



**PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA mTOR,
TELOMERAZ VE D VİTAMİNİ SEVİYELERİNİN
BELİRLENMESİ**

Bayram ALKAN

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Esra LALOĞLU

Doktora Tezi-2023



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**PROSTAT KANSERLİ HASTALARDA mTOR,
TELOMERAZ VE D VİTAMİNİ SEVİYELERİNİN
BELİRLENMESİ**

Bayram ALKAN

**Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Esra LALOĞLU**

**ERZURUM
2023**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	II
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Prostat Kanseri.....	4
2.2. Telomeraz	6
2.2.1. Telomerler ve Genetik Değişiklikler	6
2.2.2. Kısa Telomerlerden Kaynaklanan Genomik Değişiklikler.....	7
2.2.3. Prostat Kanseriinde Telomer ve Telomeraz Aktivasyonu	8
2.2.4. Prostat Kanseri Yönetiminde Telomer ve Telomeraz Üzerine Odaklanan Potansiyel Uygulamalar-Tedaviler	11
2.2. D Vitamini	13
2.2.1. Vitamin D Metabolizması.....	13
2.2.2. Vitamin D'nin Antikanserojenik Etkileri	14
2.2.3. Vitamin D ve Prostat Kanseri İlişkisi	15
2.3. MTOR.....	16
2.3.1. mTOR Sinyal Yolağı ve Mekanizması	16
2.3.2. mTOR İnhibitörleri	17
2.3.3. mTOR ve Prostat Kanseri İlişkisi	19

3. MATERYAL VE METOT.....	22
3.1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi	22
3.2. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması	22
3.3. Biyokimyasal Analizler	23
3.3.1. ELISA	23
3.3.2. Biyokimyasal Ölçümler	27
3.4. İstatistiksel Analizler	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR	44
EKLER	60
EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	60
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	61

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmaya değerli bilgi ve katkıları ile rehberlik eden, tezimin her aşamasında desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Esra LALOĞLU'na içten saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bana akademinin ve bilimin felsefesini öğreten ve engin tecrübelerinden yararlandığım Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışması için gereken numunelerin toplanmasında büyük emeği olan ve akademik açıdan engin bilgilerinden faydalandığım hocam Sayın Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN'e,

Çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen Tıbbi Biyokimya Bölümü akademik kadrosu ve araştırma görevlilerine,

Bu çalışmayı TDK-2022-10285 proje numarasıyla destekleyen Atatürk Üniversitesi BAP birimine teşekkürlerimi sunarım.

Ve bilhassa, doktora sürecine adım attığım ilk günden beri destekleri ve emekleri sayesinde tez çalışmamı yürütmemde bana emek veren değerli meslektaşım, Arş. Gör. Halil İbrahim ÖZKAN'a şükran ve minnetimi,

Son olarak hayatım boyunca beni destekleyen anneme ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bayram ALKAN

ÖZET

Prostat Kanserli Hastalarda mTOR, Telomeraz ve D Vitamini Seviyelerinin Belirlenmesi

Amaç: Bu çalışmanın amacı, prostat kanserli hastalarda mTOR, telomeraz ve D vitamini seviyelerinin belirlenmesi ve hastalık evresi ile ilişkisinin araştırılmasıdır

Materyal ve Metot: Bu çalışma prostat kanseri tanısı almış ve herhangi bir tedavi başlanmamış 50 hasta ve 50 sağlıklı kontrol grubu ile yapıldı. Serum mTOR, Telomeraz ve D vitamini düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü.

Bulgular: Çalışmamızda hastaların m-TOR ve telomeraz düzeylerinin sağlıklı gruba kıyasla yüksek olduğu, D vitamini düzeyinin ise düşük olduğu olduğu belirlenmiştir. Hastalığın evresi yükseldikçe serum mTOR, Telomeraz ve PSA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilirken, D vitamini düzeyinde ise anlamlı derecede azalma belirlenmiştir. PSA düzeyleri ile mTOR ve Telomeraz düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon; D vitamini düzeyleri ile arasında ise negatif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon tespit edilmiştir.

Sonuç: Sonuçlar serum mTOR, telomeraz ve D vitamini seviyelerinin prostat kanserli hastalarda evrelendirmede bir belirteç olabileceğini öneriyordu. Prostat kanserli hastalarda bu belirteçlerin önemini aydınlatmada yapılacak ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: D vitamini, mTOR, prostat kanseri, telomeraz.

ABSTRACT

Determination of mTOR, Telomerase, and Vitamin D Levels in Prostate Cancer Patients

Aim: The purpose of this study is to determine the levels of mTOR, telomerase, and vitamin D in patients with prostate cancer, and to investigate their relationship with the disease stage.

