Raaijmakers et al., 2004). Bu nedenle s/t PSA, prostat kanserinin BPH'dan ayırımında kullanılmaktadır. Prostat kanserinde s/t PSA oranı BPH'ya göre daha düşüktür (T J Polascik et al., 1999). PSA düzeyi 4-10 ng/ml arasında ve s/t PSA oranı 0,1 altında olan erkeklerin %56'sında prostat kanseri tespit edilmiştir. Aynı grup erkeklerde s/t oranı 0,25 olanlarda ise prostat kanseri tespit edilme oranı %8 olarak saptanmıştır (Catalona et al., 1998). Total PSA değeri 10 ng/ml üzerinde olan erkeklerde veya bilinen prostat kanserinin takibinde s/t PSA'nın yeri yoktur (Mottet et al., 2020).

#### **2.2.5.2.4 Prostat sağlık indeksi (PHI)**

Prostat sağlık indeksi (PHI: Prostat Health Index), s-PSA, t-PSA ve pro-PSA izoformunun kombinasyonu ile hesaplanır. PSA testi yapılan erkeklerde gereksiz prostat biyopsisi yapılmasının engellenmesi amaçlanmıştır. PSA değeri 2-10 ng/ml arasında olan erkeklerde klinik olarak anlamlı prostat kanseri saptanmasında iyileşme sağladığı bildirilmiştir. PHI'daki artış prostat kanseri riskinde 4,7 kat, klinik anlamlı prostat kanseri riskinde ise 1,61 kat artış ile ilişkilidir. Ayrıca yaş ve prostat hacminden etkilenmemektedir (Catalona et al., 2011).

#### **2.2.5.2.5 Dört kallikrein (4K) skoru**

Prostat kanseri tahmininde kullanılan bir diğer test olan dört kallikrein (4K) skoru f-PSA, t-PSA, intakt PSA (i-PSA), kallikrein-benzeri peptidaz 2 ile yaş, PRM, önceki biyopsi durumunun kombinasyonundan oluşur. PHI'da olduğu gibi klinik anlamlı prostat kanseri teşhisinde ve gereksiz prostat biyopsisini önlemede etkili olduğu gösterilmiştir (Bryant et al., 2015). 4K skoru ve PHI'nın karşılaştırıldığı toplum bazlı bir çalışmada iki test arasında fark saptanmamıştır (Nordström et al., 2015).

#### **2.2.5.2.6 Prostat kanser antijeni 3 (PCA3)**

Prostat kanseri antijeni 3 (PCA3: Prostate Cancer Antigen 3), ilk olarak 1999 yılında prostat kanserli dokuda aşırı mRNA ekspresyonu gösteren bir gen olarak tanımlanmıştır ve ilk tanımlandığında *differential display clone 3* (DD3) ismi verilmiştir (Bussemakers et al., 1999). Daha sonra ise PCA3 olarak anılmaya başlanmıştır (Schalken et al., 2003). PCA3 testi prostat masajı sonrası toplanan idrar sedimentinde ölçülür. PCA3 için ticari olarak temin edilebilen Progenesa® idrar testi, yüksek PSA'lı erkeklerde prostat kanserinin saptanması için t-PSA ve s/t-PSA'dan

daha üstündür (Hessels et al., 2010). Progenesa® testinin başlıca endikasyonu, başlangıçta negatif bir biyopsi sonrası tekrar biyopsi gerekip gerekmediğini belirlemektir, ancak bu doğrultudaki klinik etkinliği belirsizdir (Nicholson et al., 2015).

#### **2.2.5.2.7 SelectMDX**

SelectMDX testi benzer şekilde idrardan mRNA biyo belirteç izolasyonuna dayanır. HOXC6 ve DLX1 mRNA düzeylerinin, hem biyopside prostat kanseri varlığını hem de yüksek riskli prostat kanserini tahmin etmede etkili olduğu gösterilmiştir (Van Neste et al., 2016).

#### **2.2.5.2.8 Mi-prostat skoru (MiPS)**

TMPRSS2-ERG, TMPRSS2 ve ERG geninin bir füzyonudur ve prostat kanserlerinin %50'sinde saptanabilmektedir (Tomlins et al., 2005). Mi-prostat skoru, Michigan Üniversitesi tarafından geliştirilmiştir ve TMPRSS2-ERG, PCA3 ve serum PSA'nın kombinasyonundan oluşur. MiPS testinin ilk kez biyopsi yapılacak veya daha önce negatif biyopsisi olan ve tekrar biyopsi yapılması düşünülen hastalarda kullanılması önerilmektedir (Alford et al., 2017) ve prostat kanserinin tahminini iyileştirdiği gösterilmiştir (Tomlins et al., 2016).

#### **2.2.5.2.9 ExoDx**

Kanser hücreleri tarafından salgılanan eksozomlar, yüksek dereceli prostat kanseri için tanısal mRNA içerebilir (M. J. Donovan et al., 2015; McKiernan et al., 2016). ExoDx; ERG, PCA3 ve SPDEF eksozomal ekspresyonlarının değerlendirildiği bir testtir. Prostat kanseri hücrelerinde normal hücrelere göre çok daha yüksek düzeylerde eksozomlar sekrete edilmektedir. ExoDx idrar eksozom testinin kullanılmasıyla, standart yaklaşımla karşılaştırıldığında gereksiz biyopsilerin %20-37 arasında önlenildiği gösterilmiştir (McKiernan et al., 2016). Bununla birlikte, şu anda hem MiPS skoru hem de ExoDx testi deneysel amaçlı kabul edilmektedir ve henüz rutin kullanım için kılavuzda yer bulamamıştır (Mottet et al., 2021).

#### **2.2.5.3 Prostat biyopsisi**

Prostat kanserinin kesin tanısı patolojik değerlendirme ile mümkün olmaktadır. Şüpheli PRM bulgusu, PSA düzeyi veya görüntüleme bulgusu olan hastalara prostat

biyopsisi önerilmektedir. Yöntem olarak transperineal biyopsiye ilgide artış olsa da günümüzde halen çoğu merkezde transrektal ultrason eşliğinde prostat biyopsisi (TRUS-Bx) uygulanmaktadır.

PSA düzeyindeki sınırlı artışlar tek başına acil biyopsi uygulanmasını gerektirmez (Mottet et al., 2020). PSA düzeyi birkaç hafta sonra aynı laboratuvarında ve standart koşullar altında (ejakülasyon, manipülasyon veya idrar yolu enfeksiyonu olmadan) aynı test kullanılarak doğrulanmalıdır (Eastham et al., 2003). Bununla beraber asemptomatik hastada PSA'yı düşürmek için ampirik antibiyotik kullanımı önerilmemektedir (Eggener et al., 2013).

Prostatın transüretral rezeksiyonu (TUR-P) sonrası alınan dokular ile hastalar prostat kanseri tanısı alabilir ancak bu yöntem prostat kanserinin tespitinde bir araç olarak kullanılmamalıdır (Zigeuner et al., 2003).

#### **2.2.5.3.1 Prostat biyopsisi yöntemi**

Standart başlangıç biyopsilerinde örnekler apekten tabana kadar bilateral, periferik zondan, olabildiğince lateral ve posteriordaki bölgelerden olmalıdır. PRM sırasında şüpheli görülen bölgelerden ek biyopsiler alınmalıdır. Ayrıca TRUS sırasındaki şüpheli alanlardan ek biyopsi alınması düşünülmelidir (Mottet et al., 2020). Yaklaşık 30 cc boyutundaki prostatlardan en az 8 sistematik biyopsi (J. Donovan et al., 2003); daha büyük prostatlarda ise 10-12 biyopsi örneği alınması önerilmektedir (Eichler et al., 2006). Başlangıç biyopsisi öncesi multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme (mpMRG)'de şüpheli lezyon var ise kombine hedefe yönelik ve sistematik biyopsi uygulanması önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

#### **2.2.5.3.2 Biyopsi öncesi antibiyotik profilaksisi**

Prostat biyopsisi öncesi oral veya intravenöz antibiyotik profilaksisi uygulanmalıdır. Transrektal biyopsi için kinolonlar önerilmektedir ve siprofloksasinin oflaksasinden üstün olduğu gösterilmiştir (Aron et al., 2000). Üç günlük antibiyotik profilaksisinin, tek doz profilaksiye üstünlüğü bulunmamaktadır (Elshal et al., 2018). Artan kinolon direncine önlem olarak, TRUS-Bx öncesi rektal sürüntü örneği alınması ve hedefe yönelik antibiyotik profilaksisi veya povidon-iyot ile rektal dezenfeksiyon kinolon direnci için risk altındaki kişilere uygulanabilir (Roberts et

al., 2017). Transperineal biyopsi yöntemi ile rektal floradan kaçınılabilmektedir ve tek doz intravenöz sefazolin profilaksisi yeterlidir (Pepdjonovic et al., 2017). Ayrıca transperineal yöntem sonrası ateş riskinin transrektal yöntemle göre daha az olduğu yakın zamanda yapılmış bir meta-analiz ile bildirilmiştir (Xiang et al., 2019).

#### **2.2.5.3.3 Biyopsi öncesi lokal anestezi**

Prostat biyopsisi öncesi ultrason eşliğinde periprostatik blok uygulanması önerilmektedir (von Knobloch et al., 2002). Transperineal biyopsilerde perine cilt ve cilt altı dokusunun lokal anestezisi sonrası periprostatik blokaj uygulanmaktadır. Buna rağmen çalışmalar göstermiştir ki transperineal yaklaşım transrektal yaklaşıma göre ağrıyı anlamlı ölçüde arttırmaktadır (Xiang et al., 2019).

#### **2.2.5.3.4 Komplikasyonlar**

Hemospermi, TRUS-Bx sonrası görülen en sık komplikasyon olup bunu hematüri ve rektal kanama takip etmektedir (Tablo 4) (Carroll et al., 2015)

**Tablo 4 Transrektal prostat biyopsisi (TRUS-Bx) sonrası komplikasyonlar (Carroll et al., 2015)**

<b>Komplikasyonlar</b>	<b>Etkilenen hasta yüzdesi (%)</b>
Hemospermi	37,4
Hematüri > 1 gün	14,5
Rektal kanama < 2 gün	2,2
Prostatit	1,0
Ateş > 38°C	0,8
Epididimit	0,7
Rektal kanama > 2 gün +/- cerrahi girişim	0,7
Üriner retansiyon	0,2
Hastane yatışı gerektiren diğer komplikasyonlar	0,3

#### **2.2.5.3.5 Tekrar biyopsi**

İlk biyopsi sonucu negatif gelen hastalarda bazı durumlarda tekrar biyopsi önerilmektedir (Tablo 5) (Mottet et al., 2020).

**Tablo 5 Negatif prostat biyopsi sonucu olan hastalarda tekrar biyopsi endikasyonları** (Mottet et al., 2020)

Artan ve/veya persistan yüksek PSA
Şüpheli PRM bulgusu (%5-30 prostat kanser riski)
ASAP varlığı (tekrar biyopside %31-40 prostat kanser riski)
Geniş alanda (>3 biyopsi alanı) HGPIN varlığı (yaklaşık %30 prostat kanseri riski)
HGPIN hemen yanındaki birkaç atipik bez varlığı (yaklaşık %50 prostat kanser riski)
Soliter bir bulgu olarak intraduktal karsinom (>%90 yüksek dereceli prostat kanseri riski)
Pozitif mpMRG bulguları

**ASAP:** Atipik küçük asiner proloferasyon; **HGPIN:** Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi; **mpMRG:** Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme; **PRM:** Parmakla rektal muayene; **PSA:** Prostat spesifik antijen

Prostat kanseri riski yüksek olup daha önce negatif biyopsi sonucu olan hastalarda tekrar biyopsi kararı vermede PCA3 ve SelectMDX idrar testleri ile serum 4K skoru ve PHI testlerinin yeri tartışmalıdır ve maliyet-etkinlik açısından uygun olmadığı bildirilmiştir (Nicholson et al., 2015). Doku bazlı epigenetik bir test olan ConfirmMDx'in ise çok merkezli bir çalışmada negatif prediktif değerinin %88 olduğu bulunmuştur ve gereksiz tekrar biyopsilerin önlenebileceği yönünde yorumlanmıştır (Partin et al., 2014).

#### **2.2.5.3.6 Satürasyon biyopsisi**

Prostat kanseri tanısında tekrar biyopsi için uygulanan bir diğer yöntem 20'den fazla örnek alınan satürasyon biyopsisidir. Transrektal veya transperineal olarak uygulanabilen satürasyon biyopsisi ile saptanan prostat kanseri insidansı %30-43 arasında değişmektedir (Walz et al., 2006).

#### **2.2.5.3.7 Seminal vezikül ve transizyonel zon biyopsisi**

Seminal vezikül (evreleme) biyopsileri için endikasyonlar tam olarak tanımlanmamıştır. Seminal vezikül evreleme biyopsisi, yalnızca tedavi üzerinde

belirleyici bir etkiye sahip olması durumunda yararlıdır (Mottet et al., 2020). Transizyonel zon örneklemesinin başlangıç biyopsileri sırasında prostat kanseri tespit oranı düşüktür ve bu nedenle önerilmemektedir. Sadece tekrar biyopsilerde uygulanması düşünülmelidir (Pelzer et al., 2005).

#### **2.2.5.4 Görüntüleme**

##### **2.2.5.4.1 Transrektal ultrason (TRUS)**

Gri-skala TRUS, prostat kanserini saptamada güvenilir değildir ve hipoeoik lezyonlardan alınan ek biyopsilerin tanı için sağladığı ek fayda ihmal edilebilir düzeydedir (Rouvière et al., 2019).

Sonoelastografi, kontrastlı ultrasonografi veya yüksek çözünürlüklü mikro ultrason gibi yeni sonografik modaliteler tek başlarına ya da multiparametrik ultrason olarak adlandırılan kombine kullanımları ümit vericidir ancak günümüzde yerleri hala sınırlıdır (Mottet et al., 2020).

##### **2.2.5.4.2 Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme (mpMRG)**

Multiparametrik MRG (mpMRG), sekans olarak da bilinen hem anatomik hem de fonksiyonel görüntülerin kombinasyonundan oluşmaktadır (Hauth et al., 2015). T1 ağırlıklı (T1a) ve T2 ağırlıklı (T2a) genellikle anatomik, difüzyon ağırlıklı görüntüleme (DAG) ve dinamik kontrastlı MRG (Dk-MRG) ise genellikle fonksiyonel kabul edilir. Bu sekansların kombinasyonu, herhangi bir sekansın tek başına sağladığından daha doğru bir teşhis sağlar (Jambor et al., 2015).

Multiparametrik MRG'nin prostat kanserini saptamadaki başarısı ISUP derecesi ile değişmektedir. ISUP derece 1 prostat kanseri için duyarlılık %70, özgüllük %27 olarak saptanmışken, ISUP derece 3 ve üzeri prostat kanserinde duyarlılık %95, özgüllük %35'tir (Drost et al., 2019).

Prostat kanserinin tespitinde kullanılan mpMRG'nin değerlendirilmesi ve raporlandırılmasında 'Prostat Görüntüleme Raporlama ve Veri Sistemi' (PI-RADS: Prostate Imaging Reporting and Data System) adı altında bir kılavuz geliştirilmiştir (Barentsz et al., 2012). 2015 yılında ikinci versiyonu yayınlanan PI-RADSV2'de klinik olarak önemli prostat kanseri, gleason skoru 7 ve üstü ve/veya 0.5 cc ve üstü

tümör hacmi ve/veya ekstraprostatik uzanımı olan kanserler olarak tanımlanmıştır (Weinreb et al., 2016). Klinik olarak önemli prostat kanseri ihtimalini belirlemek için skorlama sistemi kullanılmaktadır (Tablo 6).

**Tablo 6 PI-RADS skorlarının değerlendirme kategorileri** (Weinreb et al., 2016)

Skor	Klinik anlamlı prostat kanseri ihtimali
PI-RADS1	Çok düşük (%0)
PI-RADS2	Düşük (%9,6)
PI-RADS3	Orta (%12)
PI-RADS4	Yüksek (%21)
PI-RADS5	Çok yüksek (%72,4)

**PI-RADS:** Prostate Imaging Reporting and Data System

Multiparametrik-MRG tarama amaçlı kullanımı önerilmemektedir ancak prostat biyopsisi planlanan tüm hastalar biyopsi öncesinde mpMRG ile değerlendirilmelidir. (Mottet et al., 2020).

Prostat kanserinin tanısında mpMRG kullanımının artması ile hedefe yönelik biyopsiler gündeme gelmiştir. TRUS-Bx'nin posterior yönelimli olması nedeniyle anteriordaki lezyonların atlanabilmesi ve ilk biyopsisi negatif olan hastalarda tekrarlayan sistematik TRUS-Bx'ler ile prostat kanseri tespitinin artması (Roehl et al., 2002) hedefe yönelik biyopsilere olan ilginin ve ihtiyacın artmasına sebep olmuştur. MRG kılavuzluğunda uygulanan hedefe yönelik biyopsiler MRG görüntüleri ile USG görüntülerinin birleştirilme esasına dayanır ve kognitif füzyon biyopsisi, direk MRG eşliğinde (in-bore) füzyon biyopsisi ve mpMRG/TRUS füzyon biyopsisi olarak 3 farklı yöntemle uygulanabilmektedir (Robertson et al., 2013).

PI-RADS skorunun 3 ve üzerinde olması pozitif mpMRG olarak değerlendirilmektedir. Daha önce biyopsi yapılmamış hastalarda, pozitif mpMRG mevcut ise kombine hedefe yönelik ve sistematik biyopsi, negatif mpMRG mevcut ise biyopsi kararının hasta ile beraber konuşularak verilmesi önerilmektedir. Negatif biyopsisi bulunan hastalarda tekrar biyopsi öncesi çekilen mpMRG'de pozitif bulgular mevcut ise sadece hedefe yönelik biyopsi, mpMRG negatif ise klinik prostat



kanseri şüphesi yüksek ise hastayla beraber karar verilerek sistematik biyopsi uygulanması önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

## **2.2.6 Klinik Evreleme ve Sınıflama**

### **2.2.6.1 Klinik Evreleme**

Prostat kanserinin evrelemede tümör, nod, metastaz (TNM) sınıflandırması kullanılmaktadır (Tablo 7). Klinik T evresi yalnızca PRM bulgularını ifade eder, görüntüleme bulguları dikkate alınmaz. Patolojik evreleme ise (pTNM), histopatolojik doku değerlendirmesine dayanır ve klinik evre T1c ve T2 alt grupları dışında büyük ölçüde klinik TNM ile paraleldir. Radikal prostatektomiden sonra tüm histopatolojik olarak doğrulanmış organa sınırlı prostat kanserleri patolojik evre T2'dir ve mevcut Uluslararası Kanser Kontrolü Birliği (UICC) artık pT2 alt gruplarını tanımamaktadır (Brierley et al., 2017). EAU, prostat kanseri evrelemede TNM sınıflamasının kullanılmasını önermektedir (Mottet et al., 2020).

Prostat kanserinin yayılımı PRM ve PSA ile değerlendirilir ve mpMRI, kemik taraması ve BT ile desteklenebilir.

#### **2.2.6.1.1 T evrelemesi**

Lokal evrelemede klinik T (cT) kategorisinin değerlendirilmesi PRM bulgularına dayanmaktadır. Görüntüleme ve biyopsi sonuçları henüz cT evrelemede yer almamaktadır (Mottet et al., 2021).

Transrektal USG'nin lokal evrelemede organa sınırlı hastalığı tahmin etmede PRM'ye üstün olmadığı gösterilmiştir (J. A. J. Smith et al., 1997).

Multiparametrik MRG'de (mpMRG) T2 ağırlıklı (T2a) görüntüleme lokal evreleme için en yararlı görüntülemedir. T3 evre tümör tespitinde nispeten düşük duyarlılığa rağmen yüksek özgüllüğe sahiptir. 3 Tesla mpMRG kullanımı ya da T2a görüntülerine fonksiyonel görüntülemelerin eklenmesi ekstraprostatik uzanım veya seminal vezikül invazyonunun tespitinde duyarlılığı arttırmaktadır (de Rooij et al., 2016).

**Tablo 7 Prostat kanserinde klinik TNM evrelemesi (Brierley et al., 2017)**

<b>T – Primer tümör (yalnızca parmakla rektal muayeneye dayalı)</b>	
Tx	Primer tümör değerlendirilemiyor
T0	Primer tümöre dair kanıt yok
T1	Palpe edilemeyen klinik olarak belirsiz tümör T1a = Tümör rezeke edilen dokunun %5 ya da daha azında insidental olarak bulunmuştur T1b = Tümör rezeke edilen dokunun %5'inden daha fazlasında insidental olarak bulunmuştur T1c = Tümör iğne biyopsi (PSA yüksekliği gibi bir nedenle) ile belirlenmiştir
T2	Palpe edilebilen, prostata sınırlı tümör T2a = Tümör bir lobun yarısını ya da daha azını tutmuştur T2b = Tümör bir lobun yarısından fazlasını tutmuştur, ancak iki lobu değil T2c = Tümör iki lobu birden tutmuştur
T3	Prostatik kapsülünü tutmuş T3a = Unilateral ya da bilateral ekstrakapsüler tutulum T3b = Tümör seminal vezikülleri tutmuştur
T4	Tümör fikse ya da seminal vezikül dışındaki komşu yapılara invaze olmuş: Eksternal sfinkter, rektum, levator kasları ve/veya pelvik duvar
<b>N – Bölgesel (pelvik) lenf nodları<sup>1</sup></b>	
Nx	Bölgesel lenf nodları değerlendirilemiyor
N0	Bölgesel lenf nodu metastazı yok
N1	Bölgesel lenf nodu metastazı var
<b>M – Uzak metastaz<sup>2</sup></b>	
M0	Uzak metastaz yok
M1	Uzak metastaz var M1a = Bölgesel olmayan lenf nodu M1b = Kemik M1c = Diğer bölgeler

PSA: Prostat spesifik antijen

<sup>1</sup> 0,2 cm'den büyük olmayan metastazlar pNmi olarak adlandırılabilir.

<sup>2</sup> Birden fazla metastaz bölgesi mevcut olduğunda, en gelişmiş kategori kullanılır. (p)M1c en gelişmiş kategoridir.

Multiparametrik MRG, lokal evreleme için mükemmel olmasa da, klinik verilerle birlikte değerlendirildiğinde patolojik evrenin tahminini iyileştirebilir (Wang et al., 2004).

Mikroskobik düzeye ekstraprostatik uzanım tespitinde mpMRG yetersizdir ve bu nedenle düşük riskli hastalarda lokal evreleme için önerilmez (Engelbrecht et al., 2001; Wang et al., 2004). Ancak, tedavi planlaması için faydalı olabilir (Albert et al., 2013).

#### **2.2.6.1.2 N evrelemesi**

Lenf nodu invazyonunun değerlendirilmesi, abdominal bilgisayarlı tomografi (BT) veya T1-T2 ağırlıklı MRG ile lenf nodu çapı ve morfolojisine bakılarak yapılabilir. Kısa eksen pelviste  $> 8$  mm, pelvisin dışında  $> 10$  mm olan lenf nodları malign olarak kabul edilmektedir ancak boyut ile ilgili ideal eşik değer hala belirsizdir (Abuzallouf et al., 2004; Kiss et al., 2016).

Kolin pozitron emisyon tomografi (PET)/BT'nin lenf nodu invazyonunu saptamadaki duyarlılığı, yüksek risk altındaki hastalarda %50'ye ve çok yüksek risk altındaki hastalarda %71'e yükselir ve her iki durumda da kontrastlı BT'den daha iyi performans gösterir (Schiavina et al., 2018). Bununla birlikte difüzyon ağırlıklı MRG ile karşılaştırıldığı çalışmalar çelişkilidir (Heck et al., 2014; Pinaquy et al., 2015; Van den Bergh et al., 2015). Pelvik lenf nodu metastazlarının değerlendirildiği bir metaanalizde kolin PET/BT'nin duyarlılığı %62 özgüllüğü %92 olarak bulunmuştur (von Eyben & Kairemo, 2014).

$^{68}\text{Ga}$  veya  $^{18}\text{F}$  ile işaretlenmiş prostat spesifik membran antijeni (PSMA) PET/BT, lezyon saptama oranındaki başarısı nedeniyle giderek daha fazla kullanılmaktadır. PSMA'nın, diğer prostat dışı malignitelerde, sarkoidozda veya iyi huylu kemik hastalıklarındaki ekspresyonu yanlış pozitif bulgulara neden olsa da, prostat dokusu için özgüllüğü yüksektir (Maurer et al., 2016; Dias et al., 2017; Froehner et al., 2017; Jochumsen et al., 2018;). PSMA PET/BT; mpMRI, abdominal kontrastlı BT veya kolin PET/BT'ye kıyasla lenf nodu metastazları için daha yüksek duyarlılığa sahiptir, ancak 5 mm'nin altındaki küçük lenf nodu metastazları gözden kaçabilmektedir (Mottet et al., 2020).

### 2.2.6.1.3 M evrelemesi

Prostat kanserinin kemik metastazlarını değerlendirmede en yaygın kullanılan yöntem <sup>99m</sup>Tc-Kemik sintigrafisidir ve yakın zamanda yayınlanmış bir meta-analizde duyarlılığı %79 özgüllüğü %82 olarak bildirilmiştir (Shen et al., 2014). PSA düzeyi, klinik evre ve tümörün ISUP derecesi kemik taraması pozitifliğinin bağımsız belirleyicileridir ve kemik taramasının tanısal gücünü önemli ölçüde etkilerler (Briganti et al., 2010). Semptomatik hastalarda; PSA düzeyi, ISUP derecesi veya klinik evreden bağımsız olarak kemik taraması yapılması önerilmektedir (Abuzallouf et al., 2004).

<sup>18</sup>F-sodyum florid (<sup>18</sup>F-NaF) PET ya da PET/BT kemik sintigrafisi ile benzer özgüllüğe sahip olmakla birlikte duyarlılığı daha yüksektir (Evangelista et al., 2016; Tateishi et al., 2010) ancak kemik sintigrafisi ile karşılaştırıldığında maliyet-etkinliğinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan kolin PET/BT'den farklı olarak lenf nodu metastazlarını gösterememektedir (Ayyathurai et al., 2006).

Difüzyon ağırlıklı tüm vücut MRG, kemik metastazlarını saptamada kemik sintigrafisi ve abdominopelvik BT'ye göre daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Kolin PET/BT ile karşılaştırıldığında ise duyarlılığı daha yüksek olmasına rağmen özgüllüğü daha düşüktür.

Kemik sintigrafisi ve <sup>18</sup>F-NaF PET/BT yalnızca kemik metastazlarını değerlendirebilirken, kolin PET/BT ve difüzyon ağırlıklı MRG'nin visceral metastazları da saptayabileceği akılda tutulmalıdır.

<sup>68</sup>Ga-PSMA PET/BT'nin başlangıç evrelemedeki performansı ile ilgili veriler sınırlıdır ancak artmaya devam etmektedir. Sistematik bir derlemenin sonuçlarına göre lezyon başına analizde hayli değişken duyarlılığa (%33-92) rağmen özgüllük oranları (%82-100) başarılıdır ve kemik sintigrafisi ve BT'ye göre daha yüksek metastaz saptama oranlarına sahiptir (Corfield et al., 2018).

Kolin PET/BT, <sup>68</sup>Ga-PSMA PET/BT ve difüzyon ağırlıklı MRG lenf nodu ve kemik metastazlarını belirlemede kemik sintigrafisi ve BT'ye göre daha üstündür ve başlangıç evrelemede metastaz taramasında tercih edilmesi daha cazip

görülmektedir. Ancak metastazları daha erken saptamanın klinik yararı belirsizdir (Perera et al., 2016) ve bu görüntülemeler sayesinde metastatik hastalık tanısı alan hastaların prognozu ve ideal takip ve tedavi yönetimi ile ilgili kanıtlar yetersizdir (Hicks et al., 2017).

#### 2.2.6.2 D'Amico sınıflaması

Prostat kanserinde, radikal prostatektomi veya radyoterapi sonrası biyokimyasal rekürrens riskini belirlemek amacıyla sınıflama sistemi geliştirilmiştir (Cooperberg et al., 2005). Bu sınıflamada PSA düzeyi, Gleason skoru, klinik evre (cT) kullanılmaktadır (Tablo 8).

**Tablo 8 Lokalize ve lokal ileri prostat kanserinde biyokimyasal rekürrens için EAU risk sınıflaması** (Mottet et al., 2020)

Düşük risk	Orta risk	Yüksek risk	
PSA<10 ng/mL ve GS<7 (ISUP 1) ve cT1-2a	PSA: 10-20 ng/mL yada GS:7 (ISUP 2/3) yada cT2b	PSA>20 ng/mL yada GS>7 (ISUP 4/5) yada cT2c	herhangi PSA herhangi GS cT3-4 yada cN+
<b>Lokalize</b>			<b>Lokal ileri</b>

**GS:**Gleason skoru; **ISUP:** International Society for Urological Pathology; **PSA:**Prostat spesifik antijen

EAU'nun belirlenen risk gruplarına göre evrelemede kullanılmasını önerdiği görüntüleme yöntemleri Tablo 9'da özetlenmiştir.

**Tablo 9 EAU'nun prostat kanseri risk gruplarına göre evreleme için görüntüleme önerileri (Mottet et al., 2020)**

	<b>Kanıt düzeyi</b>	<b>Öneri derecesi</b>
<b>Herhangi risk grubu</b>		
Lokal evreleme hakkında bilgi edinmek için biyopsi öncesi mpMRG kullanın	2a	Zayıf
<b>Düşük risk lokalize hastalık</b>		
Evreleme amacıyla ek görüntüleme kullanmayın	2a	Güçlü
<b>Orta risk lokalize hastalık</b>		
ISUP derece 3 hastalıkta metastaz taraması için en azından kesitsel abdominopelvik görüntüleme ve kemik sintigrafisi uygulanmalıdır.	2a	Zayıf
<b>Yüksek risk lokalize hastalık / lokal ileri hastalık</b>		
En az kesitsel abdominopelvik görüntüleme ve kemik sintigrafisini içeren metastatik tarama gerçekleştirin.	2a	Güçlü

ISUP:International Society of Urological Pathology; mpMRG: Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme

## 2.2.7 Tedavi

Prostat kanserinin tedavisinde seçilecek yöntem; hastanın yaşı, hayat kalitesi, yaşam beklentisi, komorbiditeleri gibi hastayla ilgili faktörlerin yanı sıra hastalığın evresi ve risk grubuna göre karar verilmektedir. Lokalize ve lokal ileri hastalıkta; konservatif yöntemler (aktif izlem, bekle-gör), radikal prostatektomi, radyasyon tedavisi, hormonal tedavi ve diğer deneysel tedaviler uygulanabilecek tedavi modaliteleridir.

### 2.2.7.1 Ertelenmiş tedavi (konservatif tedavi)

Lokalize hastalıkta, lokal tedaviden herhangi bir fayda sağlanabilmesi için en az 10 yıllık bir yaşam beklentisinin olması gerektiği kabul edilir (Mottet et al., 2020). T1/T2 ve ISUP derecesi 2'nin altında olan hastalarda konservatif yaklaşım ile takip sonucu kansere özgü sağkalım oranlarının %80-95 olduğu bildirilmiştir (Lu-Yao et al., 2009). Komorbiditelerin artması da kısa yaşam beklentisi olan erkekler için

prostat kanserine bağılı olmayan nedenlerden ölüm riskini arttırır. Küratif tedavi verilmeyen 65 yaş üstü 19 639 hastanın 10 yıllık izleminde, Charlson komorbidite indeksi (CCI) skoru  $> 2$  olan çoğu erkeğin, başlangıç yaşı ne olursa olsun 10 yılın sonunda diğere nedenlerden dolayı hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Albertsen et al., 2011). Aktif izlem ve bekle-gör, aşırı tedaviden ve tedavinin komplikasyonlarından kaçınmak için uygulanabilecek stratejilerdir. Hastaların, aktif tedavilerin yan etkileri olacağı yönünde bilgilendirilmesi gerektiği önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

#### **2.2.7.1.1 Aktif izlem**

Aktif izlem, klinik olarak lokalize prostat kanserli, acil tedavi gerektirmeyen erkeklerde küratif tedavi için doğru zamanlamayı sağlar ve bu sayede gereksiz tedaviden kaçınmayı amaçlamaktadır (Bruinsma et al., 2017). Bu yöntemi standart tedaviyle karşılaştıran resmi bir randomize kontrollü çalışma mevcut değildir. Aktif izlemin kime uygulanması gerektiği ile ilgili kesin kriterler bulunmamaktadır ancak konsensus grubunun benimsediği kriterler kabul görmektedir. ISUP derece 1, T1c/T2a, PSA $<10$  ng/mL ve PSAD $<0,15$  ng/mL/cc en çok kabul gören kriterlerdir (Thomsen et al., 2014; Loeb et al., 2015). Biyopside maksimum kor sayısı veya maksimum kor tutulum yüzdesi ile ilgili fikir birliği bulunmamaktadır (Lam et al., 2019).

Aktif izlemdaki hastaların takibinde yılda en az bir kere PRM, en az 6 ayda bir PSA düzeyi ölçülmesi ve biyopsi tekrarları önerilmektedir (Lam et al., 2019). mpMRG'nin takipte kanser progresyonunu öngörmeye başarısı ile ilgili olumlu sonuçlar mevcuttur (Schoots et al., 2017; Gallagher et al., 2019) ve EAU tarafından PSA progresyonu, PRM ile klinik progresyon ya da radyolojik olarak mpMRG'de progresyon saptanması halinde biyopsi tekrarı önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

#### **2.2.7.1.2 Bekle-gör**

Bekle-gör stratejisi, en başından itibaren küratif tedavi için uygun olmadığı düşünülen hastalara uygulanır. Hastalar, hastalıkları ilgili şikayetler ve lokal veya sistemik progresyon açısından takip edilir ve semptomlarına göre yaşam kalitesini sürdürmek için palyatif olarak tedavi edilirler.

Radikal prostatektomi ile bekle-gör stratejisinin randomize edilerek karşılaştırıldığı SPCG-4 çalışmasında, 13,4 yıl medyan takip süresinde radikal prostatektomi daha iyi kansere özgü sağkalım, genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (Bill-Axelsson et al., 2014). Diğer yandan başka bir çalışmada 12,7 yıllık medyan takip süresinde radikal prostatektominin, PSA>10 ng/mL veya yüksek riskli hastalarda genel sağkalım üzerindeki yararı dışında bekle-gör stratejisine üstünlüğü saptanmamıştır (Wilt et al., 2017). EAU kılavuzunda yaşam beklentisi 10 yıldan kısa olan hastalara komorbiditeleri de göz önünde bulundurularak bekle-gör politikasının önerilmesi vurgulanmaktadır (Mottet et al., 2020).

### **2.2.7.2 Radikal prostatektomi**

Radikal prostatektominin amacı mümkün olduğunca pelvik organ fonksiyonlarının korunarak, herhangi bir yaklaşımla kanserli dokunun çıkarılmasıdır (Adolfsson, 2008). Cerrahideki hedef prostatın kapsülü sağlam bir şekilde seminal veziküller ile birlikte çıkarılması, ardından veziko-üretral anostomoz yapılmasıdır. Cerrahi teknik geçmişten günümüze gelişim göstermiştir. Daha önceleri perineal ve açık retropubik yaklaşım uygulanmaktayken, sonraları laparoskopik ve robot yardımcı teknikler tanımlanmış ve yaygınlaşmıştır. Dorsal venöz kompleksin ve kavernöz sinirlerin anatomisi hakkındaki bilgilerin yıllar içindeki artışı erektil fonksiyonun korunmasına fayda sağlamıştır (Hatzinger et al., 2012).

Radikal prostatektomi ilk olarak 1904 yılında Young tarafından perineal yaklaşım olarak tariflenmiş, ancak pelvik lenf nodlarına ulaşım yeterli olmamıştır (Hatzinger et al., 2012). Açık retropubik yaklaşım 1982 yılında dorsal venöz kompleksin ve kavernöz sinirlerin anatomik olarak tarif edilmesinin ardından daha popüler hale gelmiştir (Walsh & Donker, 1982). Laparoskopik yöntemlerin gelişmesi ile birlikte 1997'de laparoskopik radikal prostatektomi transperitoneal yaklaşımla (Schuessler et al., 1997), robotik teknolojinin geliştirilmesinin ardından ise 2002 yılında robot yardımcı radikal prostatektomi uygulanmaya başlandı (Binder et al., 2002).

Radikal prostatektomi için uygulanan tekniklerin artması, hangi tekniğin uygulanması gerektiği ile ilgili soruyu da beraberinde getirmiştir ve bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. Robot yardımcı radikal prostatektomi veya laparoskopik radikal prostatektomi ile açık radikal prostatektomi karşılaştıran yakın tarihli bir



Cochrane analizinde, postoperatif onkolojik, üriner ve cinsel fonksiyon sonuçları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak; robot yardımlı radikal prostatektomi ve laparoskopik radikal prostatektominin her ikisi de hastanede kalış süresi ve kan transfüzyonu oranları bakımından açık prostatektomiye üstün bulunmuştur (Ilic et al., 2017). Hastaların hiçbir cerrahi yaklaşımın (açık, laparoskopik veya robotik yardımlı radikal prostatektomi) fonksiyonel veya onkolojik sonuçlar açısından açıkça üstünlük göstermediği hakkında bilgilendirilmesi önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

Radikal prostatektomi sırasında pelvik lenf nodu diseksiyonunun onkolojik sonuçları iyileştirme açısından başarısız olduğunu gösteren çalışmalar olsa da, evreleme ve prognoz için şu anda mevcut olan diğer herhangi bir prosedürle karşılaştırılmayacak düzeyde önemli bilgiler sağladığı kabul edilmektedir (Fossati et al., 2017). Pozitif lenf nodu bulma riskini değerlendirmek için çeşitli nomogramlar geliştirilmiştir ve riskin %5'in üzerinde olması genişletilmiş pelvik lenf nodu diseksiyonu için endikasyon kabul edilmektedir (Dell'Oglio et al., 2014). Genişletilmiş lenf nodu diseksiyonunda; eksternal iliak arter ve ven üzerindeki lenf nodlarının, obturator fossada obturator siniri örten lenf nodlarının ve internal iliak arterin etrafındaki lenf nodlarının çıkartılması gerekmektedir ve bu şekilde hastaların %94'ü doğru şekilde evrelendirilebilir (Mattei et al., 2008). Güncel EAU kılavuzu, eğer lenf nodu diseksiyonu gerekli görüldüyse, optimum evreleme için genişletilmiş lenf nodu diseksiyonu yapılmasını önermektedir (Mottet et al., 2020).