Material and method:

This study was conducted with a cohort of 50 patients diagnosed with prostate cancer who had not undergone any treatment, along with a control group consisting of 50 healthy individuals. Serum levels of mTOR, telomerase, and vitamin D were measured using the ELISA method.

Results: In our study, it has been determined that the levels of mTOR and telomerase in patients are higher compared to the healthy group, while the level of vitamin D is lower. As the disease stage advances, a statistically significant increase in serum levels of mTOR, telomerase, and PSA has been observed, accompanied by a significant decrease in vitamin D levels. A positive and strong correlation has been identified between PSA levels and mTOR as well as telomerase levels, whereas a negative and strong correlation has been established between vitamin D levels and PSA.

Conclusion: The results suggested that serum levels of mTOR, telomerase, and vitamin D could potentially serve as biomarkers for staging in prostate cancer. Detailed studies are required to further elucidate the significance of these markers in illuminating their importance in individuals with prostate cancer.

Key Words: mTOR, Prostate Cancer, Vitamin D, Telomerase.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AR	: Androjen reseptörü
BFB	: Birleşme-kırılma-köprü
BT	: Bilgisayarlı tomografi
DDR	: DNA hasar yanıtı
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü
MAPK:	: Mitojene aktive olan protein kinaz
mpMRG:	: Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme
MR	: Manyetik rezonans
MR	: Manyetik rezonans görüntüleme
mTOR:	: Mammalian Target of Rapamycin
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PI3K	: Fosfatidilinositol 3-kinaz
PKC	: Protein kinaz C ailesi
PRM	: Parmakla rektal muayene
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
RTK	: Reseptör tirozin kinaz
TERF	: Telomerik tekrar bağlayıcı faktör
TNM	: Lenf Nodu, Metastaz
TRUS	: Transrektal ultrasonografi
TRUSG:	: Transrektal ultrasonografi
UVB	: Güneşin ultraviyole
VDR	: Vitamin D reseptörü
VEGF	: Damar endoteli büyüme faktörü
VEGFR:	: Damar endoteli büyüme faktörü Reseptörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. D vitamini sentezi ve metabolizması.....	14
Şekil 2.2. PI3K/AKT/mTOR sinyal iletimi.	17
Şekil 3.1. Telomeraz standart kalibrasyon eğrisi.....	25
Şekil 3.2. mTor standart kalibrasyon eğrisi.....	27
Şekil 4.1. Prostat kanserli hastalar ile kontrol grubu mTOR düzeyleri.....	29
Şekil 4.2. Prostat kanserli hastalar ile kontrol grubu Telomeraz düzeyleri.....	30
Şekil 4.3. Prostat kanserli hastalar ile kontrol grubu D vitamini düzeyleri.....	31
Şekil 4.4. Serum mTOR ve Telomeraz düzeylerine ait ROC eğrisi.....	34
Şekil 4.5. Serum D vitamini düzeylerine ait ROC eğrisi.....	35

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Prostat Kanseri D’Amico Risk Sınıflaması	5
Tablo 2.2. Telomerazın kanserle ilişkili aktivasyonu	10
Tablo 2.3. Prostat kanseri yönetiminde telomer ve telomeraz üzerine odaklanan potansiyel uygulamalar.	11
Tablo 2.4. Telomeraz veya telomerlere yönelik tedaviler.....	12
Tablo 2.5. D vitamini kaynakları	13
Tablo 2.6. Prostat kanserinde PI3K-AKT-mTOR yolak genlerinde yaygın genetik değişikliklerin sıklığı.....	20
Tablo 4.1. Hastalığın evrelerine göre serum mTOR, Telomeraz, D vitamini ve PSA düzeyleri.....	32
Tablo 4.2. Hastalığın Gleason grade derecesine göre serum mTOR, Telomeraz, D vitamini ve PSA düzeyleri	33

1. GİRİŞ

Prostat kanseri, günümüzde görülme sıklığı sürekli artan bir kanser türüdür. Erkeklerde en sık teşhis edilen ikinci kanserdir ve kanser vakalarının yaklaşık %15'ini oluşturur (Ferlay. Ve ark., 2015). Prostat kanseri teşhisi için ortalama yaş 67'dir. Diğer kanser türlerine kıyasla prostat kanseri daha yavaş büyüyen bir kanserdir. Prostat kanserinin klonal yayılımının 1 cm³ boyutuna ulaşmasının yaklaşık olarak 40 yıl sürdüğü ileri sürülmüştür (Thompson ve ark., 1992). Prostat kanserinin tanısında kullanılan yöntemler arasında transrektal ultrasonografi (TRUS) sırasında yapılan biyopsi, parmakla yapılan rektal muayene (PRM), prostat spesifik antijen (PSA) testi ve manyetik rezonans görüntüleme yöntemi (mpMRG) bulunmaktadır. Transrektal ultrasonografi (TRUS) sırasında yapılan biyopsi, prostat kanser tanısını doğrulamak için kullanılan invaziv bir işlemdir. Parmakla rektal muayene (PRM), bir doktorun eliyle rektumdan prostatın manuel olarak muayene edilmesidir. Prostat spesifik antijen (PSA) testi, kanda ölçülen bir testtir. Multiparametrik manyetik rezonans görüntüleme (mpMRG), prostatın ayrıntılı bir görüntüsünü sağlamak için manyetik rezonans görüntüleme tekniğinin özel bir türüdür (Yencilek ve ark., 2018). Bu tanı yöntemleri, prostat kanserinin erken teşhis edilmesine ve uygun tedavinin planlanmasına yardımcı olur. Erken evrede teşhis edildiğinde, prostat kanseri tedavi edilebilir ve tam bir kür sağlanabilir. Bu nedenle erken teşhis büyük önem taşır.