Cerrahi tedavi sonrası en önemli iki sorun üriner inkontinans ve erektil disfonksiyondur. Yayınlanmış birçok çalışma, uygulanan cerrahi yöntemler arasında belirgin fark olmadığını göstermiştir (Maffezzini et al., 2003; Haglind et al., 2015).

### **2.2.7.3 Radyasyon tedavisi**

Radyasyon tedavisi, eksternal radyoterapi, brakiterapi ve proton ışın terapisi olarak uygulanabilmektedir. Eksternal radyoterapi ise yoğunluk ayarlı radyoterapi ve volumetrik ark radyoterapisi olarak ikiye ayrılmaktadır ve volumetrik ark radyoterapisinin avantajı 2-3 dakika kadar daha kısa olan tedavi süresidir (Mottet et al., 2020).

Radyoterapi tek başına uygulanabilmesine rağmen özellikle luteinize edici hormon salgılayıcı hormon (LHRH: luteinizing hormone releasing hormone) agonistleri ile kombinasyonunun çok daha üstün sonuçlara ulaştığı gösterilmiştir (Pilepich et al., 2005; D'Amico et al., 2008; Bolla et al., 2010) ve orta risk hastalarda 6 ay, yüksek risk hastalarda ise 3 yıl boyunca androjen deprivasyon tedavisinin uygulanması önerilmektedir (Mottet et al., 2020)

ProtecT çalışmasında, radikal prostatektomi ile radyoterapi arasında ortalama 10 yıllık takip süresinde tüm onkolojik sonuçlar açısından hiçbir fark saptanmamıştır (Hamdy et al., 2016).

Brakiterapi, düşük doz veya yüksek doz olarak iki şekilde uygulanmaktadır. Prostata düşük doz uygulamada kalıcı, yüksek doz uygulamada ise geçici olarak implante edilen radyoaktif kaynak ile radyasyon tedavisi uygulanmaktadır. Yüksek doz brakiterapi sıklıkla eksternal radyoterapi ile birlikte uygulanmaktadır (Galalae et al., 2002) ve önerilecek düşük ve orta riskli hastalar, yüksek doz brakiterapi ile ilgili bilgilerin yüksek deneyime sahip merkezlerdeki sınırlı verilere dayandığı hakkında bilgilendirilmelidir (Hauswald et al., 2016). Eksternal radyoterapide uygulama için bir kriter bulunmazken düşük doz brakiterapi için uygunluk kriterleri mevcuttur (Tablo 10) (Martens et al., 2006). Düşük doz brakiterapi, orta ve yüksek risk hastalarda eksternal radyoterapi ile kombine edilebilir (Mottet et al., 2020).

**Tablo 10 Prostat kanserinde brakiterapi uygulama kriterleri** (Martens et al., 2006)

Evrelemede, cT1b-T2a, N0, M0 olması
ISUP derece 1 olan biyopsi korlarında tutulum oranının %50'nin altında olması
ISUP derece 2 olan biyopsi korlarında tutulum oranının %33'ün altında olması
Başlangıç PSA düzeyinin 10 ng/mL'nin altında olması
Prostat hacminin 50 cm <sup>3</sup> 'ün altında olması
IPSS'nin 12'nin altında olması
Üroflowmetride maksimal akış hızının 15mL/dk üstünde olması

**IPSS:** Uluslararası prostat semptom skoru; **ISUP:** International Society of Urological Pathology;

**PSA:** Prostat spesifik antijen

Foton ışını terapisine alternatif olarak gündeme gelen proton ışın terapisi hakkında veriler henüz yetersizdir. Uzun dönem gastrointestinal toksisite açısından daha elverişli görünse de (Sheets et al., 2012) karşılaştırmalı çalışmalar devam etmektedir ve henüz ümit verici ancak deneysel tedavi olarak yer bulabilmektedir.

#### **2.2.7.4 Hormonal tedavi**

Prostat kanserinin tedavisinde androjen yoksunluğunun etkinliği ilk olarak 1941 yılında Huggins ve Hodges tarafından ortaya konmuştur (Huggins et al., 1941). Zaman içinde gelişen ilaçlar ile birlikte günümüzde prostat kanserinde tedavi amaçlı kullanılmaktadır.

Androjen deprivasyon tedavisi (ADT), androjenlerin salgılanmasının baskılanması veya dolaşımdaki androjenlerin reseptör düzeyinde etkilerinin inhibe edilmesi yoluyla uygulanabilen tedavi yöntemidir. Bu iki yöntemin anti-androjen ilaçlar ile kombine edilmesiyle komplet androjen blokajı elde edilir (Pagliarulo et al., 2012). ADT’de ana amaç testosteron seviyesinin düşürülmesi yani kastrasyon sağlanmasıdır. Kastrasyon düzeyinin eşik değeri daha önceleri 50 ng/dL olarak kabul edilmekteydi ancak yapılan son çalışmalar daha düşük testosteron seviyelerinde sonuçların daha iyi olduğu göstermiştir (Morote et al., 2009; Pickles et al., 2012) ve 20 ng/dL’nin altındaki testosteron seviyeleri kastrasyon düzeyi olarak kabul edilmeye başlanmıştır (Mottet et al., 2020).

##### **2.2.7.4.1 Cerrahi kastrasyon**

Kastrasyon cerrahi olarak bilateral orşiektomi veya subkapsüler pulpektomi uygulanarak sağlanabilmektedir. Basit ucuz ve neredeyse komplikasyonsuz bir yöntemdir ve ADT için primer tedavi yöntemi olarak kabul edilmektedir. 12 saatten daha kısa sürede kastrasyon düzeyine ulaşılır ve en hızlı yöntemdir (Desmond et al., 1988).

##### **2.2.7.4.2 Östrojenler**

Östrojen tedavisi ile testosteron düzeyi baskılanabilmektedir ancak özellikle tromboembolik komplikasyonlar gibi ciddi yan etkilerden dolayı birinci basamak tedavi olarak kabul edilmemektedir (L Klotz et al., 1999).

#### **2.2.7.4.3 LHRH agonistleri**

Androjen deprivasyon tedavisinde medikal kastrasyon için kullanılan başlıca ilaçlar uzun etkili LHRH agonistleridir. LHRH'nın sentetik analogları 1,2,3,6 aylık veya yıllık olarak depo enjeksiyonları olarak uygulanmaktadır. LHRH agonistlerine uzun süreli maruziyet LHRH reseptörlerinin baskılanmasına, bu sayede folikül uyarıcı hormon (FSH: Follicle stimulating hormone) ve lüteinleştirici hormon (LH: luteinizing hormone) sekresyonunun azalmasına ve nihayetinde testosteron üretiminin azalmasına neden olur. Kastrasyon düzeyine genellikle 2-4 hafta içinde ulaşılır. Önemli yan etkileri ilk uygulamadan sonra başlayan ve 1 hafta kadar süren LH ve FSH'da geçici bir artışın görüldüğü alevlenme (flare) fenomenidir (Bubley, 2001). Anti-androjenler ile birlikte kullanıldığında alevlenme insidansı azalmaktadır ancak tamamen ortadan kalkmaz. Genellikle 4 hafta kadar antiandrojen tedavinin kullanılması önerilmektedir ancak zamanlaması ve süresi ile ilgili güçlü kanıtlar mevcut değildir (Krakowsky & Morgentaler, 2019).

#### **2.2.7.4.4 LHRH antagonistleri**

LHRH antagonistleri, LHRH reseptörlerine hızlıca bağlanırlar ve herhangi bir alevlenme olmaksızın LH, FSH ve testosteron seviyelerinde hızlı bir düşüşe yol açarlar. Çoğu hastada üçüncü günde kastrasyon seviyesine ulaşılır (Klotz et al., 2008). Bu bileşiklerin LHRH agonistlerine göre dezavantajları ise uzun etkili depo formlarının olmayıp sadece aylık olarak uygulanabilmesi ve alerjik yan etkilerdir. LHRH agonistleri ile karşılaştırıldığı çalışmalar yetersizdir ve LHRH agonistlerine üstünlüğünü gösteren kanıt mevcut değildir (Sciarra et al., 2016).

#### **2.2.7.4.5 Anti-androjenler**

Anti-androjen ilaçlar kimyasal yapılarına göre steroid yapıda olanlar (siproteron asetat, megesterol asetat, medroksiprogesteron) ve non-steroidler (nilutamid, flutamid, bikalutamid) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Her iki grup ilaçlar da androjenler ile reseptör düzeyinde yarışarak etki gösterirler ve testosteronu baskılamaz hatta hafif yükselmesine neden olabilirler (Y. Chen et al., 2009).

Steroid yapıda anti-androjenler, hidrokspogesteronun sentetik türevleridir. Kastrasyona sekonder gelişen jinekomasti gibi nadir farmakolojik yan etkilerinin

yanında, kardiyovasküler toksisite ve hepatotoksisite önemli yan etkileridir (Mottet et al., 2020).

Non-steroid anti-androjen monoterapisi testosteron sekresyonunu baskılamamaktadır ve libido ve kemik mineral yoğunluğunun genel olarak korunduğu iddia edilmektedir (Smith et al., 2004). Farmakolojik yan etkiler ajanlar arasında farklılık gösterir. Bikalutamid, flutamid ve nilutamide göre monoterapide daha güvenli ve daha iyi tolere edilebilir ajan olarak öne çıkmaktadır (Iversen, 2002).

#### **2.2.7.4.6 Yeni nesil ilaçlar**

Androjen deprivasyon tedavisinin uygulanmasının ardından zamanla gelişebilecek kastrasyon direnci yeni tedavi arayışlarına neden olmuştur. Kastrasyon direncinin oluşumunda AR bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki ana mekanizmanın öncülük ettiği düşünülmektedir. Kastrasyon dirençli prostat kanserinde, hücre içi artmış androjen seviyesine adaptasyon mekanizması olarak AR ekspresyonunda artış meydana gelmektedir (Montgomery et al., 2008).

Abirateron asetat steroid yapıda bir moleküldür ve CYP17 inhibitörüdür. Etkisini 17 $\alpha$ -hidrolaz ve 17,20 liyaz inhibisyonu üzerinden sağlamaktadır. CYP17 inhibisyonu ile adrenalde ve kanser hücrelerinin içinde testosteron sentezi baskılanır ve hücre içi testosteron seviyesi azalır.

Enzalutamid, apalutamid ve darolutamid yeni nesil non-steroid anti-androjenler olarak sınıflandırılmaktadırlar ve bikalutamide göre AR'lere daha güçlü bağlanırlar. Ayrıca önceki non-steroid anti-androjenlerden farklı olarak, AR'lerin hücre çekirdeğine transferini engelleyerek olası agonist benzeri etkilerin önüne geçerler (Chen et al., 2009).

#### **2.2.7.5 Deneysel tedaviler**

##### **2.2.7.5.1 Kriyoterapi**

Kriyoterapi, prostat dokusuna TRUS rehberliğinde yerleştirilen iğne yardımıyla sıcaklığın -40°C'ye kadar düşürülmesi ile sağlanan dehidrasyon sonucu hücre ölümünün indüklenmesi esasına dayanır. Dehidrasyon sonucu protein denatürasyonu

gelişir ve ayrıca hücrel membranlar oluşan buz kristalleri, vasküler staz ve mikrotrombüsler ile rüptüre olur (Fahmy & Bissada, 2003).

Kriyocerrahinin başlıca yan etkileri erektil disfonksiyon (% 18), üriner inkontinans (% 2-20), üretral sarkma (% 0-38), rektal ağrı ve kanama (% 3) ve rekto-üretral fistül (% 0-6) oluşumudur (Ramsay et al., 2015).

Lokalize prostat kanserinde küratif bir tedavi seçeneği olarak tüm bez kriyocerrahisinin onkolojik sonuçlarına ilişkin prospektif karşılaştırmalı veri eksikliği vardır ve çoğu çalışma kısa takip süresi olan vaka serileridir (Ramsay et al., 2015).

#### **2.2.7.5.2 Yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrason (HIFU)**

Yüksek yoğunluklu odaklanmış ultrason (HIFU: high intensity focused ultrasound), odaklanmış ultrason dalgalarının kavitasyon yapmasının yanı sıra mekanik ve termal etkileriyle doku hasarına neden olması esasına dayanır. HIFU ile malign dokular 65°C üzerinde ısıtılır ve bu sayede koagülasyon nekrozu gelişir.

Başlıca yan etkileri; erektil disfonksiyon (%23), rektal ağrı veya kanama (%11), akut üriner retansiyon (%10), üriner inkontinans (%10) üretral darlık (%8), rekto-üretral fistüldür (%0-5) (Ramsay et al., 2015). Büyük prostatlarda (>40 cc) tam ablasyonunun sağlanmasında ve prostatın ön bölgesindeki kanserleri hedeflemede yetersiz kalır.

Kriyocerrahiye benzer şekilde, onkolojik sonuçlara ilişkin uzun dönemli prospektif karşılaştırmalı veriler yetersizdir ve henüz tüm bez HIFU, küratif tedavi seçeneklerine bir alternatif olarak görülememektedir (Ramsay et al., 2015).

#### **2.2.7.5.3 Fokal tedavi**

Prostat kanseri için tarama yöntemlerinin gelişmesi ve yaygınlaşması erken teşhiste artışı beraberinde getirmektedir. Bunun sonucunda prostat hacminin %5-10'unu kaplayan tek odaklı veya tek taraflı daha küçük tümörleri olan erkeklerin tanı almasına olan eğilim artmıştır (Polascik et al., 2008). Fokal tedavide temel amaç nörovasküler demet, üretra ve sfinkter korunurken tümörlerin selektif olarak ortadan kaldırılmasıdır (Eggerer et al., 2007). Fokal tedavi için kullanılan yöntemlerin çoğu

ablatif yöntemlerden oluşmaktadır ve başlıcaları kriyoterapi, HIFU, fotodinamik terapi, elektroporasyon ve fokal radyoterapidir. Bu tedavi modalitelerinin standart tedaviler olan radikal prostatektomi ve radyoterapi ile karşılaştırıldığı çalışmalar ve veriler sınırlıdır. Yakın zamanda yayınlanmış sistematik derlemede; fokal tedaviler ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunun tek merkezli, karşılaştırmalı olmayan, retrospektif dizaynda olması, ayrıca tanımların, yaklaşımların, takip stratejilerinin, sonuçların ve takip sürelerinin heterojen olması nedeniyle kanıtların genel kalitesi düşük olarak değerlendirilmiştir (Valerio et al., 2017). Güncel kılavuzlar da, fokal terapinin şu an için yalnızca klinik araştırma veya iyi tasarlanmış prospektif kohort çalışmalarında uygulanması gerektiğini önermektedir (Mottet et al., 2020).

### 2.2.8 Metastatik Prostat Kanseri ve Tedavisi

Metastatik prostat kanserinin tedavisi ile ilgili şimdiye kadar olan veriler, kemik sintigrafisi ve BT taraması ile konan M1 hastalık tanımına dayalıdır. Daha yeni ve daha hassas görüntülemelerin metastatik hastalık tedavisi ve sonuçları üzerindeki etkisi henüz değerlendirilmemiştir. Yeni tanı metastatik prostat kanserinde hastaların medyan sağkalımı yaklaşık 42 ay olarak saptanmıştır (James et al., 2015). CHAARTED (Sweeney et al., 2015; Kyriakopoulos et al., 2018) ve LATITUDE (Fizazi et al., 2017) çalışmalarında hastalık hacmi veya yükü metastatik prostat kanserinde potansiyel öngörücü olarak tanımlanmıştır (Tablo 11).

**Tablo 11 Metastatik prostat kanserinde CHAARTED ve LATITUDE çalışmalarına göre hacim ve risk tanımlaması** (Mottet et al., 2020)

	Yüksek	Düşük
CHAARTED (hacim)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\geq 4</math> kemik metastazı (en az 1'i vertebra dışında olmalı)</li> </ul> <p>veya</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• viseral metastaz</li> </ul>	Diğerleri
LATITUDE (risk)	<p><math>\geq 2</math> yüksek risk özelliği olması</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\geq 3</math> kemik metastazı</li> <li>• Viseral metastaz</li> <li>• <math>\geq</math> ISUP derece 4</li> </ul>	Diğerleri

**ISUP:** International Society of Urological Pathology

Prognozla ilgili bir diğer gösterge ADT'den sonra 7. ayda bakılan PSA değerlerine göre tanımlanmıştır (Tablo 12) (Hussain et al., 2006).

**Tablo 12 Metastatik prostat kanserinde ADT sonrası PSA düzeyine göre prognoz** (Hussain et al., 2006)

ADT sonrası 7. ay PSA düzeyi	Medyan sağkalım
< 0,2 ng/mL	75 ay
0,2-0,4	44 ay
> 0,4	13 ay

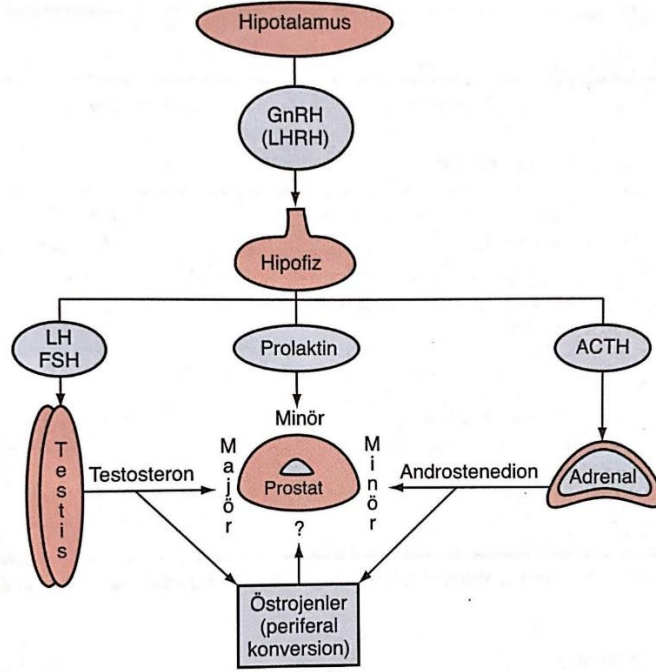
**ADT:** Androjen deprivasyon tedavisi; **PSA:**Prostat spesifik antijen

### 2.2.8.1 Kastrasyon duyarlı metastatik prostat kanseri tedavisi

#### 2.2.8.1.1 Prostat kanserinde androjenlerin etkisi

Androjenler normal maskülinizasyon, eksternal genitalerin gelişimi, kemik ve kardiyovasküler sağlık, eritrosit sayısının korunması, spermatogenez, cinsel istek, prostat bezinde fizyolojik büyüme ve fonksiyon için gereklidir (Morley, 2000). Testosteronun kendisi tümör oluşumuna neden olmamakla birlikte tümör hücrelerinin devamı için gereklidir (Walsh, 1975). Dolaşımdaki androjenlerin %90-95'inin kaynağı testislerdir ve geri kalan %5-10'luk kısım ise adrenal bezler tarafından üretilmektedir. Testosteron sekresyonu hipotalamus-hipofiz-gonad aksı üzerinden kontrol edilmektedir (Şekil 8). Hipotalamustan pulsatil şekilde LHRH olarak adlandırılan dekapeptid yapıda hormon salgılanır. LHRH, anterior hipofizden LH ve FSH salınımına neden olur. Testisteki leydig hücreleri LH tarafından uyarılarak testosteron salınımı gerçekleşir. Testosteron, 5- $\alpha$  redüktaz enzimi tarafından daha potent androjen olan DHT'ye çevrilir. Ayrıca aromataz aracılığıyla kan dolaşımındaki testosteron periferde östrojenlere çevrilir ve dolaşımdaki diğer androjenlerle birlikte hipotalamik LHRH salınımı üzerinde negatif feedback etkiyle LH salınımı baskılanır (Ross & Rodriguez, 2016).

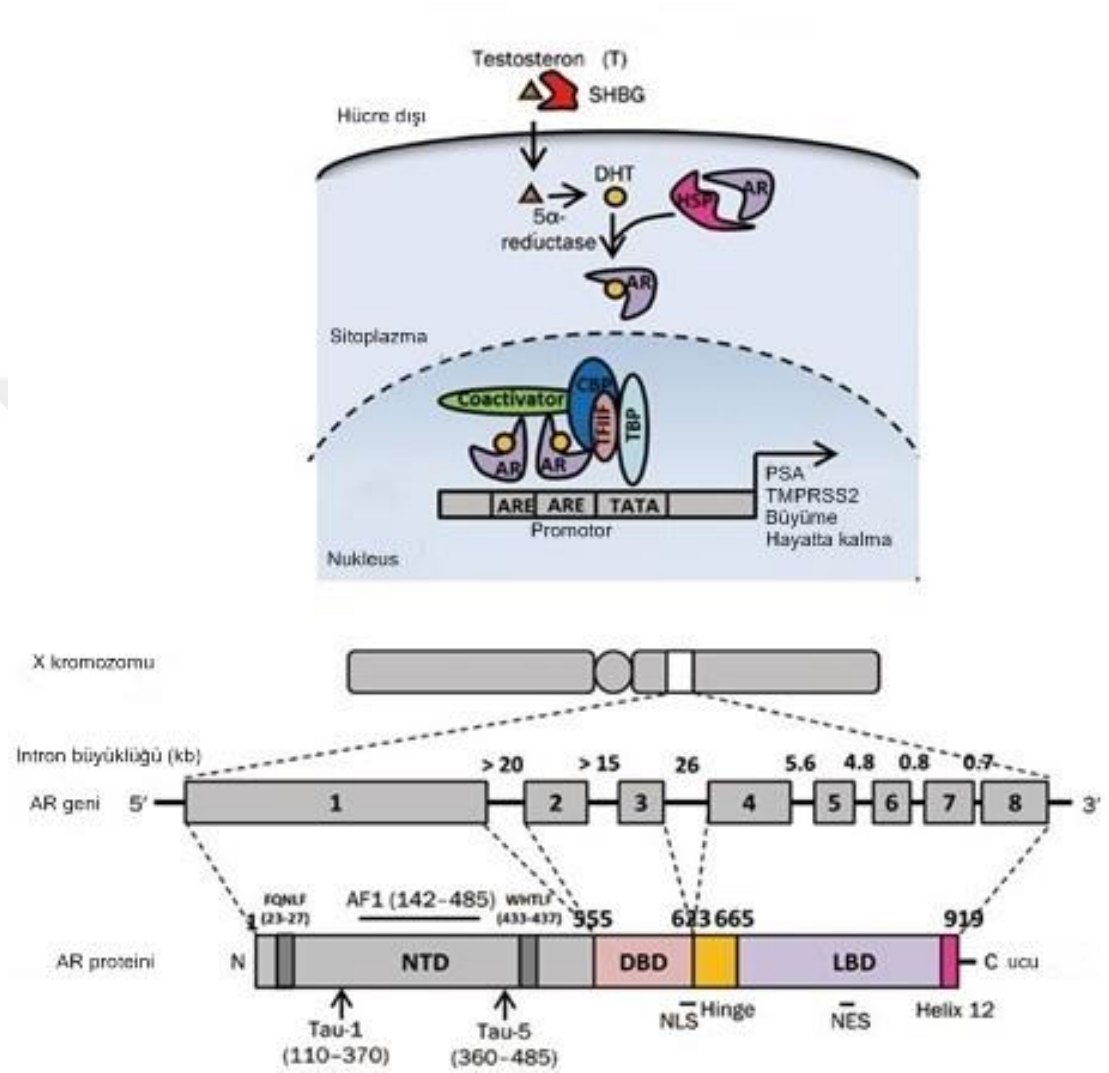




**Şekil 8 Prostatın endokrin fizyolojisi**

Hem testosteron hem de DHT steroid/nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesi olan AR aracılığıyla etki gösterirler. AR, X kromozomu üzerinde (Xq11-q13) yerleşmiş olan AR geni tarafından kodlanır (McKenna et al., 1999). AR'nin dört bölgesi vardır: N-terminalinden, ekzon 1 tarafından kodlanan bir NH<sub>2</sub> terminal transaktivasyon alanı (NTD), ekzon 2–3 tarafından kodlanan bir DNA bağlama alanı (DBD: DNA-binding domain), ekzon 4 tarafından kodlanan bir menteşe bölgesi ve ekzon 5–6 tarafından kodlanan bir ligand bağlanma alanı (LBD: ligand binding domain) (Şekil 9). Testosteron ve DHT, LBD'ye bağlanmasının ardından AR'de konformasyonel değişim meydana gelir. Sitoplazmada ligand bağlanmasından sonra, AR nükleolus içine translokasyon yapar, bir dimer oluşturur ve DBD aracılığıyla promotörün androjen cevap elemanına ve hedeflenen genlerin güçlendiricisine bağlanır (Fujita & Nonomura, 2019). NTD ve LBD sırasıyla aktivasyon fonksiyonu-1 (AF-1) ve AF-2 olarak isimlendirilen transkripsiyonel düzenleme bölgelerini içermektedir (Gelman, 2002). DNA bağlanması üzerine, AR-dimeri, AF-1 ve AF-2 bölgelerinde ortak aktifleştirici ve düzenleyici proteinlerle bir kompleks oluşturur ve bunun sonucunda;

füzyon genleri (TMPRSS2-ERG), büyüme stimülatörleri, transkripsiyon faktörleri, metabolik enzimler, hücre döngüsü düzenleyicileri ve glukuronidasyon dahil olmak üzere çeşitli işlevlerle ilgili gen ifadelerini düzenler (Takayama & Inoue, 2013).



Şekil 9 Androjen reseptör geni ve yolağı (Tan et al., 2015)

AR'ler sadece erkek cinsel organlarında değil, tüm dokularda belli oranlarda bulunmaktadır. Prostat bezinde AR'ler özellikle stromal ve sekretuar epitelyumun çekirdeklerinde bulunurlar. Normal prostatta epitelyal AR, PSA gibi sekretuar proteinlerin üretiminde görev görür. Stromal AR ise, prostat büyümesinde rol oynar (Fujita & Nonomura, 2019). Androjenlerin varlığı prostat hücrelerinde proliferasyon ve diferansiyasyona yol açarken, androjen yokluğu apoptozise yol açmaktadır.

Farelerde, stromal AR'nin (fibroblastlar ve düz kas hücreleri) seçici knock-out'unun prostatın normal gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Lai et al., 2012). Androjenlerin prostatik stromal hücrelerdeki AR'ye bağlanması ile andromedinler adı verilen çözünebilir peptidler salınır. Andromedinler parakrin yol ile bazal membrandan difüzyon yoluyla geçerek prostatik epitelyumun sekretuar kısmına ulaşır ve epitelyum hücrelerinde farklı etkilere yol açarlar (Litvinov et al., 2003). Ayrıca yapılan çalışmalar prostat kanseri hücrelerinin androjenlere ve androjenlerle uyarılan parakrin yola ihtiyaç duymadan otokrin yolla peptid büyüme faktörleri sentez ve sekresyonuna yol açarak androjenlerden bağımsız olarak büyüme ve sağkalım yeteneğine sahip olduklarını göstermektedir (J. Gao et al., 2001).

Prostat kanserinde AR'nin etkileri, PSA sentezi, lipid metabolizmasının düzenlenmesi, büyümenin desteklenmesi ve diğer bazı işlevlerdir (Shafi et al., 2013). Lokalize prostat kanseri olan hastalarda TMPRSS2-ERG füzyonu prevalansı %30-%50 arasındadır. Stromal AR, TMPRSS2 geninin transkripsiyonunda rol oynamaktadır. Prostat kanseri fare modelinde, stromal AR kaybı, proinflatuar sitokin ve kemokinlerin modülasyonunu sağlayarak prostatik intraepitelyal neoplazi gelişimini baskılamıştır (Lai et al., 2012).

Prostat kanseri biyolojisinde yapılan son çalışmalar, prostat kanseri hücrelerinin de-novo androjen sentezi yeteneğinin olduğunu göstermiştir ve bu da 17 $\alpha$ -hidroksilaz/17,20-liyaz blokajına veya doğrudan AR antagonizmine olan ilginin artmasına yol açmıştır. Bununla birlikte, benign prostat epitel hücrelerinin klinik olarak önemli miktarlarda intrakrin androjen ürettiği şüphelidir, çünkü kastrasyon prostatın neredeyse tamamının involüsyonuna neden olmaktadır. Adrenal bezden de androjen ve androstenedion salgısı olmaktadır ancak bu zayıf salgı prostat fizyolojisi üzerinde önemli bir etki değildir. Çünkü kastrasyon sonrası prostatın neredeyse tamamı involüsyona uğramaktadır ve bu da normal prostat dokusunda anlamlı büyümeyi uyarmak için adrenal androjenlerin yetersiz olduğu anlamına gelmektedir (Ross & Rodriguez, 2016).

#### **2.2.8.1.2 Hormonal tedavi**

Primer ADT yaklaşık 50 yıldır standart tedavi olarak yer almaktadır (Pagliarulo et al., 2012). Bilateral orşiektomi, LHRH agonisti veya antagonisti seçeneklerinin

birbirine üstünlüğünü gösteren yüksek düzey kanıt bulunmamaktadır. Sadece spinal kord kompresyonu gelişebilecek hastalarda bilateral orşiektomi veya LHRH antagonisti seçilmesi önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

Non-steroid antiandrojen monoterapileri, medikal veya cerrahi kastrasyona kıyasla genel sağkalım, klinik progresyon, tedavi başarısızlığı ve yan etkilere bağlı tedavi bırakılması açısından daha az efektif bulunmuştur (Kunath et al., 2014).

ADT ile ilgili önemli bir nokta tedavinin devamlılığıyla ilgilidir. Sürekli veya aralıklı ADT ile ilgili birçok çalışma mevcut ancak çoğu karışık hasta popülasyonu ile yapılmıştır. SWOG 9346 M1b hastalarında aralıklı ADT'nin ele alındığı en büyük çalışmadır ve genel sağkalım açısından devamlı ADT ile aralarında anlamlı fark saptanmamıştır (Hussain et al., 2013). Diğer tüm çalışmalar ile birlikte değerlendirildiğinde aralıklı ADT'de cinsel fonksiyon üzerindeki olumsuz etkiler ve sıcak basması gibi yan etkiler daha az görülse de (Verhagen et al., 2014) ve her ne kadar aralarında anlamlı fark saptanmamış olsa da devamlı ADT'nin genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalımı iyileştirdiği yönünde eğilim mevcuttur (Mottet et al., 2020).

Tartışılan konulardan bir diğeri ise ADT'nin zamanlamasıdır. Semptomatik hastalarda erken tedavi ile ilgili şüphe yoktur ancak asemptomatik hastalarda erken tedavi yerine ertelenmiş tedavi konusunda hala tartışmalar mevcuttur. İleri metastatik veya non-metastatik hastalarda erken veya ertelenmiş tedavinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, erken tedavi hastalığın ilerlemesini önemli ölçüde azaltmasına rağmen kansere özgü sağkalımda iyileşme saptanmamıştır (Nair et al., 2002). 2019 yılında güncellenen Cochrane analizinde ise erken tedavinin prostat kanserinden veya herhangi bir nedenden dolayı ölüme kadar geçen süreyi uzattığı sonucuna varılmıştır (Kunath et al., 2019). Güncel kılavuzda; hasta yakından izlendiği takdirde, tedavi yan etkilerini azalttığı için asemptomatik iyi bilgilendirilmiş M1 hastalarıyla ertelenmiş tedavinin tartışılması önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

### **2.2.8.1.3 Kombinasyon tedavileri**

Androjen deprivasyon tedavisi sonrası testosteron seviyesi %95 azalmaktadır ancak androjenik uyarı adrenal kaynaklı androjenlerin DHT'ye dönüşümü ile devam

etmektedir. Anti-androjenlerin tedaviye eklenmesi ile komplet androjen blokajı elde edilebilmektedir. Non-steroid anti-androjenler ile sağlanan komplet androjen blokajının monoterapiye kıyasla %5'ten az bir sağkalım avantajı sağladığı gösterilmiştir ancak tedavi seçiminde non-steroid anti-androjenlerin uzun süreli kullanımının getirebileceği yan etkiler göz önünde bulundurulmalıdır (Schmitt et al., 2000).

Kemoterapötikler ile kombinasyon tedavilerinde araştırılmış başlıca ajan dosetakseldir. Günümüze kadar yapılmış 3 büyük randomize kontrollü çalışmada, androjen deprivasyon monoterapisi dosetaksel kombinasyonu ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmalarda saptanmış başlıca toksisite nötrojeni (%12-15) ve febril nötropenidir (%6-12). Dosetakselin standart tedaviye eklenmesinin sağkalımı iyileştirdiği gösterilmiştir ve ilk başvuruda metastaz saptanan ve dosetaksel almaya uygun hastalarda ADT ile kombine dosetaksel rejiminin standart olarak düşünülmesi önerilmektedir (Sathianathen et al., 2018).

Abirateron asetat ile kombine ADT'nin genel sağkalımda iyileşme sağladığı gösterilmiştir (Fizazi et al., 2017; Nicholas D James et al., 2017). Tedaviye bağlı yan etkiler nedeniyle hastaların %12-20'si tedaviyi yarıda bırakmıştır ancak monoterapiye kıyasla abirateron kombinasyonunda tedaviye bağlı ölüm açısından fark saptanmamıştır. Metastatik hastalık ile başvuran ve tedaviye uygun hastalara ADT ile birlikte abirateron asetat + prednizolon rejiminin uygulanması önerilmektedir (Rydzewska et al., 2017).

Yeni nesil AR antagonistleri olan enzalutamid (Chi et al., 2019) ve apalutamidin (Armstrong et al., 2019) ADT ile kombinasyonun, geniş hasta popülasyonlu randomize kontrollü çalışmalarda genel sağkalım ve radyografik progresyonsuz sağkalımı önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir. Abirateron asetata alternatif olarak tedaviye uygun hastalarda ve yeni tanı M1 hastalıkta ADT'ye kombine olarak uygulanması önerilmektedir (Cornford et al., 2021).

Sonuç olarak güncel kılavuzlar ışığında, açık bir kontrendikasyon olmadıkça, metastatik hastalıkla başvuran tüm erkeklere bir çeşit kombinasyon tedavisi önerilmesi gerekmektedir (Cornford et al., 2021).

#### **2.2.8.1.4 Yeni tanı metastatik hastalıkta primer tümörün tedavisi**

Metastatik hastalıkta, ADT'ye radyoterapi eklenmesinin sonuçlarını değerlendiren iki büyük randomize kontrollü çalışma mevcuttur. Bunlardan ilki olan HORRAD çalışmasında, radyoterapi eklenen grupta genel sağkalım anlamlı olarak farklı saptanmamıştır ancak PSA progresyonuna kadar geçen sürede anlamlı iyileşme olduğu bildirilmiştir (Boevé et al., 2019). Bir diğer çalışma olan STAMPEDE çalışmasında da genel sağkalım farkı saptanmadığı doğrulanmıştır (Parker et al., 2018). CHAARTED çalışmasından elde edilen verilerle orijinal çalışmadaki hastalar düşük ve yüksek hacim olarak kategorize edilerek tekrar değerlendirilmiş ve düşük hacimli hastalık grubunda genel sağkalımda önemli bir iyileşme saptanmıştır. Bu nedenle güncel kılavuzda da; ilk başvuruda düşük hacimli metastatik hastalığı olan prostat kanserli erkeklere ADT'ye ilaveten prostat radyoterapisinin önerilmesi vurgulanmaktadır (Cornford et al., 2021).

#### **2.2.8.1.5 Metastaza yönelik tedavi**

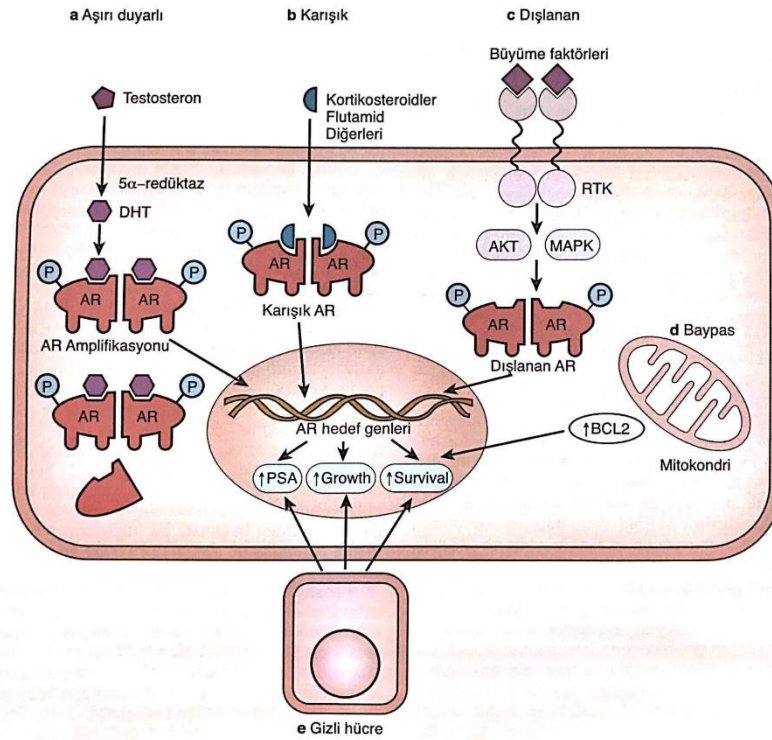
Lokal bir tedaviden sonra nükseden hastalarda, sistemik tedaviyi geciktirmek amacıyla metastaza yönelik tedavi (cerrahi veya radyoterapi) gündeme gelmiştir. Yakın zamanda yayınlanmış randomize kontrollü faz 2 çalışmasında; oligorekürren (kolin PET-BT'de  $\leq 3$  ekstrakraniyal metastatik lezyon) hastalarda metastaza yönelik tedavi ile tedavisiz takip karşılaştırılmış ve primer sonlanım noktası olan ADT'siz sağkalım, metastaza yönelik tedavi uygulanan grupta daha uzun saptanmıştır (Ost et al., 2018). Ancak genel sağkalıma faydasını gösteren veri bulunmamaktadır ve bu yaklaşımın henüz deneysel olarak kabul edilmesi gerektiği önerilmektedir (Ost et al., 2015).