Besinler aracılığıyla vücuda alınan D vitamini, yağda çözünen vitaminler grubunda yer almaktadır ve aynı zamanda güneşten gelen ultraviyole B (UVB, 290-320 nm) ışınlarının etkisiyle cilt tarafından sentezlenen seko-steroidal yapılı bir prohormondur. Vitamin D metabolizması karaciğer ve böbrekte gerçekleşir ve biyolojik açıdan aktif formu olarak bilinen kalsitriole dönüşür. Bu aktif form, vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanarak çeşitli fizyolojik fonksiyonlarını gerçekleştirir (Bouillon

ve ark., 2008; Zhang ve Naughton, 2010). Vitamin D' nin esas fonksiyonu, kemik metabolizması için gerekli olan kalsiyum ve fosfat seviyelerini düzenlemektir. Ancak, son birkaç yıldır yapılan detaylı araştırmalar, güneş ışığına olan düşük maruziyet ve D vitamini eksikliğinin kanser başta olmak üzere birçok kemik hastalığı riskiyle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Feldman ve ark., 2014; Bikle, 2016; Wang ve ark., 2017).

Telomer biyolojisindeki bozukluklar prostat kanseri oluşumunun erken evrelerinde yer alır ve tümörün ilerlemesi boyunca da devam eder. Prostat kanser hücrelerinin yapısında ve yüksek dereceli olan prostat intraepitelyal neoplazide görülen telomer kısalması önemlidir. Telomerase aktivitesinin ve telomer boyunun değerlendirilmesi prostat kanserinin teşhis ve prognozunda faydalı olabilir. Normal stromal hücrelerde görülen telomer boyunun kısalması prostat kanseri ile ilişkili bulunurken, prostat kanseri hücrelerinde görülen farklı telomer boyları ve kanserle ilişkili olan stromal hücrelerde telomer boyunun kısalması mortaliteyle ilişkilendirilmiştir (Graham ve Meeker, 2017).

PI3K/AKT ve mTOR, sinyal iletiminde önemli roller oynayan proteinlerdir ve reseptör tirozin kinazlar (RTK'lar) ile yakından ilişkilidirler. RTK'lar, hücre yüzeyinde bulunan proteinlerdir ve hücre büyümesi, bölünme, hayatta kalma ve farklılaşma gibi birçok biyolojik süreci düzenlerler (Küçüköner ve Işıkdogan., 2013). Kanser hücreleri, çeşitli RTK'ları aşırı miktarda üretebilir ve bu RTK'lar aracılığıyla büyüme faktörlerine aşırı duyarlı hale gelebilir. Kanser hücreleri tarafından, damar endotel büyüme faktörünün (VEGF) reseptörü (VEGFR), trombosit kaynaklı büyüme faktörüne ait (PDGF) reseptör-a, epidermal büyüme faktörü (EGFR) ve c-Met gibi RTK'lar sentezlenebilir (Wong ve ark., 2010; Vivanco ve Sawyers, 2002; Jiang ve Liu, 2009). Bu nedenle, bu sinyal yolağında hedefleme yapılması, kanser tedavisinde önemli bir araçtır.

Bu çalışmada günümüzde görülme sıklığı artan prostat kanserli hastalarda mTOR, telomeraz ve D vitamini seviyelerinin belirlenerek, hastalıkla ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır. Yapılan birçok çalışma bu üç değişkeni tek ya da farklı bileşenlerle değerlendirmiştir. Çalışmadan elde edilecek sonucun prostat kanserinde yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostat Kanseri

Prostat kanseri, dünya genelinde erkeklerde akciğer kanserinden sonra ikinci en sık görülen kanser türüdür. Erkeklerdeki tüm kanser ölümlerinin %3.8'ini oluşturmaktadır. 2018 yılında 1.276.106 yeni vaka tespit edilmiş ve bunların 358.989'u ölümle sonuçlanmıştır (Bray ve ark., 2018; Ferlay ve ark., 2019). Dünya genelinde prostat kanseri insidansı