#### **2.2.8.2 Kastrasyon dirençli metastatik prostat kanseri tedavisi**

##### **2.2.8.2.1 Prostat kanserinde kastrasyon direnci gelişimi**

Kastrasyon direnci sürecine katılan çeşitli moleküler mekanizmalar söz konusudur (Şekil 10). Bunlardan ilki, AR yolağı çeşitli moleküler değişiklikler sonucu aşırı duyarlı hale gelebilir ve düşük androjen düzeyinde bile aktifleşebilir (Marika J Linja & Visakorpi, 2004). Androjene dirençli tümörler, hastaların yaklaşık üçte birinde mevcut AR geninin birçok başka kopyası anlamına gelen AR gen amplifikasyonu kanıtı göstermektedir (Koivisto et al., 1997; M J Linja et al., 2001). İkinci olarak

AR'nin androjen dışındaki bağları daha fazla tercih ettiği yaygın olarak saptanmıştır. AR gen mutasyonları da reseptör aktivitesini arttırabilir (Tilley et al., 1996; Gottlieb et al., 1998; Taplin et al., 1999; Marcelli et al., 2000; Balk, 2002). Üçüncüsü, dışlanan AR modelinde epitelyal büyüme faktörü ve insülin benzeri büyüme faktörü tip 1 gibi büyüme faktörü peptidlerin androjen yokluğunda AR transkripsiyonel aktivitesini arttırmasıdır (Culig et al., 1994). Sitokin interlökin-6 (IL-6), protein kinaz A ve C gibi AR aktivitesini arttırabilir (Nazareth & Weigel, 1996; Lin et al., 2001). Androjen yokluğunda bu ligandlar AR sinyalini tekrar aktif hale geçirebilirse, kastrasyon durumunda da prostat kanseri ilerleyebilir. Hormona dirençli prostat kanserinde, DNA'ya bağlanan kompleks içindeki proteinlerden oluşan AR düzenleyicilerinin ekspresyonunda artış bulunmuştur; ki bu yolağın otonom aktivasyonunu düşündürmektedir (Yeh et al., 1999; Fujimoto et al., 2001; Gregory et al., 2001). Dördüncü olarak bypass AR modelinde; paralel ya da alternatif sağkalım yolaklarının aktivasyonu, androjen bağımlı prostat kanseri hücrelerinin androjen yokluğunda sağkalımına yol açar (Feldman & Feldman, 2001). Son olarak gizli hücre modelinde; prostatta küçük bir epitel kök hücre popülasyonunun önceden var olması ve androjen azalmasında androjenden bağımsız olarak bu hücrelerin büyümesidir. Bu model edinilmiş bir değişiklik yerine prostat bezinde var olan bir özelliği vurgulamaktadır.



**Şekil 10 Prostat kanserinde kastrasyon direnci oluşumundaki olası mekanizmalar** (Feldman & Feldman, 2001)

(AR:Androjen reseptörü, DHT:dihidrotestosteron, MAPK:mitojen aktivasyonlu protein kinaz, P:fosforilli, PSA:prostat spesifik antijen, RTK:reseptör tirozin kinaz)

### 2.2.8.2.2 Kastrasyon direnci tanımı

Kastrasyon dirençli metastatik prostat kanseri, kastre testosteron düzeyinin <50 ng/dl veya <1,7 nmol/l altında olmasına ilaveten aşağıdaki progresyon kriterlerinden birinin olması olarak tanımlanır;

1. **Biyokimyasal ilerleme:** PSA değerinin 2 ng/dl'nin üzerinde olmak koşulu ile bir hafta ara ile ölçülen üç PSA değerinin ikisinde nadir PSA değerinin %50' sinden fazla artış olmasıdır.
2. **Radyolojik ilerleme:** Yeni lezyonların ortaya çıkması – kemik sintigrafisinde 2 veya daha fazla yeni kemik lezyonu veya solid tümörlerde cevap değerlendirme kriterleri (RECIST: Response Evaluation Criteria in Solid Tumours)'ne (Eisenhauer et al., 2009) göre yumuşak doku lezyonu boyutunda artış.



Kastrasyon dirençli prostat kanserinde tedavi seçiminde birçok faktör göz önünde bulundurulmaktadır. Uygulanmış önceki tedaviler, önceki tedaviye cevabın kalitesi ve progresyon hızı, AR hedefli ilaçlar arasında bilinen çapraz direnç, bilinen genetik değişiklikler, bilinen histolojik varyantlar ve DNA onarım eksikliği, ilaçların yerel onay durumu ve geri ödeme durumu, seçilecek tedaviler üzerinde rol oynayan başlıca etmenlerdir (Cornford et al., 2021).

Metastatik kastrasyon duyarlı prostat kanseri tedavisine kısa cevap, yüksek tümör yükü, hızlı progresyon, viseral metastazlar ve zayıf genomikler (p53, RB, myc) gibi agresif hastalığın klinik parametrelerinin varlığı, AR hedefli ilaçlar yerine kemoterapi veya klinik çalışmaların tercih edilmesine yönlendirmelidir (Chen et al., 2019).

### **2.2.8.2.3 İlk basamak tedaviler**

#### **2.2.8.2.3.1 Abirateron**

İlk olarak dosetaksel sonrası tedavide genel sağkalım yararı saptanan abirateron asetat (de Bono et al., 2011), COU-AA-302 randomize kontrollü çalışmasında kemoterapi öncesi kullanımda plaseboya göre genel sağkalımda ve radyografik progresyonsuz sağkalımda önemli anlamlı iyileşme sağladığı saptanmıştır (Ryan et al., 2015) ve günümüzde ilk basamak tedavide de kullanılmaktadır.

#### **2.2.8.2.3.2 Enzalutamid**

Enzalutamid ile plaseboyu karşılaştıran kemoterapi almamış kastrasyon dirençli metastatik prostat kanserli hastaların değerlendirildiği PREVAIL çalışmasında, radyografik progresyonsuz sağkalımda ve genel sağkalımda önemli iyileşme saptanmış ve hastaların %78'inde PSA'da %50'den fazla azalma gözlenmiştir (Beer et al., 2014). Yetmiş beş yaş üstü popülasyonda (Graff et al., 2016) ve viseral metastazı olanlarda da (Evans et al., 2016) benzer etkinlik ve tolerabilite göstermiş olmasına rağmen karaciğer metastazı olan hastalarda (Alumkal et al., 2017) belirgin fark saptanmamıştır. Bikalutamid ile karşılaştırıldığı bir çalışmada da progresyonsuz sağkalımda anlamlı derecede üstün olduğu saptanmıştır (Shore et al., 2016).

### **2.2.8.2.3.3 Doksetaksel**

Doksetaksel mikrotübül stabilizasyonu ile antimitotik etki göstermektedir. 2004 yılında mitoksantron ile karşılaştırıldığı çalışmada medyan sağkalımda anlamlı iyileşme sağladığı gösterilmiş ve standart ilk basamak tedavi olarak uygulanmaya başlanmıştır (Tannock et al., 2004). Standart uygulaması, 10 sıklusa kadar 3 haftalık periyotlar ile  $75 \text{ mg/m}^2$  dosetaksel ile günde 2 kez prednizon kombinasyonudur (Mottet et al., 2020). Yaş, dosetaksel tedavisi için kontrendikasyon olmasa da yaşlı hastalar dikkatli takip edilmelidir (Italiano et al., 2009). Standart tedaviyi tolere edemediği düşünülen hastalarda, 2 haftalık periyotlarda  $50 \text{ mg/m}^2$  dosetaksel uygulamasının daha iyi tolere edilebildiği gösterilmiştir (Kellokumpu-Lehtinen et al., 2013).

### **2.2.8.2.3.4 Sipuleucel-T**

Sipuleucel-T terapötik kanser aşısı olarak etki gösteren aktif hücresel immünoterapidir (Goldman & DeFrancesco, 2009). Otolog periferik kan mononükleer hücreleri ile rekombinan füzyon proteini ile aktive edilmiş antijen sunan hücrelerden oluşmaktadır. 2010 yılında asemptomatik veya minimal semptomatik hastalarda yapılmış bir faz 3 çalışmasında sağkalım yararı gösterilmiştir. 34 aylık medyan takip süresi sonrası sipuleucel-T kolunda 25,8 ay, plasebo kolunda ise 21,7 aylık medyan sağkalım saptanmıştır. Diğer yandan progresyonsuz sağkalım açısından iki grup arasında fark saptanmamış ve PSA düzeyinde azalma izlenmemiş (Kantoff et al., 2010). ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı almasına rağmen Avrupa'da lisans süresi dolmuştur ve temin edilememektedir.

## **2.2.8.2.4 İkinci basamak tedaviler**

### **2.2.8.2.4.1 Kabazitaksel**

Doksetaksel tedavisine dirençli kanserlerde kullanılmak üzere geliştirilen yeni nesil taksan grubu ilaçtır. Dosetaksel bazlı kemoterapi sırasında veya sonrasında progresyon gösteren kastrasyon dirençli metastatik prostat kanserli hastaların dahil edildiği prospektif randomize faz 3 çalışmada mitoksantron ile karşılaştırılmış ve genel sağkalım, progresyonsuz sağkalım, RECIST cevabı ve PSA cevabında anlamlı olarak üstün bulunmuştur (de Bono et al., 2010). Yan etkilerin kabazitaksel grubunda

anlamli olarak daha fazla saptandigi bildirilmisttir (Scher et al., 1996) ve gelisebilecek notropeni ve sepsis icin profilaktik olarak granulosit koloni stimulan faktör ile birlikte verilmesi önerilmektedir (Di Lorenzo et al., 2013). Birinci basamak tedavi icin dosetaksel ile karšilastirilmis ve daha üstün olmadigi saptanmisttir (Sartor et al., 2016). Güncel kılavuzda daha önce dosetaksel ile tedavi edilen ve abirateron veya enzalutamid ile tedaviden sonraki 12 ay içinde progresyon gösteren hastalara kabazitaksel verilmesi önerilmektedir (Mottet et al., 2020).

#### **2.2.8.2.4.2 Abirateron**

Kastrasyon dirençli metastatik prostat kanserinde birinci basamak tedavide kullanımının yanı sıra ikinci basamak tedavide de yer almaktadır. Dosetaksel sonrası tedavide olumlu genel sağkalım yararı gösterilmiştir. Prostat kanseri klinik araştırmalar çalışma grubu 2 (PCWG2; Prostate Cancer Clinical Trials Working Group 2) kriterlerine göre dosetaksel sonrası progresyon gösteren hastalarda plasebo ile karšilastirildiği faz 3 çalışmada; 20,2 aylık medyan takip süresinde 11,2 aya kıyasla 15,8 aylık medyan sağkalım sağladığı saptanmıştır. Grade 3-4 yan etkiler açısından fark saptanmazken, mineralokortikoid ilişkili sıvı retansiyonu, ödem, hipokalemi gibi grade 1-2 yan etkiler abirateron grubunda daha sık saptanmıştır (Fizazi et al., 2012).

#### **2.2.8.2.4.3 Enzalutamid**

Enzalutamid de abirateron gibi birinci basamak tedavinin yanı sıra ikinci basamak tedavide kullanımının genel sağkalıma olan yararı gösterilmiş bir diğer ilaçtır. Plasebo ile karšilastirildiği AFFIRM çalışmasında 14,4 aylık medyan takip süresinde medyan sağkalım plasebo grubunda 13,6 ay enzalutamid grubunda ise 18,4 ay olarak saptanmıştır (Scher et al., 2012). Enzalutamid grubunda daha düşük grade 3-4 yan etki bildirilmekle beraber plasebo ile yan etki açısından aralarında anlamlı fark gösterilememiştir.

#### **2.2.8.2.4.4 Radyum-223**

Radyum-223 kısa süreli yüksek enerjili alfa parçacıkları yayan hedeflenmiş bir alfa yayıcıdır. Kemik metastazlarında artmış kemik döngüsü alanlarına seçici olarak bağlanır (Bruland et al., 2006). Kemik metastazlarının tedavisinde kullanımını araştırılan radyum-223'ün kastrasyon dirençli prostat kanserinde sağkalım yararı

olabileceği düşünülmüştür (Nilsson et al., 2007). Sonrasında 2013 yılında yapılan randomize çift-kör plasebo kontrollü faz 3 çalışmada plaseboya göre 3,6 aylık (14,9-11,3) sağkalım avantajı sağladığı saptanmıştır. Ayrıca hayat kalitesinde ve ağrı skorunda iyileşme ve ilk kemik kırığına kadar geçen sürede uzama ile ilişkili bulunmuştur (C. Parker et al., 2013). Güvenlik kaygıları nedeniyle, radyum-223'ün kullanımı, yakın zamanda dosetaksel ve en az bir AR hedefli ajan kullanımını sonrası olarak sınırlandırılmıştır (Mottet et al., 2020).

#### **2.2.8.2.5 Dosetaksel ve tek basamak hormonal tedavi sonrası tedavi**

AR hedefli tedaviden sonra hızlı progrese olan (<12 ay) hastalar için kabazitaksel en iyi destekleyici verilere sahip tedavi seçeneğidir (Mottet et al., 2020). Dosetaksel ve AR antagonisti tedavisi sonrası başka bir AR antagonistine göre kabazitakselin progresyonsuz sağkalımı iki kat arttırdığı ve ölüm riskini %36 oranında azalttığı gösterilmiştir (de Wit et al., 2019). Dosetaksel ve AR hedefli tedaviye 12 aydan uzun cevap veren hastalarda ise ikinci basamak tedavi için radyum-223 ve kabazitaksel makul seçenekler olarak görülmektedir (Mottet et al., 2020).

#### **2.2.8.2.5.1 Poli (ADP riboz) polimeraz (PARP) inhibitörleri**

Kastrasyon dirençli metastatik prostat kanseri, DNA onarımına müdahalede bulunan genomik anomalilere sahip olabilmektedir (Grasso et al., 2012). Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP), ökaryot hücrelerde bol miktarda bulunan ve DNA hasarına cevap olarak aktifleşen çekirdeğe ait bir enzimdir (Tok & Koçyiğit Kaymakçioğlu, 2015). PARP inhibisyonu tek zincir DNA kırıklarının birikmesine ve bunların çift zincir DNA kırıklarına dönüşmesine neden olur. Normalde bu kırıklar homolog rekombinasyon DNA tamir mekanizmalarıyla düzeltilir (Zhu et al., 2012)

PARP inhibitörleri, ilk çalışmalarda somatik homolog rekombinasyon onarımı eksikliği olan prostat kanserli erkeklerde yüksek cevap oranları göstermiştir. Daha önce hem dosetaksel hem de en az bir yeni hormonal ajan ile tedavi edilen ve tümörleri DNA onarım genlerinde (BRCA1 / 2, ATM, Fanconi anemi genleri ve CHEK2) homozigot delesyonlar veya zararlı mutasyonlar gösteren erkeklerde cevap oranı %88 olarak saptanmıştır (Mateo et al., 2015).

Dosetakselin ardından, abiraterona ilaveten plaseboya karşı olaparib karşılaştıran faz2 çalışmada abirateronun homolog rekombinasyon eksikliği durumuna bakılmaksızın klinik fayda gösterdiği gösterilmiştir. Ancak kombinasyon tedavisi toksiktir ve ciddi yan etkiler olaparib+abirateron grubunun %34'ünde ve plasebo+abirateron grubunun ise %18'inde bildirilmiştir (Clarke et al., 2018). Bir diğer randomize faz 3 çalışmada; dosetaksel ve AR hedefli tedavi sonrası progresyon gösteren ve homolog rekombinasyon onarımında role sahip bir veya daha fazla genomik değişikliğe sahip hastalarda olaparib ile bir diğer AR hedefli ilaç karşılaştırılmıştır. Genel sağkalım için ara sonuçlar, BRCA1/2 veya ATM mutasyonları olan erkeklerde ve ayrıca herhangi bir homolog rekombinasyon onarım değişikliği olan erkeklerde anlamlı olmamakla beraber sağkalımın arttığını göstermiştir (de Bono et al., 2020).

Olaparib için verilen FDA onayı, daha önce enzalutamid veya abirateron tedavisini takiben progresyon gösteren, zararlı veya şüpheli zararlı germ hattı veya somatik homolog rekombinasyon onarım gen mutasyonlu kastrasyon dirençli prostat kanserli hastalar içindir. Avrupa İlaç Ajansı (EMA), BRCA1 ve BRCA2 değişiklikleri olan hastalar için olaparibi onaylamıştır.

Rucaparib, AR hedefli tedavi ve taksan bazlı kemoterapi ile tedavi edilen zararlı BRCA mutasyonları (germline ve/veya somatik) olan hastalar için onaylanmıştır (Abida et al., 2020). Her iki ajan da, bir tümör veya germ hattı içinde bulunan mutasyon profiline (esas olarak BRCA1/2) dayalı olarak tedaviyi uyarlamak için yeni bir fırsat sunmaktadır. Ancak, taranan hastaların yalnızca %18'inin uygun olduğu unutulmamalıdır (Cornford et al., 2021).

#### **2.2.8.2.5.2 Prostat spesifik membran antijen (PSMA) tedavisi**

Prostat kanserinde metastaza bağlı kemik ağrısının tedavisinde çeşitli radyofarmasötikler geliştirilmiş ve özellikle yaygın kemik metastazı durumunda ağrıyı hafifletmek ve yaşam kalitesini iyileştirmede palyasyon amaçlı etkileri olmuştur (Serafini, 1994). Sağkalım yararı gösteren ilk radyoizotop ise radyum-223'tür (C. Parker et al., 2013).

Prostat spesifik membran antijen (PSMA) PET/BT'nin metastatik hastalık tanımlanmasında kullanımı giderek artmaktadır ve metastatik alanların saptanmasındaki başarısı nedeniyle, görüntüleme izotopunun terapötik izotoplar ile değiştirilmesinin kanserin tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmüştür (Ballinger, 2018).

Günümüzde en sağlam verilerle desteklenen radyofarmasötik Lutesyum (Lu)-PSMA-617'dir. İlk olarak 2014 yılında denenen tedavinin güvenlik ve etkinliğini değerlendiren erken klinik sonuçlar umut verici olmuştur (Emmett et al., 2017). Yakın zamanda erken sonuçları yayınlanan ilk randomize çalışmada dozetaksel sonrası progresyon olan kastrasyon dirençli prostat kanseri hastalarında Lu-PSMA-617 kabazitaksel ile karşılaştırılmıştır (Hofman et al., 2019). Hastaların Lu-PSMA grubunda %66'sında, kabazitaksel grubunda ise %37'sinde PSA düzeyinde %50'den fazla düşüş izlenmiştir. Ayrıca progresyonsuz sağkalım açısından yapılan bir ön analizde Lu-PSMA'nın kabazitaksele göre hastalığın ilerlemesini %31 geciktirdiği bildirilmiştir. Henüz çalışmayla ilgili verilerin toplanması devam etmektedir, ayrıca bu konuyla ilgili yapılacak daha fazla çalışma ile ilerleyen zamanda bu yeni tedavi modalitesi hakkındaki bildiklerimiz artacaktır.

### **2.3 APOPTOTİK HÜCRE ÖLÜMÜ**

Apoptoz sözcüğü ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından morfolojik olarak farklı bir hücre ölümü tipini tanımlamak için kullanılmıştır (Kerr et al., 1972). Apoptoz, bir hücrenin büyümesini ve bölünmesini durduran ve bunun yerine, içeriğinin çevreye dökülmeden hücrenin kontrollü ölümüyle sonuçlanan bir süreci tanımlamaktadır. Apoptoz, bazen programlanmış hücre ölümü (veya daha yaygın olarak hücre sel intihar) olarak da adlandırılmaktadır.

Kanser biyolojisi alanındaki bilgi birikimi, 1980'lerde hücre sinyalizasyonu ve programlanmış hücre ölümü üzerine yapılan erken çalışmalardan bu yana her zamankinden daha hızlı bir oranda artmaktadır (Seehawer et al., 2018). Kanser ve hücre ölümünün düzenlenmesindeki anormalliklerle karakterize diğer hastalıklar için etkili tedaviler geliştirebilmek amacıyla, hücrelerin canlılığını kaybedip sonunda ölmesinin farklı yollarının anlaşılması gerekmektedir. Hücre ölümü sürecinde

hücreler ya bir dizi biyokimyasal ve moleküler olayı içeren kontrollü (programlı) bir şekilde ya da alternatif olarak hücresel içeriğin çevre dokuya dağılması ile sonuçlanan kötü kontrollü bir şekilde dokudan çıkarılmaktadır (Kerr et al., 1972). Kontrollü hücre ölümünün en iyi karakterize edilmiş ve yaygın biçimi, bir ağaçtan düşen yapraklarda olduğu gibi yunanca 'düşme' anlamına gelen 'apoptoz' olarak adlandırılırken, kontrolsüz hücre ölümü biçimi genellikle yunanca 'öldürmek' anlamına gelen 'nekroz' olarak adlandırılmaktadır (D'Arcy, 2019).

Apoptozun başlaması, kaspazlar olarak bilinen bir dizi sistein-aspartik proteazın aktivasyonuna bağlı olmaktadır. Başlatıcı kaspazlar ve uygulayıcı kaspazlar olmak üzere iki kategoride kaspazlar bulunmaktadır (Elmore, 2007). Hücre hasarı tespit edildiğinde, başlatıcı kaspazlar (kaspaz 8 ve 9) aktif olmayan prokaspazlardan aktive edilir ve uygulayıcı kaspazları (kaspaz 3, 6 ve 7) aktive etmeye devam etmektedir. Uygulayıcı kaspazlarının aktivasyonu, endonükleazların aktivasyonu ile DNA parçalanması, nükleer proteinlerin ve hücre iskeletinin yok edilmesi, proteinlerin çapraz bağlanması, fagositik hücreler için ligandların ekspresyonu ve apoptotik cisimlerin oluşumu ile sonuçlanan bir olaylar dizisini başlatmaktadır (Martinvalet et al., 2005; Poon et al., 2014).

Genel olarak, apoptoz, hem mikroskop altında görsel olarak hem de Annexin V-FITC boyama ve DNA parçalanma deneyleri gibi bir dizi moleküler biyoloji tekniği yoluyla programlanmamış hücre ölümü biçimi olan nekrozdan ayırt edilebilmektedir (D'Arcy, 2019). Apoptozda, ölü hücrenin içeriğini içeren apoptotik cisimler, çevreleyen hücreler tarafından fagosite edilebilmekte ve bu durum öncelikle hücre kültüründe gözlenmektedir (Elmore, 2007). Böylelikle hasarlı dokunun çevrelenmesi sağlanmakta ve sonuç olarak çevredeki hücrelere ikincil hasar riski azaltılmaktadır.

Apoptoz süreci, çok hücreli organizmalarda yüksek oranda korunmakta ve genetik olarak kontrol edilmektedir (Lockshin & Zakeri, 2004). Apoptoz, içsel yol olarak bilinen bir mekanizma ile hücre içi bir dizi sensör aracılığıyla hasarı tespit ettiğinde hücrenin kendisi tarafından başlatılabilmektedir. Alternatif olarak, apoptozun dışsal yolu olarak bilinen, bağışıklık sisteminin bir hücresi ile hasarlı bir hücre arasındaki etkileşimden kaynaklanabilmektedir (Sica et al., 1990; Oppenheim et al., 2001). İnsan vücudunda günde yaklaşık  $1 \times 10^9$  hücrenin apoptoza uğradığı tahmin

edilmektedir (Elliott & Ravichandran, 2010). Apoptozun hem içsel hem de dışsal yolları, çok hücreli organizmaların sağlıklı kalmasını ve kusurlu hücrelerin vücuttan atılmasını sağlamak için sinerjik olarak çalışmaktadır. Apoptozun düzenlenememesi birçok hastalıkta izlenen patolojilere neden olabilmektedir. Örneğin, kaspazların aktivasyonu ile nöronal ölümün başlatıldığı görülen Alzheimer gibi dejeneratif hastalıklarda, apoptozda önemli bir enzim grubu yer almaktadır (Dickson, 2004). Bunun yanında apoptozun çok azalması, kanserde gözlenen, hücrelerin kontrolsüz büyümesine ve bölünmesine neden olmaktadır (Şekil 11).

### 2.3.1 İçsel Apoptoz Yolu

Apoptozun mitokondriyal yolu olarak da bilinen içsel yol (Igney & Krammer, 2002), hücre içinde birden fazla hedef üzerinde hareket eden çeşitli uyarımları içermektedir. Bu apoptoz formu, mitokondriden salınan faktörlere bağlıdır ve pozitif veya negatif bir yoldan başlatılmaktadır. Negatif sinyaller, hücrenin yakın çevresinde sitokinlerin, hormonların ve büyüme faktörlerinin yokluğundan kaynaklanmaktadır. Bu hayatta kalma öncüsü sinyaller olmadan, normalde inhibe olan puma, noxa ve bax gibi hücre içindeki proapoptotik moleküller aktif hale gelir ve apoptoz başlatılır. Apoptozu başlatan diğer faktörler pozitifdir ve hipoksiye, toksinlere, radyasyona, reaktif oksijen türlerine, virüslere ve çeşitli toksik ajanlara maruz kalmayı içermektedir (Brenner & Mak, 2009).

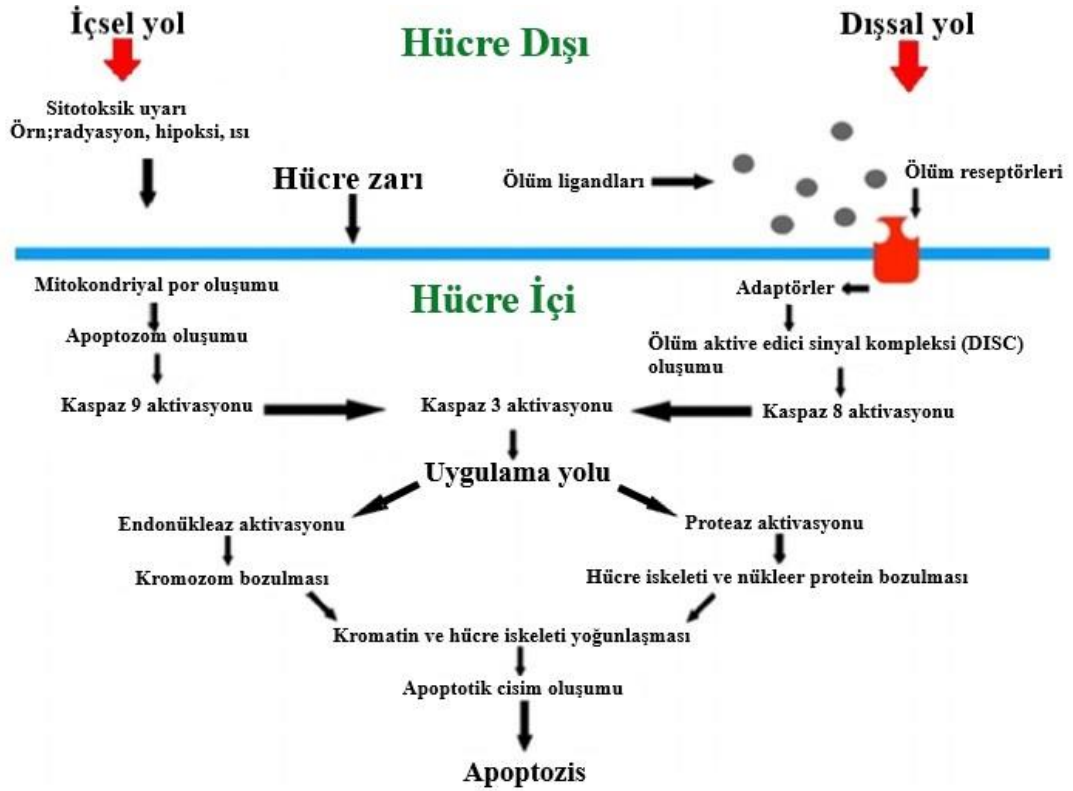
Apoptozun içsel yolunu kontrol eden başlatıcı kaspaz, kaspaz toplanma alanı (CARD: Caspase recruitment domain)'nın maruziyetinin ardından adaptör protein apoptotik proteaz aktive edici faktör 1 (APAF1)'e bağlanabilen kaspaz 9'dur. Apoptotik olmayan hücredeki APAF1 genellikle, hem CARD alanı bloke edilecek ve hem de aynı zamanda bir CARD alanı içeren pro-kaspaz 9 ona bağlanamayacak şekilde katlanmaktadır. Apoptoz, pozitif veya negatif uyarımlarla indüklendiğinde, mitokondriyal membranda değişiklikler tetiklenir ve bunun sonucu olarak mitokondriyal geçirgenlik geçişi (MPT: mitochondrial permeability transition) gözenekleri açılmaktadır. MPT gözenekleri açıldığında, proapoptotik proteinler (sitokrom c, Smac/Diablo ve HtrA2/Omi dahil) mitokondriden sitoplazmaya geçmekte ve apoptozu aktive etmektedir (Cain et al., 2002). Sitokrom c, APAF1 monomerlerinin WD alanına bağlanarak apoptozu indüklemekte, bu da APAF1'de



deoksi ATP'yi bağlayabilen bir nükleotid bağlama ve oligomerizasyon alanını açığa çıkaran bir konformasyonel değişiklikle sonuçlanmaktadır. Bu bağlanma hem CARD'ı hem de oligomerizasyon alanlarını açığa çıkaran APAF1'de ek bir konformasyonel değişikliği indüklemekte, böylece birkaç APAF1'in apoptozom olarak bilinen bir kompleks halinde bir araya gelmesine izin vermektedir (Acehan et al., 2002). Apoptozom, açık merkezinde, daha sonra birkaç prokaspaz 9 proteinini toplayan ve aktive eden birkaç CARD alanı içermektedir. Aktive edilmiş kaspaz 9 enzimleri, aktif kaspaz 3 formunda apoptozu tamamen indükleyebilen uygulayıcı prokaspaz 3'ü aktive edebilmektedir (Cain et al., 2002). Smac/Diablo ve HtrA2/Omi, apoptoz protein inhibitörlerini (IAP'ler) inhibe ederek apoptozu başlatmaya yardımcı olmakta, ancak sitokrom c salınımı olmadan IAP'nin inhibe edilmesi tek başına apoptozu başlatmak için yetersiz kalmaktadır (Ekert & Vaux, 2005) (Şekil 11).

### **2.3.2 Dışsal Apoptoz Yolu**

Apoptozun ölüm reseptörü yolu olarak da bilinen dışsal yol (Igney & Krammer, 2002), doğal öldürücü hücreler veya makrofajlar tarafından hedef hücre zarındaki tümör nekroz faktörü (TNF) süper ailesinin üyeleri olan ölüm reseptörleriyle bağlanarak kaspaz 8 yoluyla başlatılmaktadır (Kim et al., 2004). Ölüm reseptörleri, TNF süper ailesinin üyeleridir, birkaç üyeden oluşmaktadır ve her ölüm reseptörü kendisine karşılık gelen bir ölüm ligandına sahiptir (Bossen et al., 2006). Kaspaz 8'in aktivasyonu için bir ölüm ligandı bir ölüm reseptörüne bağlanmalıdır. Bunun sonucunda monomerik prokaspaz 8, ölüm aktive edici alanı (DED: death-inducing domain) aracılığıyla, ligand bağlı ölüm reseptörünün sitoplazmik alanında bulunan bir ölüm aktive edici sinyal kompleksi (DISC: death-inducing signal complex)'ne alınır. DISC ayrıca, procaspaz 8'in DISC ile etkileşimini kolaylaştıran FAS ile ilişkili ölüm alanı veya TNF reseptörü ile ilişkili ölüm alanı olarak bilinen bir adaptör proteini içermektedir (Kim et al., 2004). Birkaç prokaspaz 8 monomerinin DISC'e alınması, bunların dimerizasyonu ve aktivasyonu ile sonuçlanmakta ve ortaya çıkan kaspaz 8, iki farklı alt yoldan biri aracılığıyla apoptozu indüklemektedir (Samraj et al., 2006). Apoptozun dışsal yolunu kontrol etmede kaspaz 8'in rolü, DR ligandlarına cevap vermeyen kaspaz 8 eksikliği olan farelerde gözlenmiştir (Varfolomeev et al., 1998) (Şekil 11).



**Şekil 11 Apoptozun içsel ve dışsal yollarının ana bileşenlerinin özeti** (D’Arcy, 2019) Apoptozun içsel yolu, hasara cevap olarak hücrenin kendisi tarafından başlatılmaktadır. Dışsal yol, bağışıklık sisteminin hücreleri tarafından uyarılan ölüm reseptörleri aracılığıyla başlatılmaktadır. Her iki yol da kaspaz 3 (infazcı kaspaz) aktive edildiğinde birleşir ve hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır.

Apoptoz ister içsel, ister dışsal yollar tarafından tetiklensin, sıkı düzenlenmesi esastır ve onu etkili bir şekilde düzenleyememek korkunç sonuçlara yol açabilmektedir. Kanserde, örneğin hücre çeşitli başlatma mekanizmalarındaki mutasyonlar nedeniyle apoptozu başlatamamaktadır. Bu durum hücrenin dış sinyallere cevap vermemesiyle birlikte meydana gelirse, hücrenin kontrolsüz bir şekilde büyümesine ve bölünmesine neden olur, bu da iyi huylu bir tümör veya kanser oluşumuyla sonuçlanmaktadır (Philchenkov et al., 2004).

## 2.4 TARANTULA CUBENSİS ALKOLİK EKSTRAKTI

Homeopati, Yunancada ‘omeos’=benzer ve ‘pathos’=acı, ızdırap kelimelerinden oluşmuştur (Merrell & Shalts, 2002). Sağlıklı bir kişide semptomlara neden olabilen bir madde, benzer semptomlar gösteren bir hastalığı olan bir kişide muhtemelen kendi kendini iyileştirmeyi teşvik edebilir ilkesinden yola çıkılmıştır. Bu ilke, 18.yy sonlarında Dr. Samuel Hahnemann tarafından bir tıp sistemi haline getirilmiştir (Pingel, 1992). Yılan ve arı gibi zehirli hayvanlardan elde edilen zehrin hastalıkları tedavi etmek için kullanılması, binlerce yıl öncesine dayanan benzer bir homeopatik biyoterapi yöntemidir. Veteriner hekimlikte, homeopatinin yan etki olmaksızın kullanımı artmaktadır ve bu durum, birçok veteriner hekimin bu tedaviyi hayvanlarda kendi kendini iyileştirme mekanizmalarının doğal bir uyarıcısı olarak uyguladığını göstermektedir. Örümcek zehrinin önemi, son yüzyılın ortalarında, birçok alternatif tıp araştırmacısı ve farmakolog tarafından, güçlü bir homeopatik ilaç olarak fark edilmiştir (Merrell & Shalts, 2002).

*Tarantula cubensis*, Theraphosidae familyasından koyu kahverengi, tüylü bir Küba örümceğidir (Şekil 12). Zehirli bir tür olan *Tarantula cubensis* kimyasal olarak geniş bir spektrumda sindirim enzimi karışımı olan zehir kullanır, ısırıkları nekrotik lezyonlara sebep olur ve çocuklarda sistemik etkilerin de eşlik etmesiyle ölüme dahi yol açabilmektedir (Richardson-Boedler, 2002). Bu zehrin memelilere enjekte edilmesi anjiyonödem, inflamasyon ve şiddetli alerjik reaksiyonlara ve hatta nekroza ve kalıcı doku ölümüne neden olabilir (Ghasemi-Dizgah et al., 2017).



**Şekil 12 Tarantula cubensis**

(<https://homiyo.com/tarantula-cubensis-in-diphtheria/> Erişim Tarihi:23.08.2021)

*Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı (TCAE), örümceğin tamamının %60'lık alkolde işlemden geçirilmesi ile elde edilen ve veteriner hekimlikte kullanılan homeopatik bir ilaçtır. İlacın antiinflamatuvar, antiflojistik, demarkatif, nekrotizan, rezorptif etkilerinin yanı sıra yara iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Stampa, 1986). Etki mekanizması tam açık olmamakla birlikte inflamasyon ve proliferasyona karşı vücudun savunma mekanizmasını harekete geçirdiği düşünülmektedir (Day, 1998). İlaç, demarkatif etki ile hastalıklı ve sağlıklı dokuları hücresel düzeyde ayırabilmektedir ve rejeneratif etki ile hızlıca iyileşme ve epitelizasyon sağlanmaktadır (Sardari et al., 2007). TCAE'nin bu etkileri nedeniyle literatürde farklı hastalıkların tedavisindeki terapötik etkinliğine dair çeşitli araştırmalar mevcuttur. Periferik sinir (Kizilay et al., 2019), tendon (Oryan et al., 2012) ve açık yara (Gul Satar et al., 2017) iyileşmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca kedilerde mavi dil hastalığında (Albay et al., 2010) ve köpek oral papillomatozisinde (Icen et al., 2011) kullanılabilir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada endometriozis tedavisinde medroksiprogesteron asetat ve löprolid asetatı üstün olduğu bildirilmiştir (Dolapcioglu et al., 2013). Diğer yandan antitümöral etkileri ile ilgili çalışmalar köpek meme kanseri ile sınırlıdır. TCAE'nin, tümöral doku ile çevre doku arasında demarkasyon hattı oluşumunu destekleyerek tümör büyümesini durdurduğu saptanmıştır (Koch & Stein, 1980). Ayrıca TCAE'nin apoptozu düzenleyerek köpek meme adenokarsinomunun lokal büyümesini kontrol etmede etkili olabileceği bildirilmiştir (Gultiken et al., 2015). Kanser hücre dizilerinde kaspaz-3'ü aktive ederek apoptotik ölüme neden olduğu düşünülmektedir (Ghasemi-Dizgah et al., 2017).

Bunun yanında TCAE'nin günümüzde henüz çeşitli kanser türlerinin tedavisinde olası etkinliği, güvenilirliği ve etki mekanizmaları ile ilgili bilgilerimiz sınırlıdır ve kanser tedavisindeki rolü araştırılmaya açıktır.

### 3 GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 HÜCRE ÖZELLİKLERİ

Mevcut tez çalışmasında farklı özellikteki prostat kanseri hücre hattı olarak DU-145 ve LNCaP hücreleri, normal hücre hattı olarak ise insan umbilikal ven endotel hücre hattı (HUVEC: Human Umbilical Vein Endothelial Cells) kullanılmıştır.

DU-145 prostat kanseri hücre hattı ilk olarak 1978 yılında, prostat kanseri tanısı almış 69 yaşında kafkas bir erkek olgunun beyin metastazından üretilerek, Stone ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir (Stone et al., 1978). DU-145 prostat kanseri hücre hattı AR ifade etmemektedir ve hormon dirençli kabul edilmektedir. ‘Nude’ farelere enjekte edildiğinde grade II prostat adenokarsinomu oluşturan tümörojenik etkisi bulunmaktadır.

LNCaP prostat kanseri hücre hattı ise; 1977'de Horoszewicz ve arkadaşları tarafından, metastatik prostat adenokarsinomu teşhisi alan 50 yaşındaki bir kafkas erkeğin sol supraklaviküler lenf düğümünün iğne aspirasyon biyopsisinden elde edilerek üretilmiştir (Horoszewicz et al., 1983). LNCaP prostat kanseri hücre hattı androjen ve östrojen reseptörleri ifade etmektedir ve 5- $\alpha$ -dihidrotestosterona (büyüme modülasyonu ve asit fosfataz üretimi) cevap vermektedir. Prostatik asit fosfataz ve prostat spesifik antijen eksprese etmektedir. ‘Nude’ farelere enjekte edildiğinde tümörojenik etkiye sahiptir.

HUVEC hücre hattı, insan umbilikal ven vasküler endotelyumundan elde edilmiştir. Herhangi bir hastalık oluşturacak etkiye sahip değildir ve immün sistemi baskılanmış farelerde tümörojenik etki göstermemektedir. Kanser araştırmalarında kontrol grubu olarak sağlıklı hücre hattı amaçlı kullanılabilir.

### 3.2 HÜCRE KÜLTÜRÜ

Hücre kültürü işlemleri steril laminar hava akımlı kabinde (Thermo Scientific, ABD) gerçekleştirilmiştir. Eksi 80 derece buzdolabında (Haier, Çin) mevcutta bulunan ve amerikan tip kültür koleksiyonundan (ATCC, ABD) temin edilmiş hücreler 37 °C su banyosunda (Nüve, Türkiye) çözülerek, hücre dondurma solüsyonundan arındırıldıktan sonra uygun besiyeri bulunan T<sub>25</sub> filtreli hücre kültür flasklarına ekilmiş ve 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde (Thermo Scientific, ABD) kültüre edilmiştir. Maksimum miktarda hücre elde etmek için hücreler T<sub>25</sub>'te çoğaltıldıktan sonra T<sub>75</sub> flasklara aktarılmış ve bu işlem yeterli hücre miktarına ulaşınca kadar devam edilmiştir.

DU-145 ve LNCaP hücre hatları flasklarda Roswell Park Memorial Institute Medium, (RPMI 1640, Gibco, ABD), HUVEC hücre hatları ise Dulbecco's Modified Eagle's-Medium (DMEM, Gibco, ABD) besiyerine %10 fetal sığır serum (FBS, Gibco, ABD), 2 mM L-glutamin (Gibco, ABD), 50 IU/mL penisilin (Gibco, ABD) ve 50 mg/mL streptomisin (Gibco, ABD) eklenerek kültüre edilmiştir. Analizlerin yapılması aşamasında kullanılmak üzere hücreler fosfat tuzlu çözelti (PBS, Gibco, ABD) ile yıkandıktan sonra tripsin- etilendiamin tetraasetik asit (%0,25 tripsin/1mM EDTA, Gibco, ABD) solüsyonu kullanılarak hücrelerin flasklardan kaldırılmaları sağlanmıştır. Hücreleri sayabilmek amacıyla tripsinizasyon işlemi sonucunda elde edilen hücre süspansiyonundan 50 µl alınarak ependorf tüpe alınmış ve üzerine eşit miktarda tripan mavisi boyası konularak iyice karışması sağlanmıştır. Bu karışımdan 10 µl alıp Toma lamına konularak lamın ortasında bulunan 16 bölme sayılmıştır. Bulunan sayı sulandırma katsayısı ile çarpılarak 1 ml besiyerinde ne kadar hücre olduğu bulunmuştur.

### 3.3 WST-1 HÜCRE CANLILIK ANALİZİ

Potansiyel sitotoksik etkisi olduğu düşünülen bir maddenin hücre canlılığında etkisinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler genel olarak kolorimetrik, luminesans ve enzimatik yöntemlerdir. Kolorimetrik yöntemler içerisinde yer alan WST-1 yönteminde 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-(2,4-disülfofenil)-2H-

tetrazolyum (WST) tetrazolyum tuzu kullanılarak renk değişimi esasına dayalı canlılık analizi yapılmaktadır. Tetrazolyum tuzları, heterosiklik organik yapıda bileşiklerdir. Keşfedildiği yıllardan günümüze kadar 1000’i aşkın üyesi sentezlenmiş ve tanımlanmıştır (Altman, 1976). Tetrazolyum tuzları elektron aldıklarında indirgenerek formazan kristallerine dönüşmesi sonucunda renk değişikliği gerçekteşmektedir. Tetrazolyum tuzunu ancak aktif mitokondri indirgeyerek formazan kristaline çevirebilmektedir. Bu nedenle canlı hücrelerde renk değişimi gözlemlenmesi temeli kullanılarak WST-1 gibi tetrazolyum tuzları canlılık analizi için *in vitro* sıklıkla kullanılmaktadır (Tokur & Aksoy, 2017).

Analizlerde etkisi belirlenmek istenen madde olan TCAE (marka ismi; Theranekron®, Richter Pharma AG) ticari olarak temin edilmiştir ve WST-1 analizi ile hücre canlılığı üzerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Canlılık üzerine olan etkisi değerlendirildikten sonra gerçekteştirilen tüm analizlerde WST-1 analizi ile belirlenen en etkin saat diliminde farklı konsantrasyonlarda TCAE hücrelere uygulanarak deneyler gerçekteştirilmiştir. TCAE’nin hücrelerdeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi amacıyla; WST-1 kit protokolüne göre DU-145, LNCaP ve HUVEC hücreleri öncelikle 96 kuyulu hücre kültürü plakalarına her kuyucuğuna  $2 \times 10^4$  hücre/mL de olacak şekilde ekilmiştir. Belirlenen konsantrasyonlarda TCAE (25, 50, 100 ve 250  $\mu$ M) uygulanarak hücreler 24 ve 48 saat inkübe edildikten sonra her bir kuyuya 10  $\mu$ L WST-1 boyası (Biovision, ABD) eklenip 1-4 saat 37°C’de inkübe edilmiş ve 460-620 nm dalga aralığında ELİSA Reader (Allsheng, Çin)’da ölçümleri yapılmıştır. TCAE ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı %100 olarak kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları % olarak ifade edilmiştir.

### 3.4 ANNEXIN V ANALİZİ

Hücre zarının sitoplazma tarafına bakan tarafında hücre membran lipidlerinden biri olan fosfatidilserin bulunmaktadır ve hücre apoptotik ölüm sürecine girerse normalde iç yüzde bulunan fosfatidilserinler hücre zarının dış yüzüne taşınmaktadır. Erken apoptotik süreçte meydana gelen bu taşınım fosfatidilserine spesifik olarak bağlanan Annexin V floresans işaretlenmesi ile (FITC) belirlenmektedir. Ölü hücreler ise propidyum iyodür boyasıyla hücrelerin boyanması ile analiz edilmektedir. Böylece;

canlı, erken apoptotik, geç apoptotik ve nekrotik hücreler birbirinden ayrılmaktadır (Güleş & Ülker, 2008).

TCAE'nin DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik etkisinin belirlenmesi amacıyla, 6 kuyulu plakaların her bir kuyusuna her bir hücre için  $1 \times 10^5$  hücre ekildikten sonra, 48 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 ve 250  $\mu\text{M}$ ) TCAE uygulanmıştır. İnkübasyon sonunda hücreler tripsin ile kaldırıldıktan sonra, 1200 rpm'de 5 dk santrifüj (Nüve, Türkiye) edilmiş ve 2 kez PBS ile yıkanmıştır. Süspansiyon halindeki hücre gruplarının her bir tüpüne 100  $\mu\text{L}$  Annexin V boyası (Merck Millipore, Almanya) eklendikten sonra karanlıkta 30 dk boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda her bir tüp Muse™ Cell Analyzer (Merck Millipore, Almanya) cihazında analiz edilmiş ve tüm deneyler 3'er kez tekrar edilmiştir.

### **3.5 AKRİDİN-ORANJ BOYAMASI**

Akridin oranj floresan özellikte bir boyadır ve hücrede nükleik asitleri boyamaktadır. Hücre kültürü çalışmalarında kullanım amacı, tüm hücreyi boyayarak floresan mikroskop altında hücre morfolojisini ortaya koymaktır. Böylelikle membran tomurcuklanması, sitoplazmada vakualizasyon, kromatin kondensasyonu veya nükleus fragmentasyonu gibi apoptotik süreç belirteçlerini gözlemlememizi ve nekrotik, apoptotik ve normal hücre ayırımı yapabilmemize olanak sağlamaktadır (Güleş & Ülker, 2008).

TCAE'nin; DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik etkisinin hücre morfolojisinin etkisinin belirlenmesi amacıyla, 6 kuyulu plakaların her bir kuyusuna her bir hücre için  $1 \times 10^5$  hücre ekildikten sonra, hücreler  $37^\circ\text{C}$  ve %5  $\text{CO}_2$  içeren inkübatörde 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, hücelere 48 saat boyunca farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 ve 250  $\mu\text{M}$ ) TCAE uygulanmıştır. Sonrasında, hücreler %4 paraformaldehit ile 15 dk. fikse edilmiş ve fiksasyon sonrasında, iki kez PBS ile yıkama yapılmıştır. Sonrasında hücelere hazırlanan akridin oranj boyası eklenerek karanlıkta 30 dk boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda hücreler 2 kez PBS ile yıkandıktan sonra EVOS Fluid Cell Imaging Station (Thermo Fisher Scientific, ABD) ile görüntülenmiştir.



### 3.6 İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS 22.0 (IBM, NY, ABD) istatistik programı kullanılmıştır. Sayısal veriler 'ortalama  $\pm$  standart sapma' olarak ifade edilmiştir. Deney grupları arasındaki (doz, zaman, hücre tipi) farklılıklar; tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA, Post-Hoc Tukey) ve bağımsız örneklem t testi ile değerlendirilmiştir. İlaç dozu ile canlılık oranları arasındaki ilişki Pearson korelasyon testi ile değerlendirilmiş ve 0,05'den küçük olan p değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir.



## 4 BULGULAR

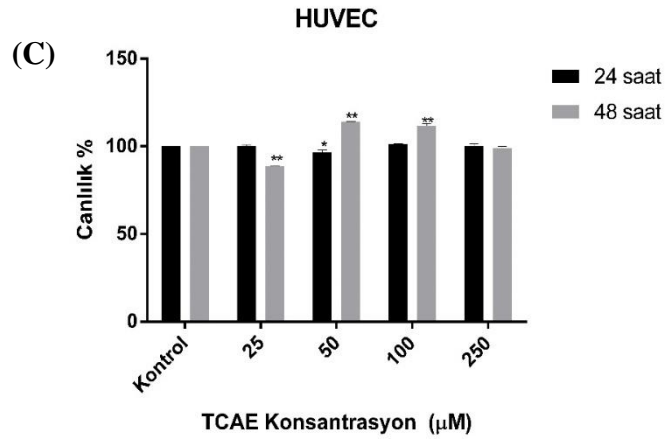
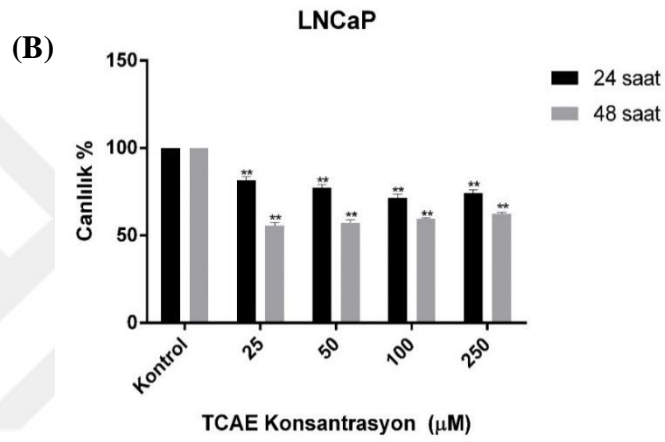
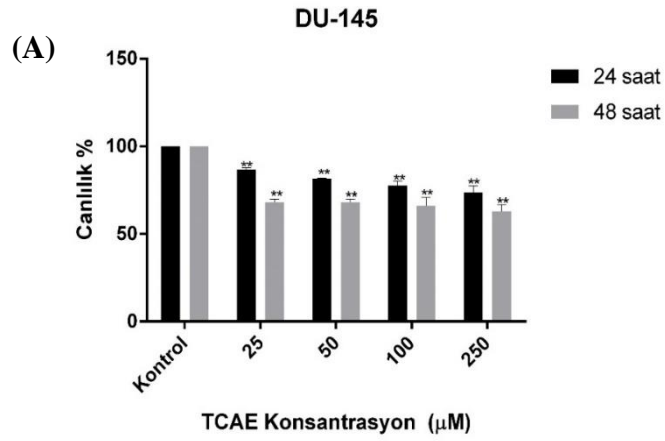
### 4.1 TCAE'NİN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNİN CANLILIĞI ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

TCAE'nin prostat kanseri hücrelerinde sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla DU-145 ve LNCaP hücre hatlarında WST-1 canlılık analizi gerçekleştirilmiş ve TCAE'nin farklı tip iki prostat kanseri hücresinde sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre TCAE'nin hücrelerdeki canlılık oranlarını zamana bağlı olarak azalttığı belirlenmiştir (Şekil 13).

WST-1 canlılık analizinin DU-145 hücrelerindeki sonuçlarına göre; DU-145 hücrelerine 24 saat boyunca farklı dozlarda (25, 50, 100, 250 µM) TCAE uygulaması sonrası canlılık oranları sırasıyla %86,64±1,33, %81,54±0,39, %77,59±2,79, %73,70±3,70 olarak saptanmış olup, canlılığın negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (sırasıyla; p: 0,009; 0,002; 0,001; <0,001; Şekil 13A). Ayrıca DU-145 hücrelerine 48 saat boyunca aynı dozlarda TCAE uygulaması sonrasında ise canlılık oranları sırasıyla %68,13±1,93, %68,15±1,72, %66,14±4,76 ve %62,76±4,21 saptanmış olup, canlılığın negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (sırasıyla p: 0,001; 0,001; 0,001; <0,001; Şekil 13A). Doza bağımlı canlılık oranları değerlendirildiğinde, korelasyon analizi sonuçlarına göre, TCAE uygulaması sonrası DU-145 hücrelerinde 24 saat sonundaki canlılık oranlarının artan TCAE dozları ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı ( $r=-0,785$ ;  $p=0,007$ ), 48 saat sonundaki canlılık oranlarının ise artan TCAE dozları ile azalmasına rağmen bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ( $r=-0,591$ ;  $p=0,072$ ). TCAE'nin uygulama süresine göre değerlendirildiğinde ise 48 saat boyunca uygulamanın 24 saate göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha etkili olduğu bulunmuştur ( $p<0,001$ ).

WST-1 canlılık analizinin LNCaP hücrelerindeki sonuçlarına göre; LNCaP hücrelerine 24 saat boyunca farklı dozlarda (25, 50, 100, 250 µM) TCAE uygulaması sonrasında canlılık oranları sırasıyla %81,54±2,20, %77,32±1,89, %71,62±1,91, %74,26±1,82 olarak saptanmış olup, canlılığın negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (sırasıyla; p: 0,001; <0,001; <0,001; <0,001; Şekil 13B). Ayrıca LNCaP hücrelerine 48 saat boyunca aynı dozlarda TCAE uygulaması sonrasında ise canlılık oranları sırasıyla %55,68±1,84, %57,11±2,06, %59,44±0,66, %62,54±0,78 saptanmış olup canlılığın negatif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (tüm dozlarda p<0,001; Şekil 13B). Doza bağımlı canlılık oranları değerlendirildiğinde, korelasyon analizi sonuçlarına göre, TCAE uygulaması sonrası LNCaP hücrelerinde 24 saat sonundaki canlılık oranlarının artan TCAE dozları ile azalmasına rağmen bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı (r=-0,614; p=0,059), 48 saat sonundaki canlılık oranlarının ise 25 µM dozda en düşük seviyeye ulaştığı ve bu dozdan itibaren artan TCAE dozları ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir (r=0,904; p=0,002). TCAE'nin uygulama süresine göre değerlendirildiğinde ise, 48 saat boyunca uygulamanın LNCaP hücrelerinde 24 saat uygulamasına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha etkili olduğu bulunmuştur (p<0,001).

WST-1 canlılık analizinin HUVEC hücrelerindeki sonuçlarına göre; HUVEC hücrelerine 24 ve 48 saat boyunca TCAE dozları (25, 50, 100 ve 250 µM) uygulandığında 48 saat uygulama sonrasında bile toksik etkisi olmadığı (sırasıyla, %88,63±0,09, %113,94±0,41, %111,74±1,30 ve %99,04±1,02) gözlenmiştir (Şekil 13C).



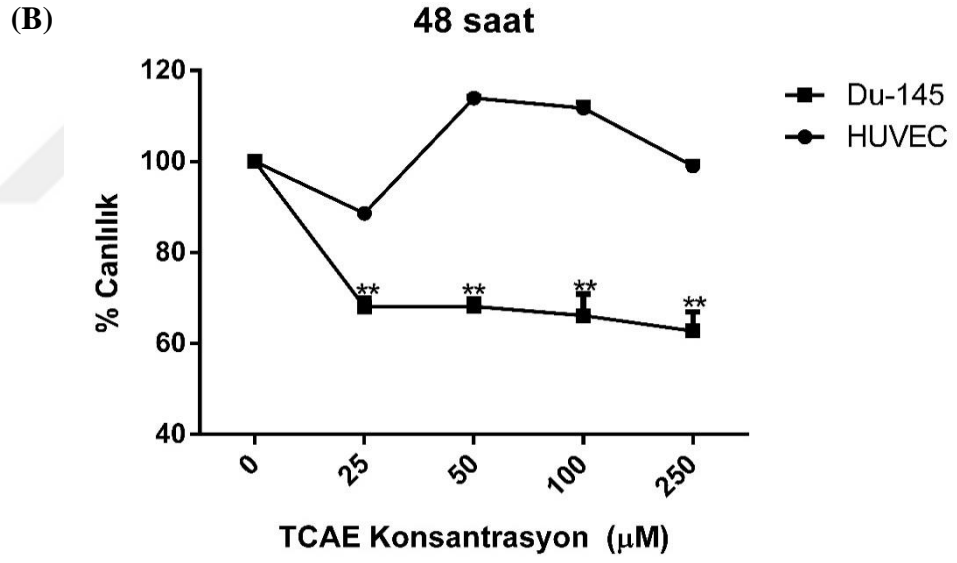
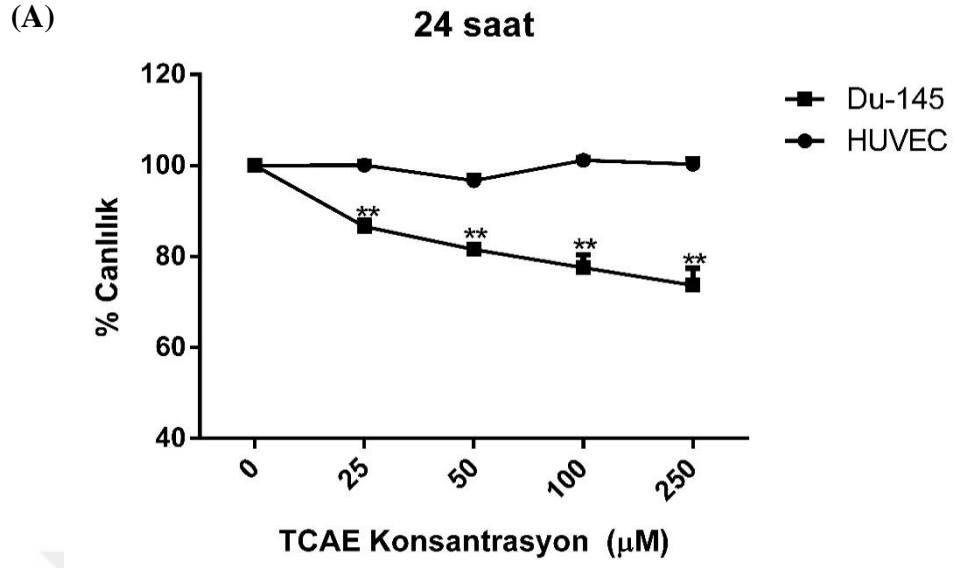
**Şekil 13 TCAE'nin DU-145, LNCaP ve HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkisinin belirlenmesi.** Farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 ve 250 µM) 24 ve 48 saat boyunca TCAE uygulanan (A) DU-145, (B) LNCaP ve (C) HUVEC hücrelerinde canlılık yüzdeleri kontrol grubu ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir (TCAE:*Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı; \*:p<0,05; \*\*:p<0,01).

TCAE uygulaması sonrası DU-145 ve HUVEC hücrelerindeki WST-1 canlılık analizi sonuçları karşılaştırıldığında; tüm dozlarda, hem 24 saat hem de 48 saat sonundaki canlılık oranlarının DU-145 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük olduğu saptanmıştır ( $p < 0,01$ ; Tablo 13, Şekil 14).

**Tablo 13 Farklı dozlardaki TCAE'nin 24 ve 48 saatlik uygulamasının DU-145 ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması**

TCAE dozları	HUVEC	DU-145	<i>p</i>
	(24 saat)	(24 saat)	
	(% canlılık ± SS)	(% canlılık ± SS)	
25 µM	100,11±0,77	86,64±1,33	0,006
50 Mm	96,70±1,07	81,54±0,39	0,003
100 µM	101,16±0,57	77,59±2,79	0,007
250 µM	100,28±1,17	73,70±3,70	0,009
TCAE dozları	HUVEC	DU-145	<i>p</i>
	(48 saat)	(48 saat)	
	(% canlılık ± SS)	(% canlılık ± SS)	
25 µM	88,63±0,09	68,13±1,93	0,004
50 µM	113,94±0,41	68,15±1,72	0,001
100 µM	111,74±1,30	66,14±4,76	0,006
250 µM	99,04±1,02	62,76±4,21	0,007

SS: Standart sapma; TCAE: *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı

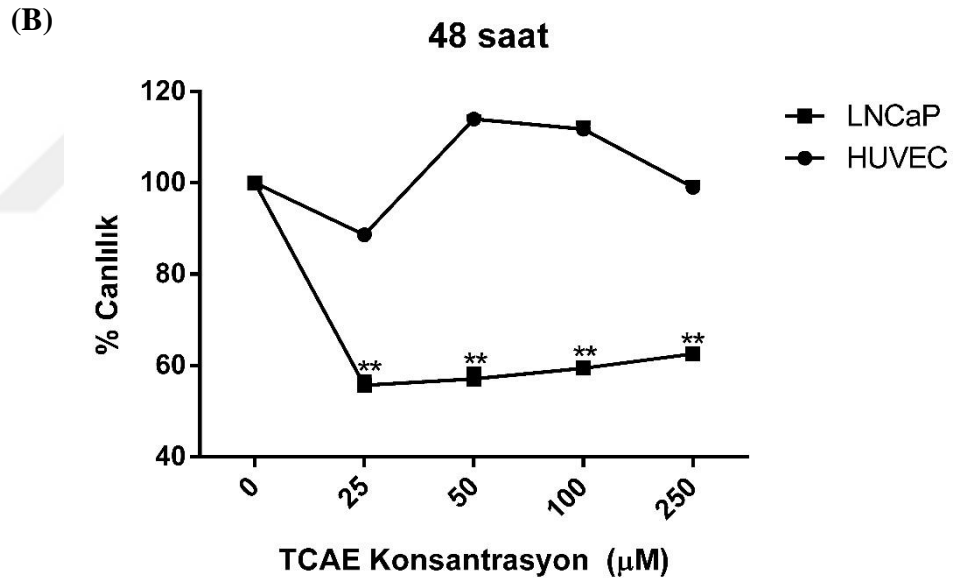
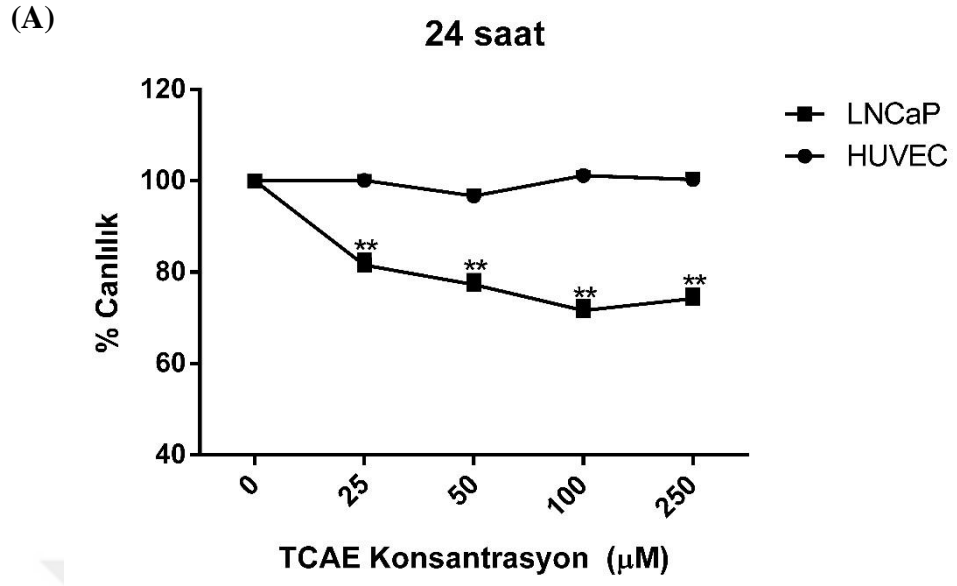


**Şekil 14** Farklı dozlardaki TCAE'nin DU-145 ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması. Farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 ve 250  $\mu\text{M}$ ) (A) 24 ve (B) 48 saat TCAE uygulanan DU-145 ve HUVEC hücrelerindeki canlılık yüzdeleri karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir (TCAE: *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ).

TCAE uygulaması sonrası LNCaP ve HUVEC hücrelerinin canlılık analizi sonuçları karşılaştırıldığında; tüm dozlarda hem 24 saat hem de 48 saat sonundaki canlılık oranları LNCaP hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuştur ( $p < 0,01$ ; Tablo 14, Şekil 15).

**Tablo 14 Farklı dozlardaki TCAE'nin 24 ve 48 saatlik uygulamasının LNCaP ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması**

TCAE dozları	HUVEC	LNCaP	<i>p</i>
	(24 saat)	(24 saat)	
	(% canlılık ± SS)	(% canlılık ± SS)	
25 µM	100,11±0,77	81,54±2,20	0,008
50 Mm	96,70±1,07	77,32±1,89	0,006
100 µM	101,16±0,57	71,62±1,91	0,002
250 µM	100,28±1,17	74,26±1,82	0,003
TCAE dozları	HUVEC	LNCaP	<i>p</i>
	(48 saat)	(48 saat)	
	(% canlılık ± SS)	(% canlılık ± SS)	
25 µM	88,63±0,09	55,68±1,84	0,002
50 µM	113,94±0,41	57,11±2,06	0,001
100 µM	111,74±1,30	59,44±0,66	<0,001
250 µM	99,04±1,02	62,54±0,78	0,001



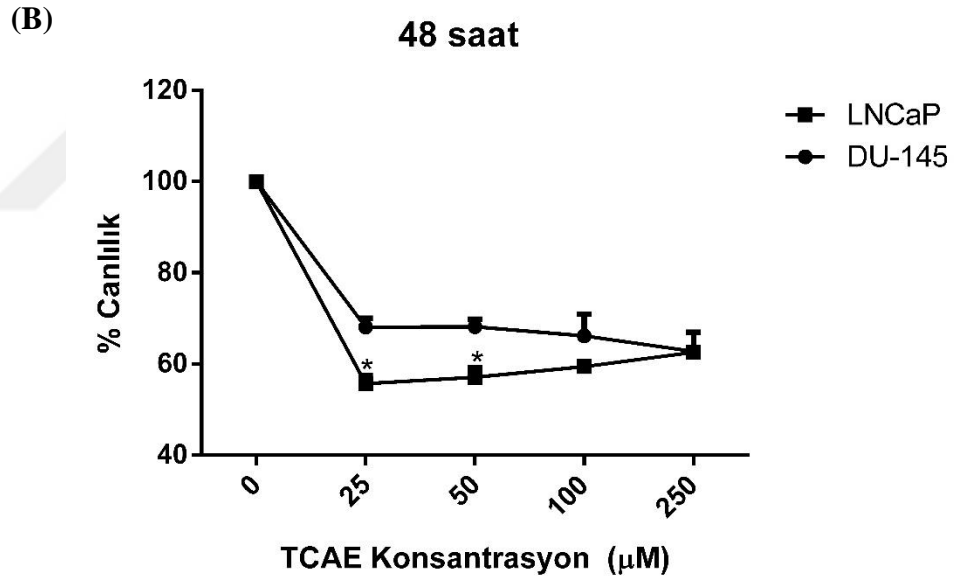
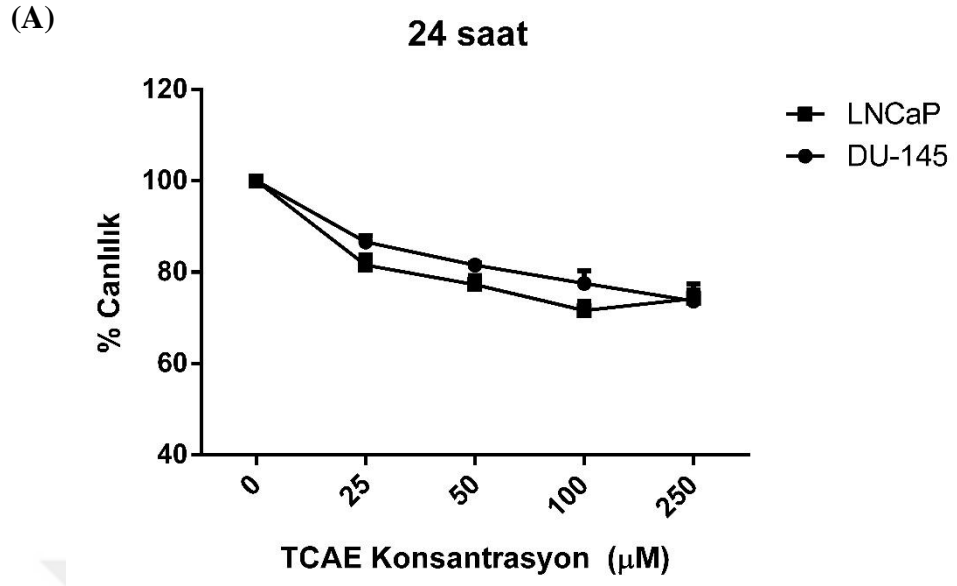
**Şekil 15** Farklı dozlardaki TCAE'nin LNCaP ve HUVEC hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması. Farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 ve 250  $\mu\text{M}$ ) (A) 24 ve (B) 48 saat TCAE uygulanan LNCaP ve HUVEC hücrelerindeki canlılık yüzdeleri karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir (TCAE: *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ).



TCAE uygulamasının, iki farklı prostat kanseri hücre hattı olan DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki canlılık analizi sonuçları karşılaştırıldığında, 24 saat sonundaki canlılık oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamışken, 48 saat sonundaki canlılık oranlarında ise 25 ve 50  $\mu$ M dozlarında LNCaP hücrelerinde canlılık oranları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha düşük saptanmıştır ( $p<0,05$ ; Tablo 15, Şekil 16).

**Tablo 15 Farklı dozlardaki TCAE'nin 24 ve 48 saatlik uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması**

TCAE dozları	DU-145	LNCaP	<i>p</i>
	(24 saat)	(24 saat)	
	(% canlılık $\pm$ SS)	(% canlılık $\pm$ SS)	
<b>25 <math>\mu</math>M</b>	86,64 $\pm$ 1,33	81,54 $\pm$ 2,20	0,107
<b>50 Mm</b>	81,54 $\pm$ 0,39	77,32 $\pm$ 1,89	0,090
<b>100 <math>\mu</math>M</b>	77,59 $\pm$ 2,79	71,62 $\pm$ 1,91	0,130
<b>250 <math>\mu</math>M</b>	73,70 $\pm$ 3,70	74,26 $\pm$ 1,82	0,866
TCAE dozları	DU-145	LNCaP	<i>p</i>
	(48 saat)	(48 saat)	
	(% canlılık $\pm$ SS)	(% canlılık $\pm$ SS)	
<b>25 <math>\mu</math>M</b>	68,13 $\pm$ 1,93	55,68 $\pm$ 1,84	0,022
<b>50 <math>\mu</math>M</b>	68,15 $\pm$ 1,72	57,11 $\pm$ 2,06	0,028
<b>100 <math>\mu</math>M</b>	66,14 $\pm$ 4,76	59,44 $\pm$ 0,66	0,188
<b>250 <math>\mu</math>M</b>	62,76 $\pm$ 4,21	62,54 $\pm$ 0,78	0,948



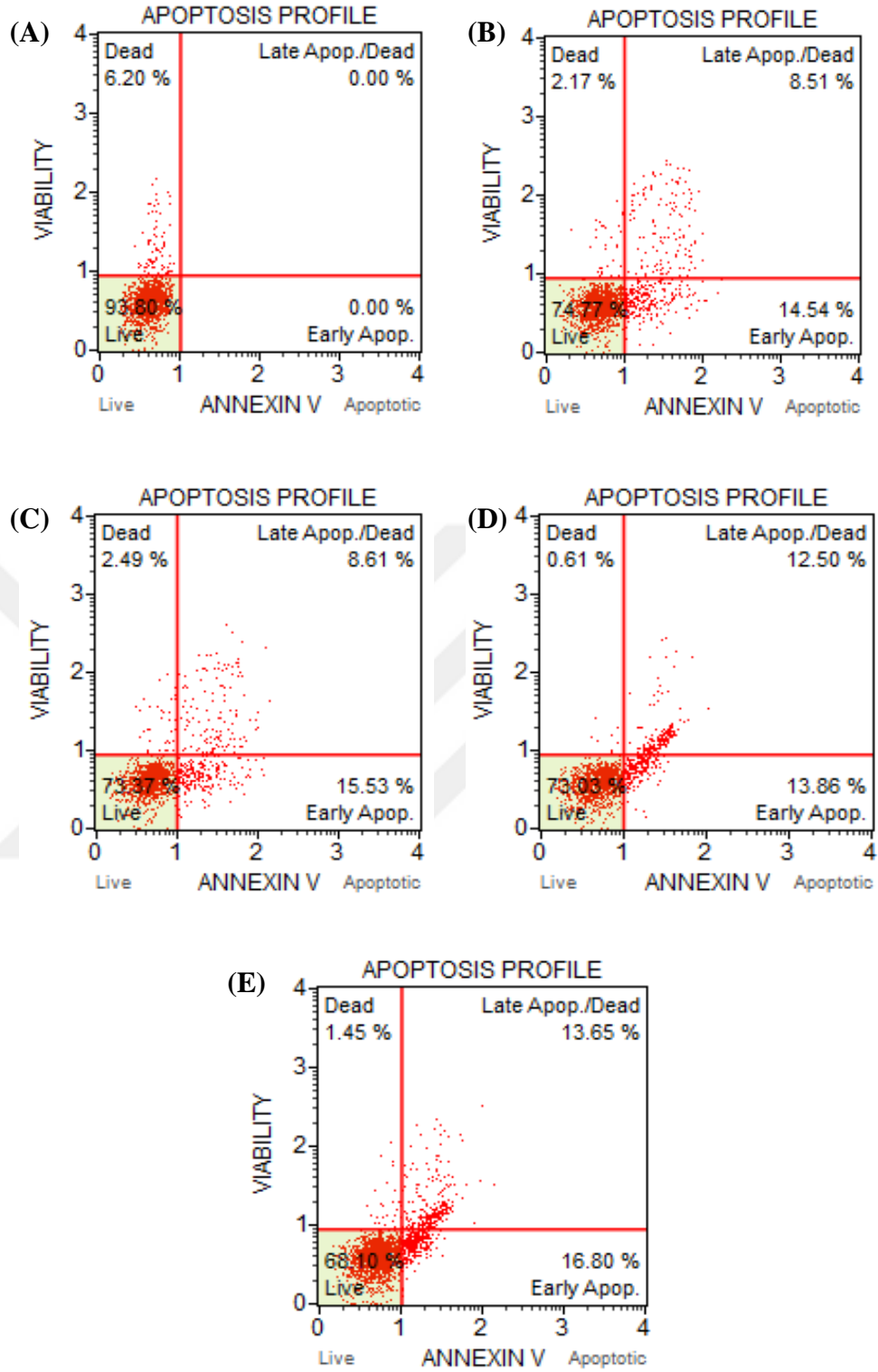
**Şekil 16** Farklı dozlardaki TCAE'nin DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki canlılık analizi sonuçlarının karşılaştırılması. Farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100 ve 250  $\mu\text{M}$ ) (A) 24 ve (B) 48 saat TCAE uygulanan DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki canlılık yüzdeleri karşılaştırılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir (TCAE: *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ).

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde 48 saat boyunca TCAE uygulamasının hem DU-145 hem de LNCaP hücrelerinde 24 saat uygulamasına göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, DU-145 hücrelerinin agresif özelliğinden dolayı TCAE'nin en etkin dozu 250 µM olmasına rağmen, hormon duyarlı LNCaP hücrelerinde TCAE'nin en etkin dozu 25 µM olarak belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bu bulgular LNCaP hücrelerinin DU-145 hücrelerine göre TCAE'ye daha duyarlı olduğunu göstermiştir.

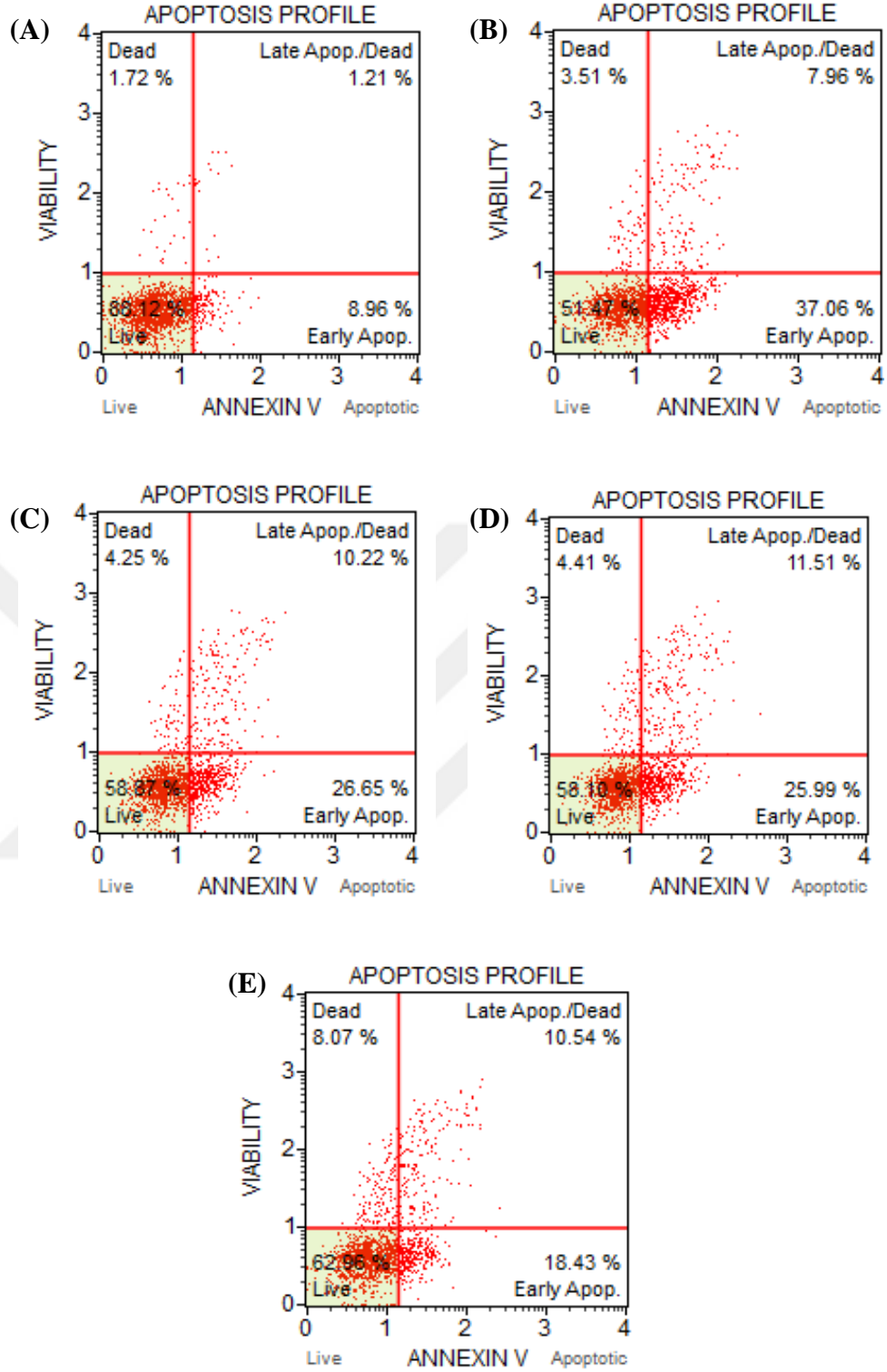
#### **4.2 TCAE'NİN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE APOPTOTİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

TCAE'nin apoptotik hücre ölümü üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla DU-145 ve LNCaP hücre hatlarında Annexin V analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerde TCAE'nin farklı tiplerdeki prostat kanseri hücrelerinde apoptotik hücre yüzdesini arttırdığı ve özellikle erken apoptotik hücre yüzdesinde anlamlı bir artış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 17-19;  $p < 0,001$ ).

DU-145 hücrelerinde TCAE'nin apoptotik etkisi incelendiğinde; farklı dozlarda (25, 50, 100, 250 µM) TCAE uygulanan hücrelerde erken ve geç apoptotik hücre oranları sırasıyla  $14,54 \pm 1,00$  ve  $8,51 \pm 0,43$ ,  $15,53 \pm 1,12$  ve  $8,61 \pm 0,04$ ,  $13,86 \pm 0,44$  ve  $12,50 \pm 1,13$ ,  $16,80 \pm 0,39$  ve  $13,65 \pm 0,40$  olarak saptanmıştır ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam apoptotik hücre oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir (tüm dozlarda  $p < 0,001$ ; Şekil 17 ve Şekil 19). Doza bağımlı apoptotik hücre oranları değerlendirildiğinde; TCAE uygulaması sonrası DU-145 hücrelerinde 48 saat sonundaki toplam apoptotik hücre oranlarının artan TCAE dozları ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır ( $r = 0,697$ ;  $p = 0,025$ ).

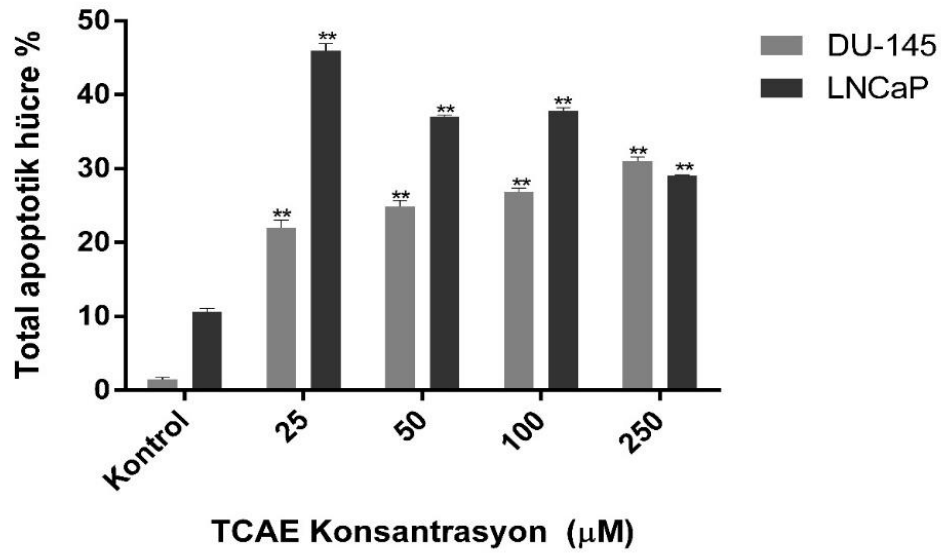


**Şekil 17** Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 hücrelerinde neden olduğu apoptotik etki. (A) Kontrol, (B) 25  $\mu$ M, (C) 50  $\mu$ M, (D) 100  $\mu$ M ve (E) 250  $\mu$ M TCAE uygulamasının sonrasında elde edilen Annexin V histogramları.



**Şekil 18** Farklı dozlarda TCAE uygulamasının LNCaP hücrelerinde neden olduğu apoptotik etki. (A) Kontrol, (B) 25  $\mu$ M, (C) 50  $\mu$ M, (D) 100  $\mu$ M ve (E) 250  $\mu$ M TCAE uygulamasının sonrasında elde edilen Annexin V histogramları.

LNCaP hücrelerinde TCAE'nin apoptotik etkisi incelendiğinde ise; farklı dozlarda (25, 50, 100, 250  $\mu$ M) TCAE uygulanan hücrelerde erken ve geç apoptotik hücre oranları sırasıyla  $37,06 \pm 1,58$  ve  $7,96 \pm 0,41$ ,  $26,65 \pm 0,84$  ve  $10,22 \pm 0,08$ ,  $25,99 \pm 0,73$  ve  $11,51 \pm 0,36$ ,  $18,43 \pm 2,37$  ve  $10,54 \pm 0,49$  olarak saptanmıştır ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam apoptotik hücre oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir (tüm dozlarda  $p < 0,001$ ; Şekil 18 ve Şekil 19). Doza bağımlı apoptotik hücre oranları değerlendirildiğinde, TCAE uygulaması sonrası LNCaP hücrelerinde 48 saat sonundaki apoptotik hücre oranlarının, WST-1 verileri ile uyumlu bir şekilde 25  $\mu$ M dozda en yüksek seviyeye ulaştığı ve bu dozdan itibaren artan TCAE dozları ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir ( $r=0,896$ ;  $p=0,003$ ).



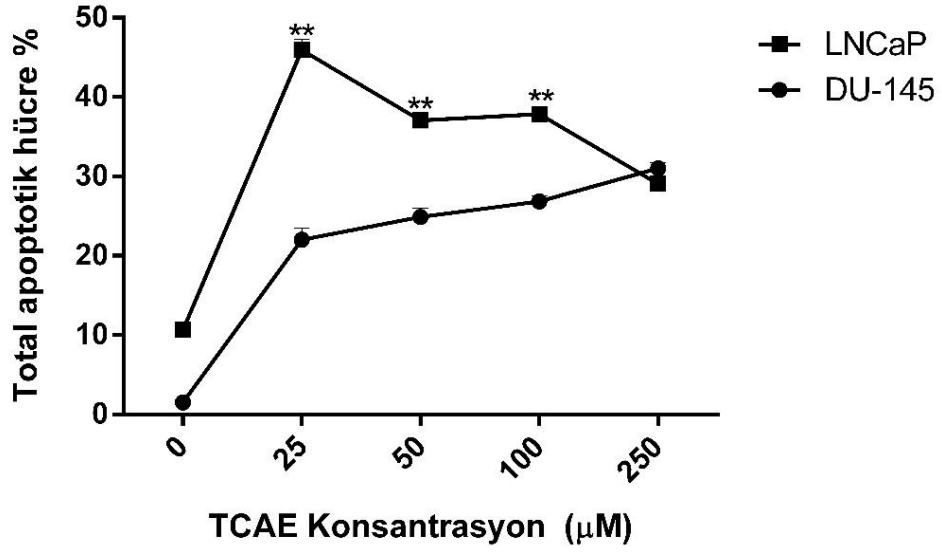
**Şekil 19** Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik etkisinin kontrol grubu ile karşılaştırılması. (TCAE: *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı; \*:  $p < 0,05$ ; \*\*:  $p < 0,01$ ).

Ayrıca; TCAE uygulamasının, iki farklı prostat kanseri hücre serisi olan DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki Annexin V analizi sonuçları karşılaştırıldığında; toplam apoptotik hücre oranlarının, 25, 50 ve 100  $\mu$ M TCAE dozlarında, LNCaP

hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğu saptanmıştır (Tablo 16, Şekil 20,  $p < 0,01$ ). 250  $\mu\text{M}$  dozda ise, LNCaP hücrelerindeki apoptotik hücre oranının, DU-145 hücrelerindeki apoptotik hücre oranına göre azaldığı görülmüştür.

**Tablo 16 Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik hücre oranlarının karşılaştırılması**

TCAE dozları	Apoptoz aşaması	DU-145 (% apoptotik hücre $\pm$ SS)	LNCaP (% apoptotik hücre $\pm$ SS)	<i>p</i>
25 $\mu\text{M}$	Erken	14,54 $\pm$ 1,00	37,06 $\pm$ 1,58	0,003
	Geç	8,51 $\pm$ 0,43	7,96 $\pm$ 0,41	
	Toplam	22,04 $\pm$ 1,44	45,96 $\pm$ 1,32	
50 $\mu\text{M}$	Erken	15,53 $\pm$ 1,12	26,65 $\pm$ 0,84	0,004
	Geç	8,61 $\pm$ 0,04	10,22 $\pm$ 0,08	
	Toplam	24,90 $\pm$ 1,08	37,27 $\pm$ 0,28	
100 $\mu\text{M}$	Erken	13,86 $\pm$ 0,44	25,99 $\pm$ 0,73	0,003
	Geç	12,50 $\pm$ 1,13	11,51 $\pm$ 0,36	
	Toplam	26,85 $\pm$ 0,69	37,86 $\pm$ 0,50	
250 $\mu\text{M}$	Erken	16,80 $\pm$ 0,39	18,43 $\pm$ 2,37	0,074
	Geç	13,65 $\pm$ 0,40	10,54 $\pm$ 0,49	
	Toplam	31,01 $\pm$ 0,78	29,06 $\pm$ 0,12	



**Şekil 20** Farklı dozlarda TCAE uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki apoptotik etkisinin karşılaştırılması (TCAE: *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı; \*:p<0,05; \*\*:p<0,01).

Elde edilen Annexin V verileri değerlendirildiğinde, 250 µM TCAE uygulamasının DU-145 hücrelerinde en yüksek oranda toplam apoptotik hücre ölümüne (%30,45±0,78) neden olduğu belirlenmekle birlikte, LNCaP hücrelerinde ise 25 µM TCAE'nin en yüksek oranda (%45,02±1,32) toplam apoptotik hücre ölümüne neden olduğu tespit edilmiştir ve elde edilen bulgular WST-1 analizinden elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

#### **4.3 TCAE'NİN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNİN MORFOLOJİSİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

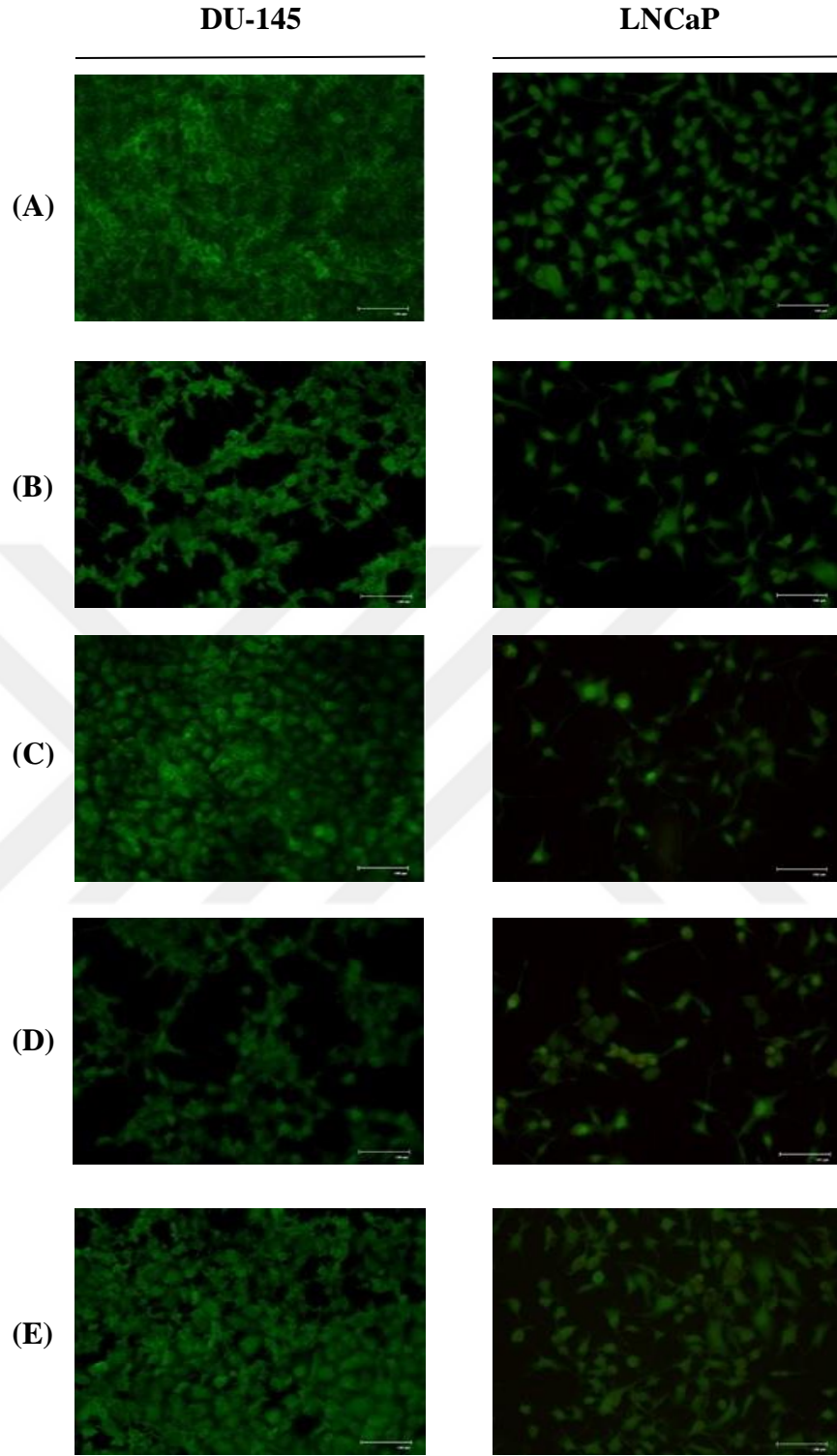
TCAE'nin apoptotik hücre ölümü ile ilişkili hücrelerde neden olduğu morfolojik değişikliklerin gösterilmesi amacıyla DU-145 ve LNCaP hücre hatlarında Akridin Oranj boyaması gerçekleştirilmiş ve hücreler floresan mikroskop altında görüntülenmiştir. Elde edilen veriler TCAE'nin farklı tip iki prostat kanseri hücrelerinin genel morfolojik yapısında değişimlere neden olduğu göstermektedir (Şekil 21). Kırk sekiz saat sonunda DU-145 hücrelerinde TCAE'nin artan konsantrasyonuna bağlı olarak hücre/sitoplazma oranının bozulduğu, hücrelerin



kontrol grubuna göre daha küçük morfolojiye sahip olduğu ve kromatin yoğunlaşması gözlemlenmiştir. LNCaP hücrelerinde ise; DU-145 hücrelerindeki hücresel değişikliklere ek olarak kromatin yoğunlaşması, membran tomurcuklanması, vakuoler hasar tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, TCAE LNCaP hücrelerinde DU-145 hücrelerine göre hücre morfolojisinde daha fazla apoptotik değişikliklere neden olmuştur. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde TCAE'nin hormon duyarlı prostat kanseri hücrelerinde hormon dirençli metastatik prostat kanseri hücrelerine göre daha fazla etkili olduğu ortaya konmuştur.





**Şekil 21 TCAE'nin DU-145 ve LNCaP hücrelerinde neden olduğu apoptotik etkinin morfolojik olarak görüntülenmesi. (A) Kontrol, (B) 25 µM, (C) 50 µM, (D) 100 µM ve (E) 250 µM TCAE uygulamasının DU-145 ve LNCaP hücrelerinde neden olduğu morfolojik değişimler akridin oranj boyaması ile görüntülenmiştir.**

## 5 TARTIŞMA VE SONUÇ

TCAE'nin anti-tümöral etkileri klinik veterinerlik tıbbında kanıtlanmış olmasına rağmen, insan kanserleri üzerindeki etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Meme ve kolon kanseri üzerindeki etkileriyle ilgili çeşitli çalışmalar mevcut olmakla beraber prostat kanserindeki etkisine dair henüz bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada ilk defa TCAE'nin iki farklı tip prostat kanseri hücresindeki sitotoksik ve apoptotik etkisi kontrol hücresi ile karşılaştırılarak *in vitro* olarak belirlenmiştir. Elde edilen bulgular TCAE'nin prostat kanseri hücrelerinde canlılık oranlarını azalttığını ve apoptotik hücre yüzdesini arttırdığını göstermiştir. Böylelikle mevcut çalışma ile TCAE'nin potansiyel bir anti-kanser terapötik madde olarak değerlendirilmesini destekleyici veriler elde edilmiştir.

Prostat kanseri, tüm dünyada erkeklerde ikinci en sık görülen kanserdir (Sung et al., 2021). Yaş, genetik faktörler, metabolik ve hormonal faktörler, diyet ve enfeksiyöz ilişkili faktörler gibi çeşitli faktörler prostat kanseri gelişiminde rol oynamaktadır. Tedavisinde ise cerrahi tedavinin yanı sıra radyasyon tedavisi, hormonal tedavi, kemoterapi, immünoterapi veya bu tedavilerin kombinasyonu gibi kanserin evresine göre seçilip uygulanabilecek farklı tedavi seçenekleri bulunmaktadır (Mottet et al., 2021). Bununla birlikte, uygulanacak her tedavi, cerrahi komplikasyon riski ve ilaç yan etkileri gibi istenmeyen sonuçları da beraberinde getirmektedir. Bu durum, kanser tedavisinde olası yan etkileri en aza indirmek için yeni tedavi arayışı ihtiyacını doğurmaktadır.

TCAE, '*Tarantula cubensis*' örümcek türünden elde edilmektedir, veteriner hekimlikte homeopatik ilaç olarak kullanılmaktadır ve antiinflamatuvar, demarkatif, nekrotizan, rezorptif etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Stampa, 1986). TCAE'nin homeopatik etkileri ile ilgili gözlemler ve araştırmalar öncelikle yara iyileşmesi üzerine olmuştur. Epitelizasyonu uyardığı ve hızlandırdığı bildirilmiştir (Satar et al.,

2017; Sardari et al., 2007). Klinik çalışmalar TCAE'nin hayvanlarda antiinflamatuvar etkilerini göstermiştir (Gürbulak et al., 2014). TCAE'nin sitokinler ve akut faz proteinleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 ve IFN $\gamma$ , düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmamıştır (Corum et al., 2016). Ancak, Kızılay ve ark. (2019), sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş periferik sinir yaralanmasında TCAE'nin antiinflamatuvar ve nöroprotektif etkisinin olduğunu ve bu etkinin TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bir diğer çalışmada Makav ve ark. (2020), sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş gastrik ülser modelinde TCAE'nin terapötik etkinliğinin olduğunu, ranitidine göre daha düşük gastrik erozyon ve daha iyi etkinlik sergilediğini, pro-inflamatuvar sitokinler olan IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Genital organlarda TCAE'nin etkilerinin değerlendirildiği birkaç çalışma dişi hayvanlarda yapılmıştır. İneklerde doğum sonrası uterus rejenerasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir (Kaçar et al., 2007). Kozlu ve ark. (2021), sıçan ovaryumunda deneysel olarak oluşturulmuş iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde TCAE'nin iyileştirici etkilerinin olabileceğini öne sürmüşlerdir. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş endometriozis modelinde TCAE'nin endometriozis odaklarında atrofiye neden olduğu ve medroksiprogesteron asetat ve löprolid asetat tedavilerine göre daha üstün olduğunu bildirilmiştir (Dolapcioglu et al., 2013). Bu çalışmanın sonuçları, her ne kadar etki mekanizmasına yönelik veriler belirsiz olsa da TCAE'nin hormonal etkilerinin de olabileceğini düşündürebilir.

Benign tümörlerde yapılmış hayvan çalışmaları TCAE'nin proliferatif hastalıklarda etkili olabileceğini göstermiştir. Çam ve ark. (2007), sığırlarda cilt papillomatozisinde TCAE'nin tam remisyon sağlamada etkili olduğunu bildirmişlerdir. İçen ve ark. (2011), tedavisinde cerrahi ve/veya sistemik kemoterapötiklerin kullanıldığı köpek oral papillomatozisinde TCAE'nin etkinliğini araştırmışlar ve 5 haftalık tedavi sonunda tüm olgularda tam remisyon elde ettiklerini bildirmişlerdir. İneklerde meme başı papillomatozisinde yapılan bir çalışmada ise, TCAE'nin papillomatozis tedavisinde kullanılan levamizolden daha etkili olduğu gösterilmiştir (Paksoy ve ark., 2015).

TCAE'nin bazı kanser türlerinin tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Gultiken et al., 2015; Er et al., 2017; Ghasemi-Dizgah et al., 2017). Ancak TCAE'nin kanser tedavisindeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmaların çoğu meme kanseri üzerine gerçekleştirilmiştir ve bu araştırmalara ışık tutan ilk çalışma 1980 yılında Koch ve Stein tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada, TCAE'nin köpek meme tümörlerinde demarkasyon hattı oluşturarak tümör büyümesini durdurduğu belirlenmiştir (Koch & Stein, 1980). Daha sonraları, Gültiken ve Vural (2007), köpek meme tümörlerinde TCAE'nin etkinliğini araştırmışlar ve ameliyat öncesi TCAE uygulamasının, benign tümörlerde regresyona neden olduğunu, malign tümörlerde ise regresyon tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Bununla beraber ameliyat öncesi TCAE uygulanan grupta tümör nüksü görülmezken, TCAE uygulanmayan gruptaki köpeklerde ameliyat sonrası dönemde tümör nüksü (6/10) ve akciğer metastazı (2/10) saptanmıştır. TCAE uygulamasının malign meme tümörlerinde operasyon sonrası nüksü azaltabileceği sonucuna varmışlardır. Daha yakın zamanda bir diğer çalışmada, Er ve ark. (2019), ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş kolon kanseri modelinde TCAE'nin etkilerini araştırmışlar ve kolon kanserinde antikanser etkisinin olabileceğini bildirmişlerdir. TCAE'nin TNF- $\alpha$  sentezinde neden olduğu artmış uyarının olası etki mekanizmaları içinde yer alabileceğini öne sürmüşlerdir.

Literatürde homeopatik ilaçların prostat kanseri üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalar sınırlıdır ve ilk olarak 2006 yılında Jonas ve ark. tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada; DU-145, LNCaP ve MAT-LyLu prostat kanseri hücrelerinde yaygın olarak kullanılan 5 farklı homeopatik ilacın, hücre canlılığı ve gen ekspresyonu üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı, prostat kanseri hücrelerinde apoptotik etki saptanmadığı bildirilmiştir. Ancak, aynı çalışmada *in vivo* olarak MAT-LyLu hücreleri enjekte edilmiş sıçanlarda oluşturulmuş prostat kanseri modelinde, homeopatik ilaçlarla tedavi sonrası, tümör insidansı ve tümör hacminde azalma, apoptotik hücre ölümünde artma olduğu gösterilmiştir (Jonas et al., 2006). Bu çalışmanın devamı niteliğindeki çalışmalarda, Thangapazham ve ark. (2006a), prostat kanseri hayvan modelinde homeopatik tedavi sonrası apoptotik genlerde (*bax*, *bcl-2*, *bcl-x*, *kaspaz-1*, *kaspaz-2*, *kaspaz3*) ve sitokin (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ) düzeylerinde anlamlı değişiklik saptamamışlardır. Ayrıca, prostat kanseri hücrelerine (DU-145, LNCaP, MAT-LyLu)

homeopatik ilaç uygulamasının hücre büyümesi ve canlılığı üzerinde bir etkisi olmadığı ve apoptotik gen ekspresyonunda değişikliğe neden olmadığı bildirilmiştir (Thangapazham et al., 2006b). Homeopatik tedavinin prostat kanseri hücreleri üzerinde olumlu etkileri cüce palmye bitkisi olarak bilinen '*sabal serrulata*' bitkisinden hazırlanan ilacın prostat kanseri hücrelerine (DU-145, PC-3) uygulanması ile gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarında, hücre proliferasyonunda PC-3 hücrelerinde %33, DU-145 hücrelerinde ise %23 azalma saptanmıştır. Ayrıca *in vivo* olarak prostat kanseri fare modelinde, tedavi sonrası kontrol grubuna göre tümör boyutunda anlamlı küçülme bildirilmiştir (MacLaughlin et al., 2006).

Çalışmamızda, TCAE'nin sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği WST-1 canlılık analizi sonuçlarında, hem DU-145 hem de LNCaP hücrelerinde 48 saat sonundaki canlılık oranları 24 saate göre daha düşük bulunmuştur ve TCAE'nin zaman bağımlı olarak her iki prostat kanseri hücre hattında canlılığı azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca uygulanan TCAE dozları ile canlılık oranları değerlendirildiğinde, hormon duyarlı olan LNCaP hücrelerinde en etkin doz 25 µM, hormon dirençli DU-145 hücrelerinde en etkin doz 250 µM olarak saptanmıştır. TCAE'nin LNCaP hücrelerinde canlılık oranlarını DU-145 hücrelerine göre daha fazla azaltması LNCaP hücrelerindeki etkinliğinin daha fazla olduğunu göstermiştir. Kontrol hücrelerimiz olan HUVEC hücrelerinde ise TCAE'nin sitotoksik etkisinin olmadığı saptanmıştır. Hatta, artan dozlarda canlılık oranlarının artması kanserojen olmayan hücrelerde proliferatif etkiye neden olabileceğini düşündürmüştür. HUVEC hücrelerinin, her iki prostat kanseri hücrelerine göre canlılık oranlarının daha yüksek olması, TCAE'nin kanser hücrelerine özgü sitotoksik etki gösterdiği şeklinde yorumlanabilir. Er ve ark. (2017), meme kanseri hücre hattı olan MCF-7 hücrelerinde TCAE'nin proliferasyon üzerinde inhibitör etkisinin olduğunu, bu etkinin konsantrasyon ve zaman bağımlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Bir diğer *in vitro* çalışmada, Ghasemi-Dizgah ve ark. (2017), farklı kanser hücrelerinde TCAE'nin etkilerini araştırmışlardır ve bu amaçla insan meme dokusu kanser hücre hattı (MCF-7) ve insan baş ve boyun kanser hücre hattı (HN-5), sağlıklı kontrol olarak da insan embriyonik böbrek hücre hattı (HEK293) kullanmışlardır. TCAE'nin sitotoksik etkileri değerlendirildiğinde, negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, TCAE'nin doz bağımlı şekilde hücre proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, kanser hücre hatları üzerindeki

sitotoksik etkisinin, normal hücre hattı olan HEK293'e göre daha fazla olduğu, hatta HN-5 hücrelerinde MCF-7 hücrelerine göre de daha fazla sitotoksik etki olduğu bildirilmiştir.

TCAE'nin prostat kanseri hücrelerinde sitotoksik etkisinin gösterilmesinin ardından, daha etkin zaman dilimi olan 48 saatlik TCAE uygulamasının prostat kanseri hücre hatlarındaki apoptotik etkisi değerlendirildi. Hem DU-145 hem de LNCaP hücrelerinde negatif kontrol grubuna göre tüm dozlarda toplam apoptotik hücre oranlarının daha yüksek olduğu saptandı. DU-145 hücrelerinde en yüksek apoptotik hücre oranları 250 µM dozda, LNCaP hücrelerinde ise 25 µM dozda saptandı. Bu sonuç WST-1 canlılık analizi sonuçları ile paralellik göstermekteydi ve iki hücre hattı için de aynı etkin dozu işaret etmekteydi. Ayrıca, TCAE uygulaması sonrası toplam apoptotik hücre oranlarının, LNCaP hücrelerinde DU-145 hücrelerine göre daha yüksek olduğu saptandı. Hormon duyarlı olan LNCaP hücrelerinin hem daha düşük doz TCAE'ye daha iyi cevap vermesi hem de DU-145 hücrelerine göre daha yüksek apoptotik hücre oranlarına sahip olması, LNCaP hücrelerinin ve dolayısıyla hormon duyarlı prostat kanserinin apoptoz hedefli tedavilere daha duyarlı olabileceğini düşündürmektedir. TCAE'nin apoptotik etkilerini gösteren bir çalışmada, meme adenokarsinomlu köpeklerde, TCAE sonrası yapılan immünohistokimyasal analizde, mitotik aktiviteyi gösteren Ki-67 ve anti-apoptotik protein olan Bcl-2 ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir. Dahası, TCAE sonrasında dokuda daha fazla apoptotik hücre olduğu gösterilmiştir (Gültiken ve ark., 2015). Er ve ark. (2017), MCF-7 hücrelerinde 6 saat TCAE uygulamasının apoptozu arttırdığını bildirmişlerdir. Ghasemi-Dizgah ve ark. (2017), MCF-7, HN-5 ve HEK hücrelerinde TCAE'nin apoptotik etkilerini değerlendirmişler, TCAE ile muamele edilen hücrelerde önemli düzeyde DNA parçalanması tespit edilmiş olup negatif kontrol grubunda DNA parçalanması gözlenmemiştir. Apoptoz mekanizmasını açıklayabilmek için kaspaz-3 düzeyi ve aktivitesi değerlendirilmiş ve TCAE uygulanan tüm hücrelerde kaspaz-3 düzeyinin arttığı, kaspaz-3 aktivitesinin ise kanser hücrelerinde normal hücrelere kıyasla belirgin bir şekilde daha fazla artarak apoptozu indüklediği bildirilmiştir.

Prostat kanserinde apoptoz hedefli tedavi ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Apoptozun hem içsel hem de dışsal yolağının yanı sıra; kaspazları inaktive ederek sağkalımı destekleyen proteinler olan apoptozis protein inhibitörlerinin inhibisyonu ve hücrel streslere yanıt olarak artan sitoprotektif şaperon proteinlerinin inhibisyonu apoptoz indüksiyonu için başlıca tedavi hedefleridir (Konaç & Sözen, 2017). Apoptozun içsel yolağındaki ana hedef Bcl-2 ekspresyonunun inhibisyonu olmuştur. Bu amaçla geliştirilen ilk ajan olan oblimersen güvenlik profili dozetaksele göre daha kötü olması üzerine çalışma sonlandırılmıştır (Sternberg et al., 2009). Pamuk bitkisinden elde edilen doğal fenol bileşik olan gossypol, Bcl-2 inhibitörü olarak geliştirilen bir diğer ajandır, kombinasyon çalışmalarında anlamlı iyileşme saptanmamıştır (Sonpavde et al., 2012) ve standart tedaviye eklenebilmesi için klinik faydalarının daha çok geliştirilmesi gerektiğine kanaat getirilmiştir (Stein et al., 2016). Diğer Bcl-2 hedefli ajanların bazılarında (sabutoclax, obatoclax) kısmi fayda gösterilmiş olsa da henüz çalışmalar yetersizdir (Dash et al., 2011; Jackson et al., 2012; Nguyen et al., 2015). Dışsal yolak inhibisyonu ile tedavide, androjen deprivasyonu ile TNF, FAS-L, TRAIL gibi bilinen üç ölüm reseptöründen birinin aktivasyonu ile kaspaz-8 aracılı apoptozis aktivasyonu amaçlanmaktadır. Bu sınıfta geliştirilen leksatumumab insan agonistik monoklonal antikoru olup TRAIL reseptörünü aktive etmektedir. Sorafenib ile birlikte kullanımının hücre ölümünü indüklediği ve tümör gelişimini yavaşlattığı gözlenmiştir (Abdulghani et al., 2013). Antişaperon tedavi, prostat kanseri ile bağlantılı olduğu bildirilmiş olan, ısı şok proteini-27 (HSP-27) ve clusterin şaperon proteinlerini temelde hedef almaktadır (Voll et al., 2014; Stope et al., 2015; Yamamoto et al., 2015). Özellikle ikinci nesil antişaperon ajan olan custirsenin, kombine tedavilerde hem tolere edilebilir olduğu hem de sağ kalımı arttırdığı gösterilmiştir (Chi et al., 2010).

Sonuç olarak çalışmamızda prostat kanserindeki etkinliğini araştırdığımız homeopatik ilaç olan TCAE'nin prostat kanseri hücrelerindeki antikanser etkisi, sitotoksik etki ile kanser fizyolojisini bozarak ve apoptozu indükleyerek gösterdiği saptanmıştır. Her ne kadar çalışmamızda, TCAE'nin prostat kanseri hücrelerinde hangi apoptotik yollar üzerinden rol aldığı belirlenmemiş olsa da bildiğimiz kadarıyla literatürde TCAE'nin prostat kanserindeki etkinliğinin araştırıldığı ilk çalışmadır ve bu yönüyle çalışmamızın gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutacağı



düşünülmektedir. Çalışmamızın sonuçları, TCAE'nin prostat kanserinin tedavisinde tek başına yeterli etkinliğe ulaşamayacağını düşündürmektedir ancak mevcut tedaviler ile birlikte kullanıldığında tedavi etkinliği artabilir, dahası mevcut tedavilerde de olası doz azalmasına neden olarak yan etkilerin azalmasını sağlayabilir ve bu yönüyle yapılacak kombinasyon tedavi çalışmaları yararlı olabilir. Prostat kanseri tedavisinde umut vaat eden bir yaklaşım olan apoptozu tetikleyen tedavi araştırılmaya ve geliştirilmeye açıktır ve TCAE'nin prostat kanseri tedavisinde kullanılabilirliğini belirlemek için antikanser mekanizmasını araştıran moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## ÖZET

**GİRİŞ VE AMAÇ:** Homeopatik ilaç olarak kullanılan *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı (TCAE)'nin prostat kanserindeki terapötik etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Prostat kanseri hücre hattı olarak DU-145 ve LNCaP, kontrol hücre hattı olarak ise HUVEC hücreleri kullanılmıştır. TCAE'nin hücre canlılığı üzerine olan etkisi WST-1 analizi, apoptotik etkisi ise Annexin V analizi ile değerlendirilmiştir. Ayrıca TCAE'nin apoptotik hücre morfolojisi üzerine olan etkisi de Akridin Oranj boyama ile gösterilmiştir. Tüm analizlerde hücrelere 25, 50, 100 ve 250 µM dozlarda TCAE uygulanmıştır, TCAE uygulanmayan hücreler negatif kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir ve deneyler üçer kez tekrar edilmiştir. WST-1 analizinde hücreler tüm dozlarda 24 ve 48 saat boyunca TCAE ile inkübe edilmiştir. Annexin V analizi ve Akridin Oranj boyaması için ise WST-1 analizine göre 48 saatlik TCAE inkübasyonu etkin süre olarak seçilmiştir.

**BULGULAR:** TCAE, DU-145 ve LNCaP hücrelerindeki canlılık oranlarını zaman bağımlı olarak bağılı olarak azaltmıştır ( $p < 0,01$ ). DU-145 ve LNCaP hücreleri için en düşük canlılık oranları 48 saat inkübasyon sonrasında, sırasıyla 250 ve 25 µM dozlarda,  $62,76 \pm 4,21$  ve  $55,68 \pm 1,84$  olarak belirlenmiştir. Ayrıca, TCAE HUVEC hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermemiştir. Apoptotik hücre oranları, DU-145 ve LNCaP hücrelerinde sırasıyla 250 ve 25 µM TCAE inkübasyonu ile  $30,45 \pm 0,78$  ve  $45,02 \pm 1,32$  olarak tespit edilmiştir. Morfolojik olarak, DU-145 ve LNCaP hücrelerinde bozulmuş çekirdek/sitoplazma oranı, kromatin yoğunlaşması, membran tomurcuklanması ve vakuoler hasar gözlenmiştir.

**SONUÇ:** TCAE'nin, LNCaP hücrelerinin DU-145 hücrelerine göre daha fazla duyarlı olduğu, her iki prostat kanseri hücresi üzerinde sitotoksik apoptotik etkileri bulunmaktadır. Bu çalışma literatürdeki ilk çalışmadır ve bu nedenle TCAE'nin prostat kanseri için kemoterapötik madde olabilme potansiyelini belirlemek için daha ileri moleküler çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, DU-145, LNCaP, prostat cancer, *Tarantula cubensis* alkolik ekstraktı



## SUMMARY

### ***In vitro* Therapeutic Effectiveness of *Tarantula Cubensis* Alcoholic Extract in Prostate Cancer Cells**

**OBJECTIVE:** It was aimed to investigate the therapeutic efficacy of *Tarantula cubensis* alcoholic extract (TCAE), which is used as a homeopathic medicine, in prostate cancer.

**MATERIAL AND METHODS:** DU-145 and LNCaP cells were used as prostate cancer cell lines, and HUVEC cells were used as control cell lines. The effect of TCAE on cell viability was evaluated by WST-1 analysis, and its apoptotic effect was evaluated by Annexin V analysis. In addition, the effect of TCAE on apoptotic cell morphology was demonstrated by Acridine Orange staining. In all analyzes; 25, 50, 100 and 250  $\mu$ M doses of TCAE were applied to the cells, cells without TCAE were considered as negative control group and the experiments were repeated at three times. In the WST-1 assay, cells were incubated with TCAE for 24 and 48 hours for all doses. For Annexin V analysis and Acridine Orange staining, 48 hours incubation of TCAE was selected the effective exposure time according to WST-1 analysis.

**RESULTS:** TCAE decreased the viability rates in DU-145 and LNCaP cells in a time-dependent manner ( $p < 0.01$ ). The lowest viability rates for DU-145 and LNCaP cells were determined as  $62.76\% \pm 4.21\%$  and  $55.68 \pm 1.84\%$  at 250 and 25  $\mu$ M doses, respectively, after 48 hours of incubation. Moreover, TCAE have not shown any cytotoxic effect on HUVEC cells. Apoptotic cell rates were found as  $30.45 \pm 0.78\%$  and  $45.02 \pm 1.32\%$  in DU-145 and LNCaP cells with 250 and 25  $\mu$ M TCAE incubation, respectively. Morphologically, impaired cell/cytoplasm ratio, chromatin condensation, membrane blebbing, and vacuolar damage were observed in DU-145 and LNCaP cells.

**CONCLUSION:** TCAE has cytotoxic apoptotic effects, which LNCaP cells more sensitive than DU-145 cells, on both prostate cancer cell lines. This is the first study

in the literature and therefore, further molecular studies are needed to determine the potential of TCAE as a chemotherapeutic agent for prostate cancer.

**Keywords:** Apoptosis, DU-145, LNCaP, prostate cancer, *Tarantula cubensis* alcoholic extract



## KAYNAKLAR

- Abdulghani, J., Allen, J. E., Dicker, D. T., Liu, Y. Y., Goldenberg, D., Smith, C. D., Humphreys, R., & El-Deiry, W. S. (2013). Sorafenib sensitizes solid tumors to Apo2L/TRAIL and Apo2L/TRAIL receptor agonist antibodies by the Jak2-Stat3-Mcl1 axis. *PloS One*, 8(9), e75414.
- Abida, W., Patnaik, A., Campbell, D., Shapiro, J., Bryce, A. H., McDermott, R., Sautois, B., Vogelzang, N. J., Bambury, R. M., Voog, E., Zhang, J., Piulats, J. M., Ryan, C. J., Merseburger, A. S., Daugaard, G., Heidenreich, A., Fizazi, K., Higano, C. S., Krieger, L. E., ... Chowdhury, S. (2020). Rucaparib in Men With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Harboring a BRCA1 or BRCA2 Gene Alteration. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 38(32), 3763–3772.
- Ablin, R. J., Bronson, P., Soanes, W. A., & Witebsky, E. (1970). Tissue- and species-specific antigens of normal human prostatic tissue. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 104(6), 1329–1339.
- Abuzallouf, S., Dayes, I., & Lukka, H. (2004). Baseline staging of newly diagnosed prostate cancer: a summary of the literature. *The Journal of Urology*, 171(6 Pt 1), 2122–2127.
- Acehan, D., Jiang, X., Morgan, D. G., Heuser, J. E., Wang, X., & Akey, C. W. (2002). Three-dimensional structure of the apoptosome: implications for assembly, procaspase-9 binding, and activation. *Molecular Cell*, 9(2), 423–432.
- Adolfsson, J. (2008). Watchful waiting and active surveillance: the current position. *BJU International*, 102(1), 10–14.
- Albay, M. K., Şahinduran, Ş., Kale, M., Karakurum, M. Ç., & Sezer, K. (2010). Influence of Tarantula cubensis extract on the treatment of the oral lesions in cattle with bluetongue disease. *Kafkas Universitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 16(4), 593–596.
- Albert, J. M., Swanson, D. A., Pugh, T. J., Zhang, M., Bruno, T. L., Kudchadker, R. J., & Frank, S. J. (2013). Magnetic resonance imaging-based treatment planning for prostate brachytherapy. *Brachytherapy*, 12(1), 30–37.
- Albertsen, P. C., Moore, D. F., Shih, W., Lin, Y., Li, H., & Lu-Yao, G. L. (2011). Impact of comorbidity on survival among men with localized prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 29(10), 1335–1341.
- Albright, F., Stephenson, R. A., Agarwal, N., Teerlink, C. C., Lowrance, W. T., Farnham, J. M., & Albright, L. A. C. (2015). Prostate cancer risk prediction based on complete prostate cancer family history. *The Prostate*, 75(4), 390–398.

- Alford, A. V, Brito, J. M., Yadav, K. K., Yadav, S. S., Tewari, A. K., & Renzulli, J. (2017). The Use of Biomarkers in Prostate Cancer Screening and Treatment. *Reviews in Urology*, *19*(4), 221–234.
- Altman, F. P. (1976). Tetrazolium salts and formazans. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, *9*(3), 1–56.
- Alumkal, J. J., Chowdhury, S., Loriot, Y., Sternberg, C. N., de Bono, J. S., Tombal, B., Carles, J., Flaig, T. W., Dorff, T. B., Phung, D., Forer, D., Noonberg, S. B., Mansbach, H., Beer, T. M., & Higano, C. S. (2017). Effect of Visceral Disease Site on Outcomes in Patients With Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer Treated With Enzalutamide in the PREVAIL Trial. *Clinical Genitourinary Cancer*, *15*(5), 610-617.e3.
- Amin Al Olama, A., Dadaev, T., Hazelett, D. J., Li, Q., Leongamornlert, D., Saunders, E. J., Stephens, S., Cieza-Borrella, C., Whitmore, I., Benlloch Garcia, S., Giles, G. G., Southey, M. C., Fitzgerald, L., Gronberg, H., Wiklund, F., Aly, M., Henderson, B. E., Schumacher, F., Haiman, C. A., ... Kote-Jarai, Z. (2015). Multiple novel prostate cancer susceptibility signals identified by fine-mapping of known risk loci among Europeans. *Human Molecular Genetics*, *24*(19), 5589–5602.
- Andriole, G. L., Bostwick, D. G., Brawley, O. W., Gomella, L. G., Marberger, M., Montorsi, F., Pettaway, C. A., Tammela, T. L., Teloken, C., Tindall, D. J., Somerville, M. C., Wilson, T. H., Fowler, I. L., & Rittmaster, R. S. (2010). Effect of dutasteride on the risk of prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, *362*(13), 1192–1202.
- Arlen, P. M., Bianco, F., Dahut, W. L., D'Amico, A., Figg, W. D., Freedland, S. J., Gulley, J. L., Kantoff, P. W., Kattan, M. W., Lee, A., Regan, M. M., & Sartor, O. (2008). Prostate Specific Antigen Working Group guidelines on prostate specific antigen doubling time. *The Journal of Urology*, *179*(6), 2181–2186.
- Armstrong, A. J., Szmulewitz, R. Z., Petrylak, D. P., Holzbeierlein, J., Villers, A., Azad, A., Alcaraz, A., Alekseev, B., Iguchi, T., Shore, N. D., Rosbrook, B., Sugg, J., Baron, B., Chen, L., & Stenzl, A. (2019). ARCHES: A Randomized, Phase III Study of Androgen Deprivation Therapy With Enzalutamide or Placebo in Men With Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *37*(32), 2974–2986.
- Aron, M., Rajeev, T. P., & Gupta, N. P. (2000). Antibiotic prophylaxis for transrectal needle biopsy of the prostate: a randomized controlled study. *BJU International*, *85*(6), 682–685.
- Askari, F., Parizi, M. K., Jessri, M., & Rashidkhani, B. (2014). Fruit and vegetable intake in relation to prostate cancer in Iranian men: a case-control study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, *15*(13), 5223–5227.

- Ayyathurai, R., Mahapatra, R., Rajasundaram, R., Srinivasan, V., Archard, N. P., & Toussi, H. (2006). A study on staging bone scans in newly diagnosed prostate cancer. *Urologia Internationalis*, 76(3), 209–212.
- Balk, S. P. (2002). Androgen receptor as a target in androgen-independent prostate cancer. *Urology*, 60(3 Suppl 1), 132–139.
- Ballinger, J. R. (2018). Theranostic radiopharmaceuticals: established agents in current use. *The British Journal of Radiology*, 91(1091), 20170969.
- Barentsz, J. O., Richenberg, J., Clements, R., Choyke, P., Verma, S., Villeirs, G., Rouviere, O., Logager, V., & Fütterer, J. J. (2012). ESUR prostate MR guidelines 2012. *European Radiology*, 22(4), 746–757.
- Bashir, M. N. (2015). Epidemiology of Prostate Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP*, 16(13), 5137–5141.
- Beer, T. M., Armstrong, A. J., Rathkopf, D. E., Loriot, Y., Sternberg, C. N., Higano, C. S., Iversen, P., Bhattacharya, S., Carles, J., Chowdhury, S., Davis, I. D., de Bono, J. S., Evans, C. P., Fizazi, K., Joshua, A. M., Kim, C.-S., Kimura, G., Mainwaring, P., Mansbach, H., ... Tombal, B. (2014). Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *The New England Journal of Medicine*, 371(5), 424–433.
- Bell, K. J. L., Del Mar, C., Wright, G., Dickinson, J., & Glasziou, P. (2015). Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies. *International Journal of Cancer*, 137(7), 1749–1757.
- Benson, M. C., Whang, I. S., Olsson, C. A., McMahon, D. J., & Cooner, W. H. (1992). The use of prostate specific antigen density to enhance the predictive value of intermediate levels of serum prostate specific antigen. *The Journal of Urology*, 147(3 Pt 2), 817–821.
- Bill-Axelsson, A., Holmberg, L., Garmo, H., Rider, J. R., Taari, K., Busch, C., Nordling, S., Häggman, M., Andersson, S.-O., Spångberg, A., Andrén, O., Palmgren, J., Steineck, G., Adami, H.-O., & Johansson, J.-E. (2014). Radical prostatectomy or watchful waiting in early prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 370(10), 932–942.
- Binder, J., Jones, J., Bentas, W., Wolfram, M., Bräutigam, R., Probst, M., Kramer, W., & Jonas, D. (2002). [Robot-assisted laparoscopy in urology. Radical prostatectomy and reconstructive retroperitoneal interventions]. *Der Urologe. Ausg. A*, 41(2), 144–149.
- Blanc-Lapierre, A., Spence, A., Karakiewicz, P. I., Aprikian, A., Saad, F., & Parent, M.-É. (2015). Metabolic syndrome and prostate cancer risk in a population-based case-control study in Montreal, Canada. *BMC Public Health*, 15, 913.
- Boevé, L. M. S., Hulshof, M. C. C. M., Vis, A. N., Zwinderman, A. H., Twisk, J. W. R., Witjes, W. P. J., Delaere, K. P. J., Moorselaar, R. J. A. van, Verhagen, P. C.



- M. S., & van Andel, G. (2019). Effect on Survival of Androgen Deprivation Therapy Alone Compared to Androgen Deprivation Therapy Combined with Concurrent Radiation Therapy to the Prostate in Patients with Primary Bone Metastatic Prostate Cancer in a Prospective Randomised Clinical Tri. *European Urology*, *75*(3), 410–418.
- Bolla, M., Van Tienhoven, G., Warde, P., Dubois, J. B., Mirimanoff, R.-O., Storme, G., Bernier, J., Kuten, A., Sternberg, C., Billiet, I., Torecilla, J. L., Pfeffer, R., Cutajar, C. L., Van der Kwast, T., & Collette, L. (2010). External irradiation with or without long-term androgen suppression for prostate cancer with high metastatic risk: 10-year results of an EORTC randomised study. *The Lancet. Oncology*, *11*(11), 1066–1073.
- Bossen, C., Ingold, K., Tardivel, A., Bodmer, J.-L., Gaide, O., Hertig, S., Ambrose, C., Tschopp, J., & Schneider, P. (2006). Interactions of tumor necrosis factor (TNF) and TNF receptor family members in the mouse and human. *The Journal of Biological Chemistry*, *281*(20), 13964–13971.
- Brenner, D., & Mak, T. W. (2009). Mitochondrial cell death effectors. *Current Opinion in Cell Biology*, *21*(6), 871–877.
- Brierley, J. D., Gospodarowicz, M. K., & Wittekind, C. (2017). *TNM classification of malignant tumours*. John Wiley & Sons.
- Briganti, A., Passoni, N., Ferrari, M., Capitanio, U., Suardi, N., Gallina, A., Da Pozzo, L. F., Picchio, M., Di Girolamo, V., Salonia, A., Gianolli, L., Messa, C., Rigatti, P., & Montorsi, F. (2010). When to perform bone scan in patients with newly diagnosed prostate cancer: external validation of the currently available guidelines and proposal of a novel risk stratification tool. *European Urology*, *57*(4), 551–558.
- Bruinsma, S. M., Roobol, M. J., Carroll, P. R., Klotz, L., Pickles, T., Moore, C. M., Gnanapragasam, V. J., Villers, A., Rannikko, A., Valdagni, R., Frydenberg, M., Kakehi, Y., Filson, C. P., & Bangma, C. H. (2017). Expert consensus document: Semantics in active surveillance for men with localized prostate cancer - results of a modified Delphi consensus procedure. *Nature Reviews. Urology*, *14*(5), 312–322.
- Bruland, Ø. S., Nilsson, S., Fisher, D. R., & Larsen, R. H. (2006). High-linear energy transfer irradiation targeted to skeletal metastases by the alpha-emitter <sup>223</sup>Ra: adjuvant or alternative to conventional modalities? *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *12*(20 Pt 2), 6250s-6257s.
- Bryant, R. J., Sjoberg, D. D., Vickers, A. J., Robinson, M. C., Kumar, R., Marsden, L., Davis, M., Scardino, P. T., Donovan, J., Neal, D. E., Lilja, H., & Hamdy, F. C. (2015). Predicting high-grade cancer at ten-core prostate biopsy using four kallikrein markers measured in blood in the ProtecT study. *Journal of the National Cancer Institute*, *107*(7).

- Bubley, G. J. (2001). Is the flare phenomenon clinically significant? *Urology*, 58(2 Suppl 1), 5–9.
- Bussemakers, M. J., van Bokhoven, A., Verhaegh, G. W., Smit, F. P., Karthaus, H. F., Schalken, J. A., Debruyne, F. M., Ru, N., & Isaacs, W. B. (1999). DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Research*, 59(23), 5975–5979.
- Cain, K., Bratton, S. B., & Cohen, G. M. (2002). The Apaf-1 apoptosome: a large caspase-activating complex. *Biochimie*, 84(2–3), 203–214.
- Cam, Y., Kibar, M., Atasever, A., Atalay, O., & Beyaz, L. (2007). Efficacy of levamisole and Tarantula cubensis venom for the treatment of bovine cutaneous papillomatosis. *The Veterinary Record*, 160(14), 486–488.
- Carlsson, S., Assel, M., Sjoberg, D., Ulmert, D., Hugosson, J., Lilja, H., & Vickers, A. (2014). Influence of blood prostate specific antigen levels at age 60 on benefits and harms of prostate cancer screening: population based cohort study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 348, g2296.
- Carlsson, S., Assel, M., Ulmert, D., Gerdtsson, A., Hugosson, J., Vickers, A., & Lilja, H. (2017). Screening for Prostate Cancer Starting at Age 50-54 Years. A Population-based Cohort Study. *European Urology*, 71(1), 46–52.
- Carroll, P. R., Parsons, J. K., Andriole, G., Bahnson, R. R., Barocas, D. A., Castle, E. P., Catalona, W. J., Dahl, D. M., Davis, J. W., Epstein, J. I., Etzioni, R. B., Farrington, T., Hemstreet, G. P. 3rd, Kawachi, M. H., Lange, P. H., Loughlin, K. R., Lowrance, W., Maroni, P., Mohler, J., ... Freedman-Cass, D. (2015). NCCN Clinical Practice Guidelines Prostate Cancer Early Detection, Version 2.2015. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN*, 13(12), 1534–1561.
- Carter, H. B., Pearson, J. D., Metter, E. J., Brant, L. J., Chan, D. W., Andres, R., Fozard, J. L., & Walsh, P. C. (1992). Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA*, 267(16), 2215–2220.
- Carvalho, G. F., Smith, D. S., Mager, D. E., Ramos, C., & Catalona, W. J. (1999). Digital rectal examination for detecting prostate cancer at prostate specific antigen levels of 4 ng./ml. or less. *The Journal of Urology*, 161(3), 835–839.
- Catalona, W. J., Partin, A. W., Slawin, K. M., Brawer, M. K., Flanigan, R. C., Patel, A., Richie, J. P., DeKernion, J. B., Walsh, P. C., Scardino, P. T., Lange, P. H., Subong, E. N., Parson, R. E., Gasior, G. H., Loveland, K. G., & Southwick, P. C. (1998). Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA*, 279(19), 1542–1547.
- Catalona, William J, Partin, A. W., Sanda, M. G., Wei, J. T., Klee, G. G., Bangma,

- C. H., Slawin, K. M., Marks, L. S., Loeb, S., Broyles, D. L., Shin, S. S., Cruz, A. B., Chan, D. W., Sokoll, L. J., Roberts, W. L., van Schaik, R. H. N., & Mizrahi, I. A. (2011). A multicenter study of [-2]pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *The Journal of Urology*, *185*(5), 1650–1655.
- Chen, P., Zhang, W., Wang, X., Zhao, K., Negi, D. S., Zhuo, L., Qi, M., Wang, X., & Zhang, X. (2015). Lycopene and Risk of Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicine*, *94*(33), e1260.
- Chen, W. S., Aggarwal, R., Zhang, L., Zhao, S. G., Thomas, G. V., Beer, T. M., Quigley, D. A., Foye, A., Playdle, D., Huang, J., Lloyd, P., Lu, E., Sun, D., Guan, X., Rettig, M., Gleave, M., Evans, C. P., Youngren, J., True, L., ... Alumkal, J. J. (2019). Genomic Drivers of Poor Prognosis and Enzalutamide Resistance in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *European Urology*, *76*(5), 562–571.
- Chen, Y., Clegg, N. J., & Scher, H. I. (2009). Anti-androgens and androgen-depleting therapies in prostate cancer: new agents for an established target. *The Lancet. Oncology*, *10*(10), 981–991.
- Chi, K. N., Agarwal, N., Bjartell, A., Chung, B. H., Pereira de Santana Gomes, A. J., Given, R., Juárez Soto, Á., Merseburger, A. S., Özgüroğlu, M., Uemura, H., Ye, D., Deprince, K., Naini, V., Li, J., Cheng, S., Yu, M. K., Zhang, K., Larsen, J. S., McCarthy, S., & Chowdhury, S. (2019). Apalutamide for Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, *381*(1), 13–24.
- Chi, K. N., Hotte, S. J., Yu, E. Y., Tu, D., Eigl, B. J., Tannock, I., Saad, F., North, S., Powers, J., Gleave, M. E., & Eisenhauer, E. A. (2010). Randomized phase II study of docetaxel and prednisone with or without OGX-011 in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *28*(27), 4247–4254.
- Chu, L. W., Ritchey, J., Devesa, S. S., Quraishi, S. M., Zhang, H., & Hsing, A. W. (2011). Prostate cancer incidence rates in Africa. *Prostate Cancer*, *2011*, 947870.
- Clarke, N., Wiechno, P., Alekseev, B., Sala, N., Jones, R., Kocak, I., Chiuri, V. E., Jassem, J., Fléchon, A., Redfern, C., Goessl, C., Burgents, J., Kozarski, R., Hodgson, D., Learoyd, M., & Saad, F. (2018). Olaparib combined with abiraterone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet. Oncology*, *19*(7), 975–986.
- Conti, D. V., Wang, K., Sheng, X., Bensen, J. T., Hazelett, D. J., Cook, M. B., Ingles, S. A., Kittles, R. A., Strom, S. S., Rybicki, B. A., Nemesure, B., Isaacs, W. B.,

- Stanford, J. L., Zheng, W., Sanderson, M., John, E. M., Park, J. Y., Xu, J., Stevens, V. L., ... Haiman, C. A. (2017). Two Novel Susceptibility Loci for Prostate Cancer in Men of African Ancestry. *Journal of the National Cancer Institute*, 109(8).
- Cooperberg, M. R., Pasta, D. J., Elkin, E. P., Litwin, M. S., Latini, D. M., Du Chane, J., & Carroll, P. R. (2005). The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy. *The Journal of Urology*, 173(6), 1938–1942.
- Cooperberg, M. R., Washington III, S. L., & Carroll, P. R. (2020). Cancer of the Prostate Gland. In Jack W. McAninch & T. F. Lue (Eds.), *Smith & Tanagho's General Urology* (19th ed., pp. 351–376). McGraw-Hill.
- Corfield, J., Perera, M., Bolton, D., & Lawrentschuk, N. (2018). (68)Ga-prostate specific membrane antigen (PSMA) positron emission tomography (PET) for primary staging of high-risk prostate cancer: a systematic review. *World Journal of Urology*, 36(4), 519–527.
- Cornford, P., van den Bergh, R. C. N., Briers, E., Van den Broeck, T., Cumberbatch, M. G., De Santis, M., Fanti, S., Fossati, N., Gandaglia, G., Gillessen, S., Grivas, N., Grummet, J., Henry, A. M., der Kwast, T. H. van, Lam, T. B., Lardas, M., Liew, M., Mason, M. D., Moris, L., ... Mottet, N. (2021). EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part II-2020 Update: Treatment of Relapsing and Metastatic Prostate Cancer. *European Urology*, 79(2), 263–282.
- Corum, O., Er, A., & Dik, B. (2016). Investigation of the effect of tarantula cubensis extract on acute phase response. *Acta Scientiae Veterinariae*, 44(1), 5.
- Cox, B., Sneyd, M. J., Paul, C., Delahunt, B., & Skegg, D. C. G. (2002). Vasectomy and risk of prostate cancer. *JAMA*, 287(23), 3110–3115.
- Culig, Z., Hobisch, A., Cronauer, M. V., Radmayr, C., Trapman, J., Hittmair, A., Bartsch, G., & Klocker, H. (1994). Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor. *Cancer Research*, 54(20), 5474–5478.
- Cunha, G. R., Ricke, W., Thomson, A., Marker, P. C., Risbridger, G., Hayward, S. W., Wang, Y. Z., Donjacour, A. A., & Kurita, T. (2004). Hormonal, cellular, and molecular regulation of normal and neoplastic prostatic development. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 92(4), 221–236.
- D'Amico, A. V., Chen, M.-H., Renshaw, A. A., Loffredo, M., & Kantoff, P. W. (2008). Androgen suppression and radiation vs radiation alone for prostate cancer: a randomized trial. *JAMA*, 299(3), 289–295.
- D'Arcy, M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis

and autophagy. *Cell Biology International*, 43(6), 582–592.

- Dash, R., Azab, B., Quinn, B. A., Shen, X., Wang, X.-Y., Das, S. K., Rahmani, M., Wei, J., Hedvat, M., Dent, P., Dmitriev, I. P., Curiel, D. T., Grant, S., Wu, B., Stebbins, J. L., Pellecchia, M., Reed, J. C., Sarkar, D., & Fisher, P. B. (2011). Apogossypol derivative BI-97C1 (Sabutoclax) targeting Mcl-1 sensitizes prostate cancer cells to mda-7/IL-24-mediated toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(21), 8785–8790.
- Day, C. (1998). Veterinary homeopathy: principles and practice. In A. M. Schoen (Ed.), *Complementary and alternative veterinary medicine* (pp. 485–513). Mosby.
- de Bono, J., Mateo, J., Fizazi, K., Saad, F., Shore, N., Sandhu, S., Chi, K. N., Sartor, O., Agarwal, N., Olmos, D., Thiery-Vuillemin, A., Twardowski, P., Mehra, N., Goessl, C., Kang, J., Burgents, J., Wu, W., Kohlmann, A., Adelman, C. A., & Hussain, M. (2020). Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 382(22), 2091–2102.
- de Bono, Johann S, Logothetis, C. J., Molina, A., Fizazi, K., North, S., Chu, L., Chi, K. N., Jones, R. J., Goodman, O. B. J., Saad, F., Staffurth, J. N., Mainwaring, P., Harland, S., Flaig, T. W., Hutson, T. E., Cheng, T., Patterson, H., Hainsworth, J. D., Ryan, C. J., ... Scher, H. I. (2011). Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 364(21), 1995–2005.
- de Bono, Johann Sebastian, Oudard, S., Ozguroglu, M., Hansen, S., Machiels, J.-P., Kocak, I., Gravis, G., Bodrogi, I., Mackenzie, M. J., Shen, L., Roessner, M., Gupta, S., & Sartor, A. O. (2010). Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *Lancet (London, England)*, 376(9747), 1147–1154.
- de Rooij, M., Hamoen, E. H. J., Witjes, J. A., Barentsz, J. O., & Rovers, M. M. (2016). Accuracy of Magnetic Resonance Imaging for Local Staging of Prostate Cancer: A Diagnostic Meta-analysis. *European Urology*, 70(2), 233–245.
- de Wit, R., de Bono, J., Sternberg, C. N., Fizazi, K., Tombal, B., Wülfing, C., Kramer, G., Eymard, J.-C., Bamias, A., Carles, J., Iacovelli, R., Melichar, B., Sverrisdóttir, Á., Theodore, C., Feyerabend, S., Helissey, C., Ozatilgan, A., Geffriaud-Ricouard, C., & Castellano, D. (2019). Cabazitaxel versus Abiraterone or Enzalutamide in Metastatic Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 381(26), 2506–2518.
- Dell'Oglio, P., Abdollah, F., Suardi, N., Gallina, A., Cucchiara, V., Vizziello, D., Zaffuto, E., Cantiello, F., Damiano, R., Shariat, S., Montorsi, F., & Briganti, A. (2014). External validation of the European association of urology recommendations for pelvic lymph node dissection in patients treated with

- robot-assisted radical prostatectomy. *Journal of Endourology*, 28(4), 416–423.
- Desmond, A. D., Arnold, A. J., & Hastie, K. J. (1988). Subcapsular orchiectomy under local anaesthesia. Technique, results and implications. *British Journal of Urology*, 61(2), 143–145.
- Di Lorenzo, G., D’Aniello, C., Buonerba, C., Federico, P., Rescigno, P., Puglia, L., Ferro, M., Bosso, D., Cavaliere, C., Palmieri, G., Sonpavde, G., & De Placido, S. (2013). Peg-filgrastim and cabazitaxel in prostate cancer patients. *Anti-Cancer Drugs*, 24(1), 84–89.
- Dias, A. H., Holm Vendelbo, M., & Bouchelouche, K. (2017). Prostate-Specific Membrane Antigen PET/CT: Uptake in Lymph Nodes With Active Sarcoidosis. *Clinical Nuclear Medicine*, 42(3), e175–e176.
- Dickson, D. W. (2004). Apoptotic mechanisms in Alzheimer neurofibrillary degeneration: cause or effect? *The Journal of Clinical Investigation*, 114(1), 23–27.
- Dolapcioglu, K., Dogruer, G., Ozsoy, S., Ergun, Y., Ciftci, S., Soylu Karapinar, O., & Aslan, E. (2013). Theranekron for treatment of endometriosis in a rat model compared with medroxyprogesterone acetate and leuprolide acetate. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 170(1), 206–210.
- Donovan, J., Hamdy, F., Neal, D., Peters, T., Oliver, S., Brindle, L., Jewell, D., Powell, P., Gillatt, D., Dedman, D., Mills, N., Smith, M., Noble, S., & Lane, A. (2003). Prostate Testing for Cancer and Treatment ( ProtecT) feasibility study. *Health Technology Assessment (Winchester, England)*, 7(14), 1–88.
- Donovan, M. J., Noerholm, M., Bentink, S., Belzer, S., Skog, J., O’Neill, V., Cochran, J. S., & Brown, G. A. (2015). A molecular signature of PCA3 and ERG exosomal RNA from non-DRE urine is predictive of initial prostate biopsy result. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 18(4), 370–375.
- Drost, F.-J. H., Osses, D. F., Nieboer, D., Steyerberg, E. W., Bangma, C. H., Roobol, M. J., & Schoots, I. G. (2019). Prostate MRI, with or without MRI-targeted biopsy, and systematic biopsy for detecting prostate cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4(4), CD012663.
- Eastham, J. A., Riedel, E., Scardino, P. T., Shike, M., Fleisher, M., Schatzkin, A., Lanza, E., Latkany, L., & Begg, C. B. (2003). Variation of serum prostate-specific antigen levels: an evaluation of year-to-year fluctuations. *JAMA*, 289(20), 2695–2700.
- Eeles, R. A., Olama, A. A. Al, Benlloch, S., Saunders, E. J., Leongamornlert, D. A., Tymrakiewicz, M., Ghousaini, M., Luccarini, C., Dennis, J., Jugurnauth-Little, S., Dadaev, T., Neal, D. E., Hamdy, F. C., Donovan, J. L., Muir, K., Giles, G. G., Severi, G., Wiklund, F., Gronberg, H., ... Easton, D. F. (2013). Identification of 23 new prostate cancer susceptibility loci using the iCOGS

custom genotyping array. *Nature Genetics*, 45(4), 385–391, 391e1-2.

- Eggener, S. E., Large, M. C., Gerber, G. S., Pettus, J., Yossepowitch, O., Smith, N. D., Kundu, S., Kunnavakkam, R., Zorn, K., & Raman, J. D. (2013). Empiric antibiotics for an elevated prostate-specific antigen (PSA) level: a randomised, prospective, controlled multi-institutional trial. *BJU International*, 112(7), 925–929.
- Eggener, S. E., Scardino, P. T., Carroll, P. R., Zelefsky, M. J., Sartor, O., Hricak, H., Wheeler, T. M., Fine, S. W., Trachtenberg, J., Rubin, M. A., Ohori, M., Kuroiwa, K., Rossignol, M., & Abenhaim, L. (2007). Focal therapy for localized prostate cancer: a critical appraisal of rationale and modalities. *The Journal of Urology*, 178(6), 2260–2267.
- Eichler, K., Hempel, S., Wilby, J., Myers, L., Bachmann, L. M., & Kleijnen, J. (2006). Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: a systematic review. *The Journal of Urology*, 175(5), 1605–1612.
- Eisenhauer, E. A., Therasse, P., Bogaerts, J., Schwartz, L. H., Sargent, D., Ford, R., Dancey, J., Arbuck, S., Gwyther, S., Mooney, M., Rubinstein, L., Shankar, L., Dodd, L., Kaplan, R., Lacombe, D., & Verweij, J. (2009). New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, 45(2), 228–247.
- Ekert, P. G., & Vaux, D. L. (2005). The mitochondrial death squad: hardened killers or innocent bystanders? *Current Opinion in Cell Biology*, 17(6), 626–630.
- Elliott, M. R., & Ravichandran, K. S. (2010). Clearance of apoptotic cells: implications in health and disease. *The Journal of Cell Biology*, 189(7), 1059–1070.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516.
- Elshal, A. M., Atwa, A. M., El-Nahas, A. R., El-Ghar, M. A., Gaber, A., Elsayy, E., Hashem, A., Farag, Y., Farg, H., Elsorougy, A., Fouda, M., Nabeeh, H., & Mosbah, A. (2018). Chemoprophylaxis during transrectal prostate needle biopsy: critical analysis through randomized clinical trial. *World Journal of Urology*, 36(11), 1845–1852.
- Emmett, L., Willowson, K., Violet, J., Shin, J., Blanksby, A., & Lee, J. (2017). Lutetium (177) PSMA radionuclide therapy for men with prostate cancer: a review of the current literature and discussion of practical aspects of therapy. *Journal of Medical Radiation Sciences*, 64(1), 52–60.
- Engelbrecht, M. R., Jager, G. J., & Severens, J. L. (2001). Patient selection for magnetic resonance imaging of prostate cancer. *European Urology*, 40(3), 300–307.

- Epstein, J., Allsbrook, W. C. J., Amin, M. B., & Egevad, L. L. (2005). The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 29(9), 1228–1242.
- Epstein, J., Egevad, L., Amin, M. B., Delahunt, B., Srigley, J. R., & Humphrey, P. A. (2016). The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *The American Journal of Surgical Pathology*, 40(2), 244–252.
- Epstein, J. I. (2016). Pathology of Prostatic Neoplasia. In A. J. Wein, L. R. Kavoussi, A. W. Partin, & C. A. Peters (Eds.), *Campbell-Walsh Urology* (11th ed., pp. 2593–2600). Elsevier.
- Er, A., Ozdemir, O., Coskun, D., Dik, B., Bahcivan, E., Faki, H. E., & Yazar, E. (2019). Effects of *Tarantula cubensis* alcoholic extract and *Nerium oleander* distillate on experimentally induced colon cancer. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 1–3, 15–21.
- Er, Ayse, Corum, O., Corum, D., Hitit, M., Donmez, H., & Guzeloglu, A. (2017). Alcoholic extract of *Tarantula cubensis* induces apoptosis in MCF-7 cell line. *Biomedical Research*, 28(8), 3660–3665.
- Esposito, K., Chiodini, P., Capuano, A., Bellastella, G., Maiorino, M. I., Parretta, E., Lenzi, A., & Giugliano, D. (2013). Effect of metabolic syndrome and its components on prostate cancer risk: meta-analysis. *Journal of Endocrinological Investigation*, 36(2), 132–139.
- Etzioni, R., Gulati, R., Cooperberg, M. R., Penson, D. M., Weiss, N. S., & Thompson, I. M. (2013). Limitations of basing screening policies on screening trials: The US Preventive Services Task Force and Prostate Cancer Screening. *Medical Care*, 51(4), 295–300.
- Evangelista, L., Bertoldo, F., Boccardo, F., Conti, G., Menchi, I., Mungai, F., Ricardi, U., & Bombardieri, E. (2016). Diagnostic imaging to detect and evaluate response to therapy in bone metastases from prostate cancer: current modalities and new horizons. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 43(8), 1546–1562.
- Evans, C. P., Higano, C. S., Keane, T., Andriole, G., Saad, F., Iversen, P., Miller, K., Kim, C.-S., Kimura, G., Armstrong, A. J., Sternberg, C. N., Loriot, Y., de Bono, J., Noonberg, S. B., Mansbach, H., Bhattacharya, S., Perabo, F., Beer, T. M., & Tombal, B. (2016). The PREVAIL Study: Primary Outcomes by Site and Extent of Baseline Disease for Enzalutamide-treated Men with Chemotherapy-naïve Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *European Urology*, 70(4), 675–683.
- Ewing, C. M., Ray, A. M., Lange, E. M., Zuhlke, K. A., Robbins, C. M., Tembe, W.



- D., Wiley, K. E., Isaacs, S. D., Johng, D., Wang, Y., Bizon, C., Yan, G., Gielzak, M., Partin, A. W., Shanmugam, V., Izatt, T., Sinari, S., Craig, D. W., Zheng, S. L., ... Cooney, K. A. (2012). Germline mutations in HOXB13 and prostate-cancer risk. *The New England Journal of Medicine*, 366(2), 141–149.
- Fahmy, W. E., & Bissada, N. K. (2003). Cryosurgery for prostate cancer. *Archives of Andrology*, 49(5), 397–407.
- Feldman, B. J., & Feldman, D. (2001). The development of androgen-independent prostate cancer. *Nature Reviews. Cancer*, 1(1), 34–45.
- Fizazi, K., Scher, H. I., Molina, A., Logothetis, C. J., Chi, K. N., Jones, R. J., Staffurth, J. N., North, S., Vogelzang, N. J., Saad, F., Mainwaring, P., Harland, S., Goodman, O. B. J., Sternberg, C. N., Li, J. H., Kheoh, T., Haqq, C. M., & de Bono, J. S. (2012). Abiraterone acetate for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer: final overall survival analysis of the COU-AA-301 randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *The Lancet. Oncology*, 13(10), 983–992.
- Fizazi, K., Tran, N., Fein, L., Matsubara, N., Rodriguez-Antolin, A., Alekseev, B. Y., Özgüroğlu, M., Ye, D., Feyerabend, S., Protheroe, A., De Porre, P., Kheoh, T., Park, Y. C., Todd, M. B., & Chi, K. N. (2017). Abiraterone plus Prednisone in Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 377(4), 352–360.
- Fossati, N., Willemse, P.-P. M., Van den Broeck, T., van den Bergh, R. C. N., Yuan, C. Y., Briers, E., Bellmunt, J., Bolla, M., Cornford, P., De Santis, M., MacPepple, E., Henry, A. M., Mason, M. D., Matveev, V. B., van der Poel, H. G., van der Kwast, T. H., Rouvière, O., Schoots, I. G., Wiegel, T., ... Joniau, S. (2017). The Benefits and Harms of Different Extents of Lymph Node Dissection During Radical Prostatectomy for Prostate Cancer: A Systematic Review. *European Urology*, 72(1), 84–109.
- Freedland, S. J., Hamilton, R. J., Gerber, L., Banez, L. L., Moreira, D. M., Andriole, G. L., & Rittmaster, R. S. (2013). Statin use and risk of prostate cancer and high-grade prostate cancer: results from the REDUCE study. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 16(3), 254–259.
- Froehner, M., Toma, M., Zöphel, K., Novotny, V., Laniado, M., & Wirth, M. P. (2017). PSMA-PET/CT-Positive Paget Disease in a Patient with Newly Diagnosed Prostate Cancer: Imaging and Bone Biopsy Findings. In *Case reports in urology* (Vol. 2017, p. 1654231).
- Fujimoto, N., Mizokami, A., Harada, S., & Matsumoto, T. (2001). Different expression of androgen receptor coactivators in human prostate. *Urology*, 58(2), 289–294.
- Fujita, K., & Nonomura, N. (2019). Role of Androgen Receptor in Prostate Cancer: A Review. *The World Journal of Men's Health*, 37(3), 288–295.

- Galalae, R. M., Kovács, G., Schultze, J., Loch, T., Rzehak, P., Wilhelm, R., Bertermann, H., Buschbeck, B., Kohr, P., & Kimmig, B. (2002). Long-term outcome after elective irradiation of the pelvic lymphatics and local dose escalation using high-dose-rate brachytherapy for locally advanced prostate cancer. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 52(1), 81–90.
- Gallagher, K. M., Christopher, E., Cameron, A. J., Little, S., Innes, A., Davis, G., Keanie, J., Bollina, P., & McNeill, A. (2019). Four-year outcomes from a multiparametric magnetic resonance imaging (MRI)-based active surveillance programme: PSA dynamics and serial MRI scans allow omission of protocol biopsies. *BJU International*, 123(3), 429–438.
- Gao, J., Arnold, J. T., & Isaacs, J. T. (2001). Conversion from a paracrine to an autocrine mechanism of androgen-stimulated growth during malignant transformation of prostatic epithelial cells. *Cancer Research*, 61(13), 5038–5044.
- Gao, X., LaValley, M. P., & Tucker, K. L. (2005). Prospective studies of dairy product and calcium intakes and prostate cancer risk: a meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, 97(23), 1768–1777.
- Gelmann, E. P. (2002). Molecular biology of the androgen receptor. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 20(13), 3001–3015.
- Ghasemi-Dizgah, A., Nami, B., & Amirmozafari, N. (2017). Tarantula cubensis venom (Theranekron®) selectively destroys human cancer cells via activating caspase-3-mediated apoptosis. *Acta Medica International*, 4(1), 74.
- Giri, V. N., Knudsen, K. E., Kelly, W. K., Abida, W., Andriole, G. L., Bangma, C. H., Bekelman, J. E., Benson, M. C., Blanco, A., Burnett, A., Catalona, W. J., Cooney, K. A., Cooperberg, M., Crawford, D. E., Den, R. B., Dicker, A. P., Eggener, S., Fleshner, N., Freedman, M. L., ... Gomella, L. G. (2018). Role of Genetic Testing for Inherited Prostate Cancer Risk: Philadelphia Prostate Cancer Consensus Conference 2017. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(4), 414–424.
- Gleason, D. F., & Mellinger, G. T. (1974). Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *The Journal of Urology*, 111(1), 58–64.
- Goldman, B., & DeFrancesco, L. (2009). The cancer vaccine roller coaster. *Nature Biotechnology*, 27(2), 129–139.
- Gottlieb, B., Lehvaslaiho, H., Beitel, L. K., Lumbroso, R., Pinsky, L., & Trifiro, M. (1998). The Androgen Receptor Gene Mutations Database. *Nucleic Acids Research*, 26(1), 234–238.

- Graff, J. N., Baciarello, G., Armstrong, A. J., Higano, C. S., Iversen, P., Flaig, T. W., Forer, D., Parli, T., Phung, D., Tombal, B., Beer, T. M., & Sternberg, C. N. (2016). Efficacy and safety of enzalutamide in patients 75 years or older with chemotherapy-naïve metastatic castration-resistant prostate cancer: results from PREVAIL. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 27(2), 286–294.
- Grasso, C. S., Wu, Y.-M., Robinson, D. R., Cao, X., Dhanasekaran, S. M., Khan, A. P., Quist, M. J., Jing, X., Lonigro, R. J., Brenner, J. C., Asangani, I. A., Ateeq, B., Chun, S. Y., Siddiqui, J., Sam, L., Anstett, M., Mehra, R., Prensner, J. R., Palanisamy, N., ... Tomlins, S. A. (2012). The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature*, 487(7406), 239–243.
- Gregory, C. W., He, B., Johnson, R. T., Ford, O. H., Mohler, J. L., French, F. S., & Wilson, E. M. (2001). A mechanism for androgen receptor-mediated prostate cancer recurrence after androgen deprivation therapy. *Cancer Research*, 61(11), 4315–4319.
- Gul Satar, N. Y., Cangul, I. T., Topal, A., Kurt, H., Ipek, V., & Onel, G. I. (2017). The effects of *Tarantula cubensis* venom on open wound healing in rats. *Journal of Wound Care*, 26(2), 66–71.
- Güleş, Ö., & Ülker, E. (2008). Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2), 73–78.
- Gultiken, N., Guvenc, T., Kaya, D., Agaoglu, A. R., Ay, S. S., Kucukaslan, I., Emre, B., Findik, M., Schäfer-Somi, S., & Aslan, S. (2015). *Tarantula cubensis* extract alters the degree of apoptosis and mitosis in canine mammary adenocarcinomas. *Journal of Veterinary Science*, 16(2), 213–219.
- Gültiken, N., & Vural, M. R. (2007). The effect of *Tarantula cubensis* extract applied in pre and postoperative period of canine mammary tumours. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, 2, 13–23.
- Gürbulak, K., Akçay, A., Gümüşsoy, K. S., Sist, B., Steiner, S., Abay, M., Canoğlu, E., & Bekyürek, T. (2014). Investigation of the efficacy of *Tarantula cubensis* extract (Theranekron D6) in the treatment of subclinical and clinical mastitis in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38(6), 712–718.
- Haglund, E., Carlsson, S., Stranne, J., Wallerstedt, A., Wilderäng, U., Thorsteinsdottir, T., Lagerkvist, M., Damber, J.-E., Bjartell, A., Hugosson, J., Wiklund, P., & Steineck, G. (2015). Urinary Incontinence and Erectile Dysfunction After Robotic Versus Open Radical Prostatectomy: A Prospective, Controlled, Nonrandomised Trial. *European Urology*, 68(2), 216–225.
- Haider, A., Zitzmann, M., Doros, G., Isbarn, H., Hammerer, P., & Yassin, A. (2015). Incidence of prostate cancer in hypogonadal men receiving testosterone therapy: observations from 5-year median followup of 3 registries. *The Journal of*

*Urology*, 193(1), 80–86.

- Hamdy, F. C., Donovan, J. L., Lane, J. A., Mason, M., Metcalfe, C., Holding, P., Davis, M., Peters, T. J., Turner, E. L., Martin, R. M., Oxley, J., Robinson, M., Staffurth, J., Walsh, E., Bollina, P., Catto, J., Doble, A., Doherty, A., Gillatt, D., ... Neal, D. E. (2016). 10-Year Outcomes after Monitoring, Surgery, or Radiotherapy for Localized Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 375(15), 1415–1424.
- Hatzinger, M., Hubmann, R., Moll, F., & Sohn, M. (2012). [The history of prostate cancer from the beginning to DaVinci]. *Aktuelle Urologie*, 43(4), 228–230.
- Hauswald, H., Kamrava, M. R., Fallon, J. M., Wang, P.-C., Park, S.-J., Van, T., Borja, L., Steinberg, M. L., & Demanes, D. J. (2016). High-Dose-Rate Monotherapy for Localized Prostate Cancer: 10-Year Results. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 94(4), 667–674.
- Hauth, E., Hohmuth, H., Cozub-Poetica, C., Bernand, S., Beer, M., & Jaeger, H. (2015). Multiparametric MRI of the prostate with three functional techniques in patients with PSA elevation before initial TRUS-guided biopsy. *The British Journal of Radiology*, 88(1054), 20150422.
- Heck, M. M., Souvatzoglou, M., Retz, M., Nawroth, R., Kübler, H., Maurer, T., Thalgott, M., Gramer, B. M., Weirich, G., Rondak, I.-C., Rummeny, E. J., Schwaiger, M., Gschwend, J. E., Krause, B., & Eiber, M. (2014). Prospective comparison of computed tomography, diffusion-weighted magnetic resonance imaging and [11C]choline positron emission tomography/computed tomography for preoperative lymph node staging in prostate cancer patients. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 41(4), 694–701.
- Hemminki, K. (2012). Familial risk and familial survival in prostate cancer. *World Journal of Urology*, 30(2), 143–148.
- Hessels, D., van Gils, M. P. M. Q., van Hooij, O., Jannink, S. A., Witjes, J. A., Verhaegh, G. W., & Schalken, J. A. (2010). Predictive value of PCA3 in urinary sediments in determining clinico-pathological characteristics of prostate cancer. *The Prostate*, 70(1), 10–16.
- Hicks, R. J., Murphy, D. G., & Williams, S. G. (2017). Seduction by Sensitivity: Reality, Illusion, or Delusion? The Challenge of Assessing Outcomes after PSMA Imaging Selection of Patients for Treatment. *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, 58(12), 1969–1971.
- Hofman, M., Emmett, L., Violet, J. A., Lawrence, N. J., Williams, S., Stockler, M. R., Francis, R. J., Iravani, A., Zhang, A. Y., Martin, A. J., Azad, A., Yip, S., Langford, A., McJannett, M. M., & Davis, I. D. (2019). TheraP: A randomized phase II trial of [177Lu]-PSMA-617 theranostic versus cabazitaxel in progressive metastatic castration-resistant prostate cancer. *Journal of Clinical*

*Oncology*, 37(7\suppl), TPS332–TPS332.

- Holt, S. K., Salinas, C. A., & Stanford, J. L. (2008). Vasectomy and the risk of prostate cancer. *The Journal of Urology*, 180(6), 2565–2568.
- Horoszewicz, J. S., Leong, S. S., Kawinski, E., Karr, J. P., Rosenthal, H., Chu, T. M., Mirand, E. A., & Murphy, G. P. (1983). LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Research*, 43(4), 1809–1818.
- Hsing, A. W., Tsao, L., & Devesa, S. S. (2000). International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *International Journal of Cancer*, 85(1), 60–67.
- Huang, W.-Y., Hayes, R., Pfeiffer, R., Viscidi, R. P., Lee, F. K., Wang, Y. F., Reding, D., Whitby, D., Papp, J. R., & Rabkin, C. S. (2008). Sexually transmissible infections and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 17(9), 2374–2381.
- Huggins, C., Stevens, R. E., & Hodges, C. V. (1941). Studies on prostatic cancer: II. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Archives of Surgery*, 43(2), 209–223.
- Hussain, M., Tangen, C. M., Berry, D. L., Higano, C. S., Crawford, E. D., Liu, G., Wilding, G., Prescott, S., Kanaga Sundaram, S., Small, E. J., Dawson, N. A., Donnelly, B. J., Venner, P. M., Vaishampayan, U. N., Schellhammer, P. F., Quinn, D. I., Raghavan, D., Ely, B., Moinpour, C. M., ... Thompson, I. M. J. (2013). Intermittent versus continuous androgen deprivation in prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 368(14), 1314–1325.
- Hussain, M., Tangen, C. M., Higano, C., Schellhammer, P. F., Faulkner, J., Crawford, E. D., Wilding, G., Akdas, A., Small, E. J., Donnelly, B., MacVicar, G., & Raghavan, D. (2006). Absolute prostate-specific antigen value after androgen deprivation is a strong independent predictor of survival in new metastatic prostate cancer: data from Southwest Oncology Group Trial 9346 (INT-0162). *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 24(24), 3984–3990.
- Icen, H., Sekin, S., Simsek, A., Kochan, A., & Tunik, S. (2011). The efficacy of *Tarantula cubensis* extract (Theranekron) in treatment of canine oral papillomatosis. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(7), 744–749.
- Igney, F. H., & Krammer, P. H. (2002). Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nature Reviews. Cancer*, 2(4), 277–288.
- Ilic, D., Evans, S. M., Allan, C. A., Jung, J. H., Murphy, D., & Frydenberg, M. (2017). Laparoscopic and robotic-assisted versus open radical prostatectomy for

the treatment of localised prostate cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 9(9), CD009625.

Italiano, A., Ortholan, C., Oudard, S., Pouessel, D., Gravis, G., Beuzeboc, P., Bompas, E., Fléchon, A., Joly, F., Ferrero, J.-M., & Fizazi, K. (2009). Docetaxel-based chemotherapy in elderly patients (age 75 and older) with castration-resistant prostate cancer. *European Urology*, 55(6), 1368–1375.

Iversen, P. (2002). Antiandrogen monotherapy: indications and results. *Urology*, 60(3 Suppl 1), 64–71.

Jackson, R. S. 2nd, Placzek, W., Fernandez, A., Ziaee, S., Chu, C.-Y., Wei, J., Stebbins, J., Kitada, S., Fritz, G., Reed, J. C., Chung, L. W., Pellicchia, M., & Bhowmick, N. A. (2012). Sabutoclax, a Mcl-1 antagonist, inhibits tumorigenesis in transgenic mouse and human xenograft models of prostate cancer. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 14(7), 656–665.

Jambor, I., Kähkönen, E., Taimen, P., Merisaari, H., Saunavaara, J., Alanen, K., Obsitnik, B., Minn, H., Lehotska, V., & Aronen, H. J. (2015). Prebiopsy multiparametric 3T prostate MRI in patients with elevated PSA, normal digital rectal examination, and no previous biopsy. *Journal of Magnetic Resonance Imaging : JMRI*, 41(5), 1394–1404.

James, Nicholas D, de Bono, J. S., Spears, M. R., Clarke, N. W., Mason, M. D., Dearnaley, D. P., Ritchie, A. W. S., Amos, C. L., Gilson, C., Jones, R. J., Matheson, D., Millman, R., Attard, G., Chowdhury, S., Cross, W. R., Gillissen, S., Parker, C. C., Russell, J. M., Berthold, D. R., ... Sydes, M. R. (2017). Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy. *The New England Journal of Medicine*, 377(4), 338–351.

James, Nicholas David, Spears, M. R., Clarke, N. W., Dearnaley, D. P., De Bono, J. S., Gale, J., Hetherington, J., Hoskin, P. J., Jones, R. J., Laing, R., Lester, J. F., McLaren, D., Parker, C. C., Parmar, M. K. B., Ritchie, A. W. S., Russell, J. M., Strebil, R. T., Thalmann, G. N., Mason, M. D., & Sydes, M. R. (2015). Survival with Newly Diagnosed Metastatic Prostate Cancer in the “Docetaxel Era”: Data from 917 Patients in the Control Arm of the STAMPEDE Trial (MRC PR08, CRUK/06/019). *European Urology*, 67(6), 1028–1038.

Jansson, K. F., Akre, O., Garmo, H., Bill-Axelsson, A., Adolfsson, J., Stattin, P., & Bratt, O. (2012). Concordance of tumor differentiation among brothers with prostate cancer. *European Urology*, 62(4), 656–661.

Jochumsen, M. R., Dias, A. H., & Bouchelouche, K. (2018). Benign Traumatic Rib Fracture: A Potential Pitfall on 68Ga-Prostate-Specific Membrane Antigen PET/CT for Prostate Cancer. *Clinical Nuclear Medicine*, 43(1), 38–40.

Jonas, W. B., Gaddipati, J. P., Rajeshkumar, N. V., Sharma, A., Thangapazham, R. L., Warren, J., Singh, A. K., Ives, J. A., Olsen, C., Mog, S. R., & Maheshwari, R. K. (2006). Can homeopathic treatment slow prostate cancer growth?

*Integrative Cancer Therapies*, 5(4), 343–349.

- Junqueira, L. C., & Carneiro, J. (2006). Erkek Üreme Sistemi. In Y. Aytekin & S. Solakoğlu (Eds.), *Temel Histoloji* (pp. 431–448). Nobel Tıp Kitapevleri.
- Kaçar, C., Zonturlu, A. K., Oral, H., Yildiz, S., & Ari, U. C. (2007). The effects of Theranekron (R) application on uterus involution and vaginal efluence in cows early puerperal period. *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 13(1), 11–15.
- Kamangar, F., Dores, G. M., & Anderson, W. F. (2006). Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 24(14), 2137–2150.
- Kantoff, P. W., Higano, C. S., Shore, N. D., Berger, E. R., Small, E. J., Penson, D. F., Redfern, C. H., Ferrari, A. C., Dreicer, R., Sims, R. B., Xu, Y., Frohlich, M. W., & Schellhammer, P. F. (2010). Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 363(5), 411–422.
- Karami, S., Young, H. A., & Henson, D. E. (2007). Earlier age at diagnosis: another dimension in cancer disparity? *Cancer Detection and Prevention*, 31(1), 29–34.
- Kavoussi, P. (2016). Surgical, Radiographic, and Endoscopic Anatomy of the Male Reproductive System. In A. J. Wein, L. R. Kavoussi, A. W. Partin, & C. A. Peters (Eds.), *Campbell-Walsh Urology* (11th ed., pp. 498–515). Elsevier.
- Kellokumpu-Lehtinen, P.-L., Harmenberg, U., Joensuu, T., McDermott, R., Hervonen, P., Ginman, C., Luukka, M., Nyandoto, P., Hemminki, A., Nilsson, S., McCaffrey, J., Asola, R., Turpeenniemi-Hujanen, T., Laestadius, F., Tasmuth, T., Sandberg, K., Keane, M., Lehtinen, I., Luukkaala, T., & Joensuu, H. (2013). 2-Weekly versus 3-weekly docetaxel to treat castration-resistant advanced prostate cancer: a randomised, phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 14(2), 117–124.
- Kerr, J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26(4), 239–257.
- Kim, J. H., Lee, S. Y., Oh, S. Y., Han, S. I., Park, H. G., Yoo, M.-A., & Kang, H. S. (2004). Methyl jasmonate induces apoptosis through induction of Bax/Bcl-XS and activation of caspase-3 via ROS production in A549 cells. *Oncology Reports*, 12(6), 1233–1238.
- Kiss, B., Thoeny, H. C., & Studer, U. E. (2016). Current Status of Lymph Node Imaging in Bladder and Prostate Cancer. *Urology*, 96, 1–7.
- Kizilay, Z., Aktas, S., Kahraman Cetin, N., Kilic, M. A., & Ozturk, H. (2019). Effect

of *Tarantula cubensis* extract (Theranekron) on peripheral nerve healing in an experimental sciatic nerve injury model in rats. *Turkish Neurosurgery*, 29(5), 743–749.

Klotz, L., McNeill, I., & Fleshner, N. (1999). A phase 1-2 trial of diethylstilbestrol plus low dose warfarin in advanced prostate carcinoma. *The Journal of Urology*, 161(1), 169–172.

Klotz, Laurence, Boccon-Gibod, L., Shore, N. D., Andreou, C., Persson, B.-E., Cantor, P., Jensen, J.-K., Olesen, T. K., & Schröder, F. H. (2008). The efficacy and safety of degarelix: a 12-month, comparative, randomized, open-label, parallel-group phase III study in patients with prostate cancer. *BJU International*, 102(11), 1531–1538.

Koch, H., & Stein, M. (1980). Konservative behandlung von neoplasmen der milchdrüse des hundes mit theranekron. *Praktische Tierarzt*, 61, 424–430.

Koivisto, P., Kononen, J., Palmberg, C., Tammela, T., Hyytinen, E., Isola, J., Trapman, J., Cleutjens, K., Noordzij, A., Visakorpi, T., & Kallioniemi, O. P. (1997). Androgen receptor gene amplification: a possible molecular mechanism for androgen deprivation therapy failure in prostate cancer. *Cancer Research*, 57(2), 314–319.

Konaç, E., & Sözen, S. (2017). Prostat Kanseri Tedavisinin Geleceği Apoptotik İndükleyicilerde mi? *Bulletin of Urooncology*, 16, 22–27.

Kozlu, T., Güler, F., Peker Akalın, P., Kazak, F., Ergün, Y., & Aslan, E. (2021). The influence of Theranekron® on glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in rat ovaries, intact and with ischemia-reperfusion injury. *Veterinarski Arhiv*, 91(1), 81–88.

Krakowsky, Y., & Morgentaler, A. (2019). Risk of Testosterone Flare in the Era of the Saturation Model: One More Historical Myth. *European Urology Focus*, 5(1), 81–89.

Kramer, B. S., Hagerty, K. L., Justman, S., Somerfield, M. R., Albertsen, P. C., Blot, W. J., Ballentine Carter, H., Costantino, J. P., Epstein, J. I., Godley, P. A., Harris, R. P., Wilt, T. J., Wittes, J., Zon, R., & Schellhammer, P. (2009). Use of 5-alpha-reductase inhibitors for prostate cancer chemoprevention: American Society of Clinical Oncology/American Urological Association 2008 Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 27(9), 1502–1516.

Kristal, A. R., Till, C., Song, X., Tangen, C. M., Goodman, P. J., Neuhauser, M. L., Schenk, J. M., Thompson, I. M., Meyskens, F. L. J., Goodman, G. E., Minasian, L. M., Parnes, H. L., & Klein, E. A. (2014). Plasma vitamin D and prostate cancer risk: results from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American*



*Society of Preventive Oncology*, 23(8), 1494–1504.

- Kunath, F., Grobe, H. R., Rücker, G., Motschall, E., Antes, G., Dahm, P., Wullich, B., & Meerpohl, J. J. (2014). Non-steroidal antiandrogen monotherapy compared with luteinising hormone-releasing hormone agonists or surgical castration monotherapy for advanced prostate cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 6, CD009266.
- Kunath, F., Jensen, K., Pinart, M., Kahlmeyer, A., Schmidt, S., Price, C. L., Lieb, V., & Dahm, P. (2019). Early versus deferred standard androgen suppression therapy for advanced hormone-sensitive prostate cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 6(6), CD003506.
- Kyriakopoulos, C. E., Chen, Y.-H., Carducci, M. A., Liu, G., Jarrard, D. F., Hahn, N. M., Shevrin, D. H., Dreicer, R., Hussain, M., Eisenberger, M., Kohli, M., Plimack, E. R., Vogelzang, N. J., Picus, J., Cooney, M. M., Garcia, J. A., DiPaola, R. S., & Sweeney, C. J. (2018). Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer: Long-Term Survival Analysis of the Randomized Phase III E3805 CHAARTED Trial. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(11), 1080–1087.
- Lai, K.-P., Yamashita, S., Huang, C.-K., Yeh, S., & Chang, C. (2012). Loss of stromal androgen receptor leads to suppressed prostate tumourigenesis via modulation of pro-inflammatory cytokines/chemokines. *EMBO Molecular Medicine*, 4(8), 791–807.
- Lam, T. B. L., MacLennan, S., Willemsse, P.-P. M., Mason, M. D., Plass, K., Shepherd, R., Baanders, R., Bangma, C. H., Bjartell, A., Bossi, A., Briers, E., Briganti, A., Buddingh, K. T., Catto, J. W. F., Colecchia, M., Cox, B. W., Cumberbatch, M. G., Davies, J., Davis, N. F., ... Mottet, N. (2019). EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Prostate Cancer Guideline Panel Consensus Statements for Deferred Treatment with Curative Intent for Localised Prostate Cancer from an International Collaborative Study (DETECTIVE Study). *European Urology*, 76(6), 790–813.
- Lee, C. H., Akin-Olugbade, O., & Kirschenbaum, A. (2011). Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 40(3), 565–575.
- Lian, W.-Q., Luo, F., Song, X.-L., Lu, Y.-J., & Zhao, S.-C. (2015). Gonorrhea and Prostate Cancer Incidence: An Updated Meta-Analysis of 21 Epidemiologic Studies. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 21, 1902–1910.
- Lin, D. L., Whitney, M. C., Yao, Z., & Keller, E. T. (2001). Interleukin-6 induces androgen responsiveness in prostate cancer cells through up-regulation of androgen receptor expression. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 7(6), 1773–1781.

- Linja, M J, Savinainen, K. J., Saramäki, O. R., Tammela, T. L., Vessella, R. L., & Visakorpi, T. (2001). Amplification and overexpression of androgen receptor gene in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Research*, 61(9), 3550–3555.
- Linja, Marika J, & Visakorpi, T. (2004). Alterations of androgen receptor in prostate cancer. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 92(4), 255–264.
- Litvinov, I. V, De Marzo, A. M., & Isaacs, J. T. (2003). Is the Achilles' heel for prostate cancer therapy a gain of function in androgen receptor signaling? *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88(7), 2972–2982.
- Liu, X., Allen, J. D., Arnold, J. T., & Blackman, M. R. (2008). Lycopene inhibits IGF-I signal transduction and growth in normal prostate epithelial cells by decreasing DHT-modulated IGF-I production in co-cultured reactive stromal cells. *Carcinogenesis*, 29(4), 816–823.
- Lockshin, R. A., & Zakeri, Z. (2004). Apoptosis, autophagy, and more. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(12), 2405–2419.
- Loeb, S. (2014). Guideline of guidelines: prostate cancer screening. *BJU International*, 114(3), 323–325.
- Loeb, S., Bruinsma, S. M., Nicholson, J., Briganti, A., Pickles, T., Kakehi, Y., Carlsson, S. V, & Roobol, M. J. (2015). Active surveillance for prostate cancer: a systematic review of clinicopathologic variables and biomarkers for risk stratification. *European Urology*, 67(4), 619–626.
- Loeb, S., Gonzalez, C. M., Roehl, K. A., Han, M., Antenor, J. A. V, Yap, R. L., & Catalona, W. J. (2006). Pathological characteristics of prostate cancer detected through prostate specific antigen based screening. *The Journal of Urology*, 175(3 Pt 1), 902–906.
- Lu-Yao, G. L., Albertsen, P. C., Moore, D. F., Shih, W., Lin, Y., DiPaola, R. S., Barry, M. J., Zietman, A., O'Leary, M., Walker-Corkery, E., & Yao, S.-L. (2009). Outcomes of localized prostate cancer following conservative management. *JAMA*, 302(11), 1202–1209.
- Lynch, H. T., Kosoko-Lasaki, O., Leslie, S. W., Rendell, M., Shaw, T., Snyder, C., D'Amico, A. V, Buxbaum, S., Isaacs, W. B., Loeb, S., Moul, J. W., & Powell, I. (2016). Screening for familial and hereditary prostate cancer. *International Journal of Cancer*, 138(11), 2579–2591.
- MacLaughlin, B. W., Gutschmuths, B., Pretner, E., Jonas, W. B., Ives, J., Kulawardane, D. V., & Amri, H. (2006). Effects of homeopathic preparations on human prostate cancer growth in cellular and animal models. *Integrative Cancer Therapies*, 5(4), 362–372.
- Maffezzini, M., Seveso, M., Taverna, G., Giusti, G., Benetti, A., & Graziotti, P.

- (2003). Evaluation of complications and results in a contemporary series of 300 consecutive radical retropubic prostatectomies with the anatomic approach at a single institution. *Urology*, *61*(5), 982–986.
- Makay, M., Gelen, V., Gedikli, S., Atila Uslu, G., Uslu, H., & Eroglu, H. A. (2020). Therapeutic effect of *Tarantula cubensis* extract on indomethacin induced gastric ulcers in rats. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, *50*(4), 559–566.
- Marcelli, M., Ittmann, M., Mariani, S., Sutherland, R., Nigam, R., Murthy, L., Zhao, Y., DiConcini, D., Puxeddu, E., Esen, A., Eastham, J., Weigel, N. L., & Lamb, D. J. (2000). Androgen receptor mutations in prostate cancer. *Cancer Research*, *60*(4), 944–949.
- Martens, C., Pond, G., Webster, D., McLean, M., Gillan, C., & Crook, J. (2006). Relationship of the International Prostate Symptom score with urinary flow studies, and catheterization rates following 125I prostate brachytherapy. *Brachytherapy*, *5*(1), 9–13.
- Martinvalet, D., Zhu, P., & Lieberman, J. (2005). Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity*, *22*(3), 355–370.
- Mateo, J., Carreira, S., Sandhu, S., Miranda, S., Mossop, H., Perez-Lopez, R., Nava Rodrigues, D., Robinson, D., Omlin, A., Tunariu, N., Boysen, G., Porta, N., Flohr, P., Gillman, A., Figueiredo, I., Paulding, C., Seed, G., Jain, S., Ralph, C., ... de Bono, J. S. (2015). DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, *373*(18), 1697–1708.
- Mattei, A., Fuechsel, F. G., Bhatta Dhar, N., Warncke, S. H., Thalmann, G. N., Krause, T., & Studer, U. E. (2008). The template of the primary lymphatic landing sites of the prostate should be revisited: results of a multimodality mapping study. *European Urology*, *53*(1), 118–125.
- Maurer, T., Eiber, M., Schwaiger, M., & Gschwend, J. E. (2016). Current use of PSMA-PET in prostate cancer management. *Nature Reviews. Urology*, *13*(4), 226–235.
- McKenna, N. J., Lanz, R. B., & O'Malley, B. W. (1999). Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocrine Reviews*, *20*(3), 321–344.
- McKiernan, J., Donovan, M. J., O'Neill, V., Bentink, S., Noerholm, M., Belzer, S., Skog, J., Kattan, M. W., Partin, A., Andriole, G., Brown, G., Wei, J. T., Thompson, I. M. J., & Carroll, P. (2016). A Novel Urine Exosome Gene Expression Assay to Predict High-grade Prostate Cancer at Initial Biopsy. *JAMA Oncology*, *2*(7), 882–889.
- Mellinger, G. T., Gleason, D., & Bailar, J. 3rd. (1967). The histology and prognosis of prostatic cancer. *The Journal of Urology*, *97*(2), 331–337.

- Merrell, W. C., & Shalts, E. (2002). Homeopathy. *The Medical Clinics of North America*, 86(1), 47–62.
- Montgomery, R. B., Mostaghel, E. A., Vessella, R., Hess, D. L., Kalthorn, T. F., Higano, C. S., True, L. D., & Nelson, P. S. (2008). Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: a mechanism for castration-resistant tumor growth. *Cancer Research*, 68(11), 4447–4454.
- Morley, J. E. (2000). Testosterone replacement and the physiologic aspects of aging in men. *Mayo Clinic Proceedings*, 75 Suppl, S83-7.
- Morote, J., Planas, J., Salvador, C., Raventós, C. X., Catalán, R., & Reventós, J. (2009). Individual variations of serum testosterone in patients with prostate cancer receiving androgen deprivation therapy. *BJU International*, 103(3), 332–335; discussion 335.
- Mottet, N., Cornford, P., van den Bergh, R. C. N., Briers, E., De Santis, M., Fanti, S., Gillessen, S., Grummet, J., Henry, A. M., Lam, T. B., Mason, M. D., van der Kwast, T. H., van der Poel, H. G., Rouvière, O., Schoots, I. G., Tilki, D., Wiegel, T., Van den Broeck, T., Cumberbatch, M. G., ... Willemsse, P.-P. M. (2020). EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. *Eur Assoc Urol*, 1–182.
- Mottet, N., van den Bergh, R. C. N., Briers, E., Van den Broeck, T., Cumberbatch, M. G., De Santis, M., Fanti, S., Fossati, N., Gandaglia, G., Gillessen, S., Grivas, N., Grummet, J., Henry, A. M., van der Kwast, T. H., Lam, T. B., Lardas, M., Liew, M., Mason, M. D., Moris, L., ... Cornford, P. (2021). EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer-2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *European Urology*, 79(2), 243–262.
- Nair, B., Wilt, T., MacDonald, R., & Rutks, I. (2002). Early versus deferred androgen suppression in the treatment of advanced prostatic cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, CD003506.
- Naji, L., Randhawa, H., Sohani, Z., Dennis, B., Lautenbach, D., Kavanagh, O., Bawor, M., Banfield, L., & Profetto, J. (2018). Digital Rectal Examination for Prostate Cancer Screening in Primary Care: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Family Medicine*, 16(2), 149–154.
- Nazareth, L. V., & Weigel, N. L. (1996). Activation of the human androgen receptor through a protein kinase A signaling pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(33), 19900–19907.
- Nguyen, M., Cencic, R., Ertel, F., Bernier, C., Pelletier, J., Roulston, A., Silvius, J. R., & Shore, G. C. (2015). Obatoclox is a direct and potent antagonist of membrane-restricted Mcl-1 and is synthetic lethal with treatment that induces Bim. *BMC Cancer*, 15, 568.

- Nicholson, A., Mahon, J., Boland, A., Beale, S., Dwan, K., Fleeman, N., Hockenhull, J., & Dundar, Y. (2015). The clinical effectiveness and cost-effectiveness of the PROGENSA® prostate cancer antigen 3 assay and the Prostate Health Index in the diagnosis of prostate cancer: a systematic review and economic evaluation. *Health Technology Assessment (Winchester, England)*, *19*(87), i–xxxi, 1–191.
- Nilsson, S., Franzén, L., Parker, C., Tyrrell, C., Blom, R., Tennvall, J., Lennernäs, B., Petersson, U., Johannessen, D. C., Sokal, M., Pigott, K., Yachnin, J., Garkavij, M., Strang, P., Harmenberg, J., Bolstad, B., & Bruland, O. S. (2007). Bone-targeted radium-223 in symptomatic, hormone-refractory prostate cancer: a randomised, multicentre, placebo-controlled phase II study. *The Lancet. Oncology*, *8*(7), 587–594.
- Nordström, T., Vickers, A., Assel, M., Lilja, H., Grönberg, H., & Eklund, M. (2015). Comparison Between the Four-kallikrein Panel and Prostate Health Index for Predicting Prostate Cancer. *European Urology*, *68*(1), 139–146.
- Nyame, Y. A., Murphy, A. B., Bowen, D. K., Jordan, G., Batai, K., Dixon, M., Hollowell, C. M. P., Kielb, S., Meeks, J. J., Gann, P. H., Macias, V., Kajdacsy-Balla, A., Catalona, W. J., & Kittles, R. (2016). Associations Between Serum Vitamin D and Adverse Pathology in Men Undergoing Radical Prostatectomy. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *34*(12), 1345–1349.
- Oesterling, J. E., Jacobsen, S. J., Chute, C. G., Guess, H. A., Girman, C. J., Panser, L. A., & Lieber, M. M. (1993). Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges. *JAMA*, *270*(7), 860–864.
- Okotie, O. T., Roehl, K. A., Han, M., Loeb, S., Gashti, S. N., & Catalona, W. J. (2007). Characteristics of prostate cancer detected by digital rectal examination only. *Urology*, *70*(6), 1117–1120.
- Oppenheim, R. W., Flavell, R. A., Vinsant, S., Prevette, D., Kuan, C. Y., & Rakic, P. (2001). Programmed cell death of developing mammalian neurons after genetic deletion of caspases. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *21*(13), 4752–4760.
- Oryan, A., Moshiri, A., & Raayat, A. R. (2012). Novel application of Theranekron® enhanced the structural and functional performance of the tenotomized tendon in rabbits. *Cells, Tissues, Organs*, *196*(5), 442–455.
- Ost, P., Bossi, A., Decaestecker, K., De Meerleer, G., Giannarini, G., Karnes, R. J., Roach, M. 3rd, & Briganti, A. (2015). Metastasis-directed therapy of regional and distant recurrences after curative treatment of prostate cancer: a systematic review of the literature. *European Urology*, *67*(5), 852–863.
- Ost, P., Reynders, D., Decaestecker, K., Fonteyne, V., Lumen, N., De Bruycker, A., Lambert, B., Delrue, L., Bultijnck, R., Claeys, T., Goetghebeur, E., Villeirs, G.,

- De Man, K., Ameye, F., Billiet, I., Joniau, S., Vanhaverbeke, F., & De Meerleer, G. (2018). Surveillance or Metastasis-Directed Therapy for Oligometastatic Prostate Cancer Recurrence: A Prospective, Randomized, Multicenter Phase II Trial. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(5), 446–453.
- Pabalan, N., Singian, E., Jarjanazi, H., & Paganini-Hill, A. (2015). Association of male circumcision with risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 18(4), 352–357.
- Page, E. C., Bancroft, E. K., Brook, M. N., Assel, M., Hassan Al Battat, M., Thomas, S., Taylor, N., Chamberlain, A., Pope, J., Raghallaigh, H. N., Evans, D. G., Rothwell, J., Maehle, L., Grindedal, E. M., James, P., Mascarenhas, L., McKinley, J., Side, L., Thomas, T., ... Eeles, R. A. (2019). Interim Results from the IMPACT Study: Evidence for Prostate-specific Antigen Screening in BRCA2 Mutation Carriers. *European Urology*, 76(6), 831–842.
- Pagliarulo, V., Bracarda, S., Eisenberger, M. A., Mottet, N., Schröder, F. H., Sternberg, C. N., & Studer, U. E. (2012). Contemporary role of androgen deprivation therapy for prostate cancer. *European Urology*, 61(1), 11–25.
- Paksoy, Z., Gülesci, N., Kandemir, F. M., & Dinçel, G. Ç. (2015). Effectiveness of levamisole and tarantula cubensis extract in the treatment of teat Papillomatosis of cows. *Indian Journal of Animal Research*, 49(5), 704–708.
- Park, J. M. (2016). Embryology of the Genitourinary Tract. In A. J. Wein, L. R. Kavoussi, A. W. Partin, & C. A. Peters (Eds.), *Campbell-Walsh Urology* (11th ed., pp. 2823–2848). Elsevier.
- Parker, C. C., James, N. D., Brawley, C. D., Clarke, N. W., Hoyle, A. P., Ali, A., Ritchie, A. W. S., Attard, G., Chowdhury, S., Cross, W., Dearnaley, D. P., Gillessen, S., Gilson, C., Jones, R. J., Langley, R. E., Malik, Z. I., Mason, M. D., Matheson, D., Millman, R., ... Sydes, M. R. (2018). Radiotherapy to the primary tumour for newly diagnosed, metastatic prostate cancer (STAMPEDE): a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet (London, England)*, 392(10162), 2353–2366.
- Parker, C., Nilsson, S., Heinrich, D., Helle, S. I., O'Sullivan, J. M., Fosså, S. D., Chodacki, A., Wiechno, P., Logue, J., Seke, M., Widmark, A., Johannessen, D. C., Hoskin, P., Bottomley, D., James, N. D., Solberg, A., Syndikus, I., Kliment, J., Wedel, S., ... Sartor, O. (2013). Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, 369(3), 213–223.
- Partin, A. W., Van Neste, L., Klein, E. A., Marks, L. S., Gee, J. R., Troyer, D. A., Rieger-Christ, K., Jones, J. S., Magi-Galluzzi, C., Mangold, L. A., Trock, B. J., Lance, R. S., Bigley, J. W., Van Criekinge, W., & Epstein, J. I. (2014). Clinical validation of an epigenetic assay to predict negative histopathological results in repeat prostate biopsies. *The Journal of Urology*, 192(4), 1081–1087.

- Pelzer, A. E., Bektic, J., Berger, A. P., Halpern, E. J., Koppelstätter, F., Klauser, A., Rehder, P., Horninger, W., Bartsch, G., & Frauscher, F. (2005). Are transition zone biopsies still necessary to improve prostate cancer detection? Results from the tyrol screening project. *European Urology*, *48*(6), 916–921; discussion 921.
- Pepdjonovic, L., Tan, G. H., Huang, S., Mann, S., Frydenberg, M., Moon, D., Hanegbi, U., Landau, A., Snow, R., & Grummet, J. (2017). Zero hospital admissions for infection after 577 transperineal prostate biopsies using single-dose cephazolin prophylaxis. *World Journal of Urology*, *35*(8), 1199–1203.
- Perera, M., Papa, N., Christidis, D., Wetherell, D., Hofman, M. S., Murphy, D. G., Bolton, D., & Lawrentschuk, N. (2016). Sensitivity, Specificity, and Predictors of Positive (68)Ga-Prostate-specific Membrane Antigen Positron Emission Tomography in Advanced Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *European Urology*, *70*(6), 926–937.
- Philchenkov, A., Zavelevich, M., Krocak, T. J., & Los, M. (2004). Caspases and cancer: mechanisms of inactivation and new treatment modalities. *Experimental Oncology*, *26*(2), 82–97.
- Pickles, T., Hamm, J., Morris, W. J., Schreiber, W. E., & Tyldesley, S. (2012). Incomplete testosterone suppression with luteinizing hormone-releasing hormone agonists: does it happen and does it matter? *BJU International*, *110*(11 Pt B), E500-7.
- Pienta, K. J., & Esper, P. S. (1993). Risk factors for prostate cancer. *Annals of Internal Medicine*, *118*(10), 793–803.
- Pilepich, M. V, Winter, K., Lawton, C. A., Krisch, R. E., Wolkov, H. B., Movsas, B., Hug, E. B., Asbell, S. O., & Grignon, D. (2005). Androgen suppression adjuvant to definitive radiotherapy in prostate carcinoma--long-term results of phase III RTOG 85-31. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, *61*(5), 1285–1290.
- Pinaquy, J.-B., De Clermont-Galleran, H., Pasticier, G., Rigou, G., Alberti, N., Hindie, E., Mokrane, Y., & Fernandez, P. (2015). Comparative effectiveness of [(18) F]-fluorocholine PET-CT and pelvic MRI with diffusion-weighted imaging for staging in patients with high-risk prostate cancer. *The Prostate*, *75*(3), 323–331.
- Pingel, S. (1992). [Homeopathy. Basic aspects and principles of use in dermatology]. *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*, *43*(8), 475–482.
- Polascik, T J, Oesterling, J. E., & Partin, A. W. (1999). Prostate specific antigen: a decade of discovery--what we have learned and where we are going. *The Journal of Urology*, *162*(2), 293–306.
- Polascik, Thomas J, Mayes, J. M., Sun, L., Madden, J. F., Moul, J. W., & Mouraviev,

- V. (2008). Pathologic stage T2a and T2b prostate cancer in the recent prostate-specific antigen era: implications for unilateral ablative therapy. *The Prostate*, 68(13), 1380–1386.
- Poon, I. K. H., Lucas, C. D., Rossi, A. G., & Ravichandran, K. S. (2014). Apoptotic cell clearance: basic biology and therapeutic potential. *Nature Reviews. Immunology*, 14(3), 166–180.
- Preston, M. A., Riis, A. H., Ehrenstein, V., Breau, R. H., Batista, J. L., Olumi, A. F., Mucci, L. A., Adami, H.-O., & Sørensen, H. T. (2014). Metformin use and prostate cancer risk. *European Urology*, 66(6), 1012–1020.
- Pritchard, C. C., Mateo, J., Walsh, M. F., De Sarkar, N., Abida, W., Beltran, H., Garofalo, A., Gulati, R., Carreira, S., Eeles, R., Elemento, O., Rubin, M. A., Robinson, D., Lonigro, R., Hussain, M., Chinnaiyan, A., Vinson, J., Filipenko, J., Garraway, L., ... Nelson, P. S. (2016). Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 375(5), 443–453.
- Raaijmakers, R., Blijenberg, B. G., Finlay, J. A., Rittenhouse, H. G., Wildhagen, M. F., Roobol, M. J., & Schröder, F. H. (2004). Prostate cancer detection in the prostate specific antigen range of 2.0 to 3.9 ng/ml: value of percent free prostate specific antigen on tumor detection and tumor aggressiveness. *The Journal of Urology*, 171(6 Pt 1), 2245–2249.
- Ramsay, C. R., Adewuyi, T. E., Gray, J., Hislop, J., Shirley, M. D. F., Jayakody, S., MacLennan, G., Fraser, C., MacLennan, S., Brazzelli, M., N'Dow, J., Pickard, R., Robertson, C., Rothnie, K., Rushton, S. P., Vale, L., & Lam, T. B. (2015). Ablative therapy for people with localised prostate cancer: a systematic review and economic evaluation. *Health Technology Assessment (Winchester, England)*, 19(49), 1–490.
- Randazzo, M., Müller, A., Carlsson, S., Eberli, D., Huber, A., Grobholz, R., Manka, L., Mortezaei, A., Sulser, T., Recker, F., & Kwiatkowski, M. (2016). A positive family history as a risk factor for prostate cancer in a population-based study with organised prostate-specific antigen screening: results of the Swiss European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC, Aarau). *BJU International*, 117(4), 576–583.
- Raychaudhuri, B., & Cahill, D. (2008). Pelvic fasciae in urology. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, 90(8), 633–637.
- Reynard, J., Brewster, S., & Biers, S. (2013). Urological Neoplasia. In J. Reynard, S. Brewster, & S. Biers (Eds.), *Oxford Handbook of Urology* (p. 330). Oxford University Press.
- Richardson-Boedler, C. (2002). The brown spider *Loxosceles laeta*: source of the remedy *Tarentula cubensis*? *Homeopathy: The Journal of the Faculty of Homeopathy*, 91(3), 166–170.



- Richie, J. P., Catalona, W. J., Ahmann, F. R., Hudson, M. A., Scardino, P. T., Flanigan, R. C., deKernion, J. B., Ratliff, T. L., Kavoussi, L. R., Dalkin, B. L., Waters, W. B., MacFarlane, M. T., & Southwick, P. C. (1993). Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate-specific antigen and digital rectal examination. *Urology*, *42*(4), 365–374.
- Rider, J. R., Wilson, K. M., Sinnott, J. A., Kelly, R. S., Mucci, L. A., & Giovannucci, E. L. (2016). Ejaculation Frequency and Risk of Prostate Cancer: Updated Results with an Additional Decade of Follow-up. *European Urology*, *70*(6), 974–982.
- Roberts, M. J., Bennett, H. Y., Harris, P. N., Holmes, M., Grummet, J., Naber, K., & Wagenlehner, F. M. E. (2017). Prostate Biopsy-related Infection: A Systematic Review of Risk Factors, Prevention Strategies, and Management Approaches. *Urology*, *104*, 11–21.
- Robertson, N. L., Emberton, M., & Moore, C. M. (2013). MRI-targeted prostate biopsy: a review of technique and results. *Nature Reviews. Urology*, *10*(10), 589–597.
- Roehl, K. A., Antenor, J. A. V., & Catalona, W. J. (2002). Serial biopsy results in prostate cancer screening study. *The Journal of Urology*, *167*(6), 2435–2439.
- Ross, A. E., & Rodriguez, R. (2016). Development, Molecular Biology, and Physiology of the Prostate. In A. J. Wein, L. R. Kavoussi, A. W. Partin, & C. A. Peters (Eds.), *Campbell-Walsh Urology* (11th ed., pp. 2393–2424). Elsevier.
- Rouvière, O., Puech, P., Renard-Penna, R., Claudon, M., Roy, C., Mège-Lechevallier, F., Decaussin-Petrucci, M., Dubreuil-Chambardel, M., Magaud, L., Remontet, L., Ruffion, A., Colombel, M., Crouzet, S., Schott, A.-M., Lemaitre, L., Rabilloud, M., & Grenier, N. (2019). Use of prostate systematic and targeted biopsy on the basis of multiparametric MRI in biopsy-naive patients (MRI-FIRST): a prospective, multicentre, paired diagnostic study. *The Lancet. Oncology*, *20*(1), 100–109.
- Rowles, J. L. 3rd, Ranard, K. M., Applegate, C. C., Jeon, S., An, R., & Erdman, J. W. J. (2018). Processed and raw tomato consumption and risk of prostate cancer: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, *21*(3), 319–336.
- Ryan, C. J., Smith, M. R., Fizazi, K., Saad, F., Mulders, P. F. A., Sternberg, C. N., Miller, K., Logothetis, C. J., Shore, N. D., Small, E. J., Carles, J., Flaig, T. W., Taplin, M.-E., Higano, C. S., de Souza, P., de Bono, J. S., Griffin, T. W., De Porre, P., Yu, M. K., ... Rathkopf, D. E. (2015). Abiraterone acetate plus prednisone versus placebo plus prednisone in chemotherapy-naive men with metastatic castration-resistant prostate cancer (COU-AA-302): final overall survival analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 stud. *The Lancet. Oncology*, *16*(2), 152–160.

- Rydzewska, L. H. M., Burdett, S., Vale, C. L., Clarke, N. W., Fizazi, K., Kheoh, T., Mason, M. D., Miladinovic, B., James, N. D., Parmar, M. K. B., Spears, M. R., Sweeney, C. J., Sydes, M. R., Tran, N., & Tierney, J. F. (2017). Adding abiraterone to androgen deprivation therapy in men with metastatic hormone-sensitive prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, *84*, 88–101.
- Samraj, A. K., Keil, E., Ueffing, N., Schulze-Osthoff, K., & Schmitz, I. (2006). Loss of caspase-9 provides genetic evidence for the type I/II concept of CD95-mediated apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*, *281*(40), 29652–29659.
- Sardari, K., Kakhki, E. G., & Mohri, M. (2007). Evaluation of wound contraction and epithelialization after subcutaneous administration of Theranekron® in cows. *Comparative Clinical Pathology*, *16*(3), 197–200.
- Sartor, A. O., Oudard, S., Sengelov, L., Daugaard, G., Saad, F., Hansen, S., Hjelm-Eriksson, M., Jassem, J., Thiery-Vuillemin, A., & Caffo, O. (2016). *Cabazitaxel vs docetaxel in chemotherapy-naïve (CN) patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): A three-arm phase III study (FIRSTANA)*. American Society of Clinical Oncology.
- Sathianathen, N. J., Philippou, Y. A., Kuntz, G. M., Konety, B. R., Gupta, S., Lamb, A. D., & Dahm, P. (2018). Taxane-based chemohormonal therapy for metastatic hormone-sensitive prostate cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *10*(10), CD012816.
- Schalken, J. A., Hessels, D., & Verhaegh, G. (2003). New targets for therapy in prostate cancer: differential display code 3 (DD3(PCA3)), a highly prostate cancer-specific gene. *Urology*, *62*(5 Suppl 1), 34–43.
- Scher, H I, Mazumdar, M., & Kelly, W. K. (1996). Clinical trials in relapsed prostate cancer: defining the target. *Journal of the National Cancer Institute*, *88*(22), 1623–1634.
- Scher, Howard I, Fizazi, K., Saad, F., Taplin, M.-E., Sternberg, C. N., Miller, K., de Wit, R., Mulders, P., Chi, K. N., Shore, N. D., Armstrong, A. J., Flaig, T. W., Fléchon, A., Mainwaring, P., Fleming, M., Hainsworth, J. D., Hirmand, M., Selby, B., Seely, L., & de Bono, J. S. (2012). Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *The New England Journal of Medicine*, *367*(13), 1187–1197.
- Schiavina, R., Bianchi, L., Mineo Bianchi, F., Borghesi, M., Pultrone, C. V., Dababneh, H., Castellucci, P., Ceci, F., Nanni, C., Gaudio, C., Fiorentino, M., Porreca, A., Chessa, F., Minervini, A., Fanti, S., & Brunocilla, E. (2018). Preoperative Staging With (11)C-Choline PET/CT Is Adequately Accurate in Patients With Very High-Risk Prostate Cancer. *Clinical Genitourinary Cancer*, *16*(4), 305-312.e1.

- Schmitt, B., Bennett, C., Seidenfeld, J., Samson, D., & Wilt, T. (2000). Maximal androgen blockade for advanced prostate cancer. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, CD001526.
- Schoots, I. G., Moore, C. M., & Rouvière, O. (2017). Role of MRI in low-risk prostate cancer: finding the wolf in sheep's clothing or the sheep in wolf's clothing? *Current Opinion in Urology*, 27(3), 238–245.
- Schuessler, W. W., Schulam, P. G., Clayman, R. V., & Kavoussi, L. R. (1997). Laparoscopic radical prostatectomy: initial short-term experience. *Urology*, 50(6), 854–857.
- Schumacher, F. R., Al Olama, A. A., Berndt, S. I., Benlloch, S., Ahmed, M., Saunders, E. J., Dadaev, T., Leongamornlert, D., Anokian, E., Cieza-Borrella, C., Goh, C., Brook, M. N., Sheng, X., Fachal, L., Dennis, J., Tyrer, J., Muir, K., Lophatananon, A., Stevens, V. L., ... Eeles, R. A. (2018). Association analyses of more than 140,000 men identify 63 new prostate cancer susceptibility loci. *Nature Genetics*, 50(7), 928–936.
- Sciarra, A., Fasulo, A., Ciardi, A., Petrangeli, E., Gentilucci, A., Maggi, M., Innocenzi, M., Pierella, F., Gentile, V., Salciccia, S., & Cattarino, S. (2016). A meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials with degarelix versus gonadotropin-releasing hormone agonists for advanced prostate cancer. *Medicine*, 95(27), e3845.
- Seaman, E., Whang, M., Olsson, C. A., Katz, A., Cooner, W. H., & Benson, M. C. (1993). PSA density (PSAD). Role in patient evaluation and management. *The Urologic Clinics of North America*, 20(4), 653–663.
- Seehawer, M., Heinzmann, F., D'Artista, L., Harbig, J., Roux, P.-F., Hoenicke, L., Dang, H., Klotz, S., Robinson, L., Doré, G., Rozenblum, N., Kang, T.-W., Chawla, R., Buch, T., Vucur, M., Roth, M., Zuber, J., Luedde, T., Sipos, B., ... Zender, L. (2018). Necroptosis microenvironment directs lineage commitment in liver cancer. *Nature*, 562(7725), 69–75.
- Serafini, A. N. (1994). Current status of systemic intravenous radiopharmaceuticals for the treatment of painful metastatic bone disease. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 30(5), 1187–1194.
- Shafi, A. A., Yen, A. E., & Weigel, N. L. (2013). Androgen receptors in hormone-dependent and castration-resistant prostate cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 140(3), 223–238.
- Sheets, N. C., Goldin, G. H., Meyer, A.-M., Wu, Y., Chang, Y., Stürmer, T., Holmes, J. A., Reeve, B. B., Godley, P. A., Carpenter, W. R., & Chen, R. C. (2012). Intensity-modulated radiation therapy, proton therapy, or conformal radiation therapy and morbidity and disease control in localized prostate cancer. *JAMA*, 307(15), 1611–1620.

- Shen, G., Deng, H., Hu, S., & Jia, Z. (2014). Comparison of choline-PET/CT, MRI, SPECT, and bone scintigraphy in the diagnosis of bone metastases in patients with prostate cancer: a meta-analysis. *Skeletal Radiology*, *43*(11), 1503–1513.
- Shore, N. D., Chowdhury, S., Villers, A., Klotz, L., Siemens, D. R., Phung, D., van Os, S., Hasabou, N., Wang, F., Bhattacharya, S., & Heidenreich, A. (2016). Efficacy and safety of enzalutamide versus bicalutamide for patients with metastatic prostate cancer (TERRAIN): a randomised, double-blind, phase 2 study. *The Lancet. Oncology*, *17*(2), 153–163.
- Sica, A., Wang, J. M., Colotta, F., Dejana, E., Mantovani, A., Oppenheim, J. J., Larsen, C. G., Zachariae, C. O., & Matsushima, K. (1990). Monocyte chemotactic and activating factor gene expression induced in endothelial cells by IL-1 and tumor necrosis factor. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *144*(8), 3034–3038.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2019). Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *69*(1), 7–34.
- Sinha, R., Park, Y., Graubard, B. I., Leitzmann, M. F., Hollenbeck, A., Schatzkin, A., & Cross, A. J. (2009). Meat and meat-related compounds and risk of prostate cancer in a large prospective cohort study in the United States. *American Journal of Epidemiology*, *170*(9), 1165–1177.
- Smith, J. A. J., Scardino, P. T., Resnick, M. I., Hernandez, A. D., Rose, S. C., & Egger, M. J. (1997). Transrectal ultrasound versus digital rectal examination for the staging of carcinoma of the prostate: results of a prospective, multi-institutional trial. *The Journal of Urology*, *157*(3), 902–906.
- Smith, M., Goode, M., Zietman, A. L., McGovern, F. J., Lee, H., & Finkelstein, J. S. (2004). Bicalutamide monotherapy versus leuprolide monotherapy for prostate cancer: effects on bone mineral density and body composition. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *22*(13), 2546–2553.
- Sonpavde, G., Matveev, V., Burke, J. M., Caton, J. R., Fleming, M. T., Hutson, T. E., Galsky, M. D., Berry, W. R., Karlov, P., Holmlund, J. T., Wood, B. A., Brookes, M., & Leopold, L. (2012). Randomized phase II trial of docetaxel plus prednisone in combination with placebo or AT-101, an oral small molecule Bcl-2 family antagonist, as first-line therapy for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, *23*(7), 1803–1808.
- Stampa, S. (1986). A field trial comparing the efficacy of sulphamonomethoxine, penicillin, and tarantula poison in the treatment of pododermatitis circumspecta of cattle. *Journal of the South African Veterinary Association*, *57*(2), 91–93.
- Stein, M. N., Hussain, M., Stadler, W. M., Liu, G., Tereshchenko, I. V., Goodin, S., Jeyamohan, C., Kaufman, H. L., Mehnert, J., & DiPaola, R. S. (2016). A Phase

II Study of AT-101 to Overcome Bcl-2--Mediated Resistance to Androgen Deprivation Therapy in Patients With Newly Diagnosed Castration-Sensitive Metastatic Prostate Cancer. *Clinical Genitourinary Cancer*, 14(1), 22–27.

Sternberg, C. N., Dumez, H., Van Poppel, H., Skoneczna, I., Sella, A., Daugaard, G., Gil, T., Graham, J., Carpentier, P., Calabro, F., Collette, L., & Lacombe, D. (2009). Docetaxel plus oblimersen sodium (Bcl-2 antisense oligonucleotide): an EORTC multicenter, randomized phase II study in patients with castration-resistant prostate cancer. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 20(7), 1264–1269.

Stone, K. R., Mickey, D. D., Wunderli, H., Mickey, G. H., & Paulson, D. F. (1978). Isolation of a human prostate carcinoma cell line (DU 145). *International Journal of Cancer*, 21(3), 274–281.

Stope, M. B., Peters, S., Großebrummel, H., Zimmermann, U., Walther, R., & Burchardt, M. (2015). Androgen receptor (AR) inhibitor ErbB3-binding protein-1 (Ebp1) is not targeted by the newly identified AR controlling signaling axis heat-shock protein HSP27 and microRNA miR-1 in prostate cancer cells. *World Journal of Urology*, 33(3), 323–327.

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.

Sutcliffe, S. (2010). Sexually transmitted infections and risk of prostate cancer: review of historical and emerging hypotheses. *Future Oncology (London, England)*, 6(8), 1289–1311.

Sweeney, C. J., Chen, Y.-H., Carducci, M., Liu, G., Jarrard, D. F., Eisenberger, M., Wong, Y.-N., Hahn, N., Kohli, M., Cooney, M. M., Dreicer, R., Vogelzang, N. J., Picus, J., Shevrin, D., Hussain, M., Garcia, J. A., & DiPaola, R. S. (2015). Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 373(8), 737–746.

Takayama, K., & Inoue, S. (2013). Transcriptional network of androgen receptor in prostate cancer progression. *International Journal of Urology : Official Journal of the Japanese Urological Association*, 20(8), 756–768.

Tan, D. S. W., Mok, T. S. K., & Rebbeck, T. R. (2016). Cancer Genomics: Diversity and Disparity Across Ethnicity and Geography. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 34(1), 91–101.

Tan, M. H. E., Li, J., Xu, H. E., Melcher, K., & Yong, E. (2015). Androgen receptor: structure, role in prostate cancer and drug discovery. *Acta Pharmacologica Sinica*, 36(1), 3–23.

Tanagho, E. A., Nguyen, H. T., & DiSandro, M. (2020). Embryology of the

Genitourinary System. In J.W. McAninch & T. F. Lue (Eds.), *Smith & Tanagho's General Urology* (19th ed., pp. 17–30). McGraw-Hill.

- Tannock, I. F., de Wit, R., Berry, W. R., Horti, J., Pluzanska, A., Chi, K. N., Oudard, S., Théodore, C., James, N. D., Turesson, I., Rosenthal, M. A., & Eisenberger, M. A. (2004). Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, *351*(15), 1502–1512.
- Taplin, M. E., Bubley, G. J., Ko, Y. J., Small, E. J., Upton, M., Rajeshkumar, B., & Balk, S. P. (1999). Selection for androgen receptor mutations in prostate cancers treated with androgen antagonist. *Cancer Research*, *59*(11), 2511–2515.
- Tateishi, U., Morita, S., Taguri, M., Shizukuishi, K., Minamimoto, R., Kawaguchi, M., Murano, T., Terauchi, T., Inoue, T., & Kim, E. E. (2010). A meta-analysis of (18)F-Fluoride positron emission tomography for assessment of metastatic bone tumor. *Annals of Nuclear Medicine*, *24*(7), 523–531.
- Thangapazham, R. L., Rajeshkumar, N. V., Sharma, A., Warren, J., Singh, A. K., Ives, J. A., Gaddipati, J. P., Maheshwari, R. K., & Jonas, W. B. (2006a). Effect of homeopathic treatment on gene expression in Copenhagen rat tumor tissues. *Integrative Cancer Therapies*, *5*(4), 350–355.
- Thangapazham, R. L., Gaddipati, J. P., Rajeshkumar, N. V., Sharma, A., Singh, A. K., Ives, J. A., Maheshwari, R. K., & Jonas, W. B. (2006b). Homeopathic medicines do not alter growth and gene expression in prostate and breast cancer cells in vitro. *Integrative Cancer Therapies*, *5*(4), 356–361.
- Thompson, I. M., Goodman, P. J., Tangen, C. M., Lucia, M. S., Miller, G. J., Ford, L. G., Lieber, M. M., Cespedes, R. D., Atkins, J. N., Lippman, S. M., Carlin, S. M., Ryan, A., Szczepanek, C. M., Crowley, J. J., & Coltman, C. A. J. (2003). The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *The New England Journal of Medicine*, *349*(3), 215–224.
- Thompson, I. M., Pauer, D. K., Goodman, P. J., Tangen, C. M., Lucia, M. S., Parnes, H. L., Minasian, L. M., Ford, L. G., Lippman, S. M., Crawford, E. D., Crowley, J. J., & Coltman, C. A. J. (2004). Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level < or =4.0 ng per milliliter. *The New England Journal of Medicine*, *350*(22), 2239–2246.
- Thomsen, F. B., Brasso, K., Klotz, L. H., Røder, M. A., Berg, K. D., & Iversen, P. (2014). Active surveillance for clinically localized prostate cancer--a systematic review. *Journal of Surgical Oncology*, *109*(8), 830–835.
- Tilley, W. D., Buchanan, G., Hickey, T. E., & Bentel, J. M. (1996). Mutations in the androgen receptor gene are associated with progression of human prostate cancer to androgen independence. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *2*(2), 277–285.

- Tok, F., & Koçyiğit Kaymakçioğlu, B. (2015). Kanser tedavisinde yeni bir yaklaşım: Poli (ADP-riboz) polimeraz-1 inhibitörleri. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5(1), 41–52.
- Tokur, O., & Aksoy, A. (2017). In vitro sitotoksosite testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(1), 112–118.
- Tomlins, S. A., Day, J. R., Lonigro, R. J., Hovelson, D. H., Siddiqui, J., Kunju, L. P., Dunn, R. L., Meyer, S., Hodge, P., Groskopf, J., Wei, J. T., & Chinnaiyan, A. M. (2016). Urine TMPRSS2:ERG Plus PCA3 for Individualized Prostate Cancer Risk Assessment. *European Urology*, 70(1), 45–53.
- Tomlins, S. A., Rhodes, D. R., Perner, S., Dhanasekaran, S. M., Mehra, R., Sun, X.-W., Varambally, S., Cao, X., Tchinda, J., Kuefer, R., Lee, C., Montie, J. E., Shah, R. B., Pienta, K. J., Rubin, M. A., & Chinnaiyan, A. M. (2005). Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5748), 644–648.
- Valerio, M., Cerantola, Y., Eggener, S. E., Lepor, H., Polascik, T. J., Villers, A., & Emberton, M. (2017). New and Established Technology in Focal Ablation of the Prostate: A Systematic Review. *European Urology*, 71(1), 17–34.
- Van den Bergh, L., Lerut, E., Haustermans, K., Deroose, C. M., Oyen, R., Isebaert, S., Budiharto, T., Ameye, F., Mottaghy, F. M., Bogaerts, K., Van Poppel, H., & Joniau, S. (2015). Final analysis of a prospective trial on functional imaging for nodal staging in patients with prostate cancer at high risk for lymph node involvement. *Urologic Oncology*, 33(3), 109.e23-31.
- Van Neste, L., Hendriks, R. J., Dijkstra, S., Trooskens, G., Cornel, E. B., Jannink, S. A., de Jong, H., Hessels, D., Smit, F. P., Melchers, W. J. G., Leyten, G. H. J. M., de Reijke, T. M., Vergunst, H., Kil, P., Knipscheer, B. C., Hulsbergen-van de Kaa, C. A., Mulders, P. F. A., van Oort, I. M., Van Criekinge, W., & Schalken, J. A. (2016). Detection of High-grade Prostate Cancer Using a Urinary Molecular Biomarker-Based Risk Score. *European Urology*, 70(5), 740–748.
- Varfolomeev, E. E., Schuchmann, M., Luria, V., Chiannikulchai, N., Beckmann, J. S., Mett, I. L., Rebrikov, D., Brodianski, V. M., Kemper, O. C., Kollet, O., Lapidot, T., Soffer, D., Sobe, T., Avraham, K. B., Goncharov, T., Holtmann, H., Lonai, P., & Wallach, D. (1998). Targeted disruption of the mouse Caspase 8 gene ablates cell death induction by the TNF receptors, Fas/Apo1, and DR3 and is lethal prenatally. *Immunity*, 9(2), 267–276.
- Verhagen, P. C. M. S., Wildhagen, M. F., Verkerk, A. M., Vjaters, E., Pagi, H., Kukk, L., Bratus, D., Fiala, R., Bangma, C. H., Schröder, F. H., & Mickisch, G. H. J. (2014). Intermittent versus continuous cyproterone acetate in bone metastatic prostate cancer: results of a randomized trial. *World Journal of Urology*, 32(5), 1287–1294.

- Vickers, A. J., Savage, C., O'Brien, M. F., & Lilja, H. (2009). Systematic review of pretreatment prostate-specific antigen velocity and doubling time as predictors for prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 27(3), 398–403.
- Vickers, A. J., Ulmert, D., Sjöberg, D. D., Bennette, C. J., Björk, T., Gerdtsson, A., Manjer, J., Nilsson, P. M., Dahlin, A., Bjartell, A., Scardino, P. T., & Lilja, H. (2013). Strategy for detection of prostate cancer based on relation between prostate specific antigen at age 40-55 and long term risk of metastasis: case-control study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 346, f2023.
- Vidal, A. C., Howard, L. E., Moreira, D. M., Castro-Santamaria, R., Andriole, G. L. J., & Freedland, S. J. (2014). Obesity increases the risk for high-grade prostate cancer: results from the REDUCE study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 23(12), 2936–2942.
- Voll, E. A., Ogden, I. M., Pavese, J. M., Huang, X., Xu, L., Jovanovic, B. D., & Bergan, R. C. (2014). Heat shock protein 27 regulates human prostate cancer cell motility and metastatic progression. *Oncotarget*, 5(9), 2648–2663.
- von Eyben, F. E., & Kairemo, K. (2014). Meta-analysis of (11)C-choline and (18)F-choline PET/CT for management of patients with prostate cancer. *Nuclear Medicine Communications*, 35(3), 221–230.
- von Knobloch, R., Weber, J., Varga, Z., Feiber, H., Heidenreich, A., & Hofmann, R. (2002). Bilateral fine-needle administered local anaesthetic nerve block for pain control during TRUS-guided multi-core prostate biopsy: a prospective randomised trial. *European Urology*, 41(5), 508–514; discussion 514.
- Walsh, P. C. (1975). Physiologic basis for hormonal therapy in carcinoma of the prostate. *The Urologic Clinics of North America*, 2(1), 125–140.
- Walsh, P. C., & Donker, P. J. (1982). Impotence following radical prostatectomy: insight into etiology and prevention. *The Journal of Urology*, 128(3), 492–497.
- Walz, J., Graefen, M., Chun, F. K.-H., Erbersdobler, A., Haese, A., Steuber, T., Schlomm, T., Huland, H., & Karakiewicz, P. I. (2006). High incidence of prostate cancer detected by saturation biopsy after previous negative biopsy series. *European Urology*, 50(3), 498–505.
- Wang, L., Mullerad, M., Chen, H.-N., Eberhardt, S. C., Kattan, M. W., Scardino, P. T., & Hricak, H. (2004). Prostate cancer: incremental value of endorectal MR imaging findings for prediction of extracapsular extension. *Radiology*, 232(1), 133–139.
- Watts, E. L., Appleby, P. N., Perez-Cornago, A., Bueno-de-Mesquita, H. B., Chan, J. M., Chen, C., Cohn, B. A., Cook, M. B., Flicker, L., Freedman, N. D., Giles, G.



- G., Giovannucci, E., Gislefoss, R. E., Hankey, G. J., Kaaks, R., Knekt, P., Kolonel, L. N., Kubo, T., Le Marchand, L., ... Travis, R. C. (2018). Low Free Testosterone and Prostate Cancer Risk: A Collaborative Analysis of 20 Prospective Studies. *European Urology*, 74(5), 585–594.
- Weinreb, J. C., Barentsz, J. O., Choyke, P. L., Cornud, F., Haider, M. A., Macura, K. J., Margolis, D., Schnall, M. D., Shtern, F., Tempany, C. M., Thoeny, H. C., & Verma, S. (2016). PI-RADS Prostate Imaging - Reporting and Data System: 2015, Version 2. *European Urology*, 69(1), 16–40.
- Wilt, T. J., Jones, K. M., Barry, M. J., Andriole, G. L., Culkin, D., Wheeler, T., Aronson, W. J., & Brawer, M. K. (2017). Follow-up of Prostatectomy versus Observation for Early Prostate Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 377(2), 132–142.
- Xiang, J., Yan, H., Li, J., Wang, X., Chen, H., & Zheng, X. (2019). Transperineal versus transrectal prostate biopsy in the diagnosis of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology*, 17(1), 31.
- Yamamoto, Y., Lin, P. J. C., Beraldi, E., Zhang, F., Kawai, Y., Leong, J., Katsumi, H., Fazli, L., Fraser, R., Cullis, P. R., & Gleave, M. (2015). siRNA Lipid Nanoparticle Potently Silences Clusterin and Delays Progression When Combined with Androgen Receptor Cotargeting in Enzalutamide-Resistant Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 21(21), 4845–4855.
- Yeh, S., Kang, H. Y., Miyamoto, H., Nishimura, K., Chang, H. C., Ting, H. J., Rahman, M., Lin, H. K., Fujimoto, N., Hu, Y. C., Mizokami, A., Huang, K. E., & Chang, C. (1999). Differential induction of androgen receptor transactivation by different androgen receptor coactivators in human prostate cancer DU145 cells. *Endocrine*, 11(2), 195–202.
- Yousef, G. M., & Diamandis, E. P. (2001). The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocrine Reviews*, 22(2), 184–204.
- Yücel, A. H. (2003). Erkek Genital Sistemi. In F. G. Gökmen (Ed.), *Sistematik Anatomi* (pp. 547–564). İzmir Güven Kitabevi.
- YuPeng, L., YuXue, Z., PengFei, L., Cheng, C., YaShuang, Z., DaPeng, L., & Chen, D. (2015). Cholesterol Levels in Blood and the Risk of Prostate Cancer: A Meta-analysis of 14 Prospective Studies. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 24(7), 1086–1093.
- Zhao, J., Stockwell, T., Roemer, A., & Chikritzhs, T. (2016). Is alcohol consumption a risk factor for prostate cancer? A systematic review and meta-analysis. *BMC*

*Cancer*, 16(1), 845.

Zhou, C. K., Levine, P. H., Cleary, S. D., Hoffman, H. J., Graubard, B. I., & Cook, M. B. (2016). Male Pattern Baldness in Relation to Prostate Cancer-Specific Mortality: A Prospective Analysis in the NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *American Journal of Epidemiology*, 183(3), 210–217.

Zhu, G.-D., Gong, J., Gandhi, V. B., Liu, X., Shi, Y., Johnson, E. F., Donawho, C. K., Ellis, P. A., Bouska, J. J., Osterling, D. J., Olson, A. M., Park, C., Luo, Y., Shoemaker, A., Giranda, V. L., & Penning, T. D. (2012). Discovery and SAR of orally efficacious tetrahydropyridopyridazinone PARP inhibitors for the treatment of cancer. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(15), 4635–4645.

Zigeuner, R., Schips, L., Lipsky, K., Auprich, M., Salfellner, M., Rehak, P., Pummer, K., & Hubner, G. (2003). Detection of prostate cancer by TURP or open surgery in patients with previously negative transrectal prostate biopsies. *Urology*, 62(5), 883–887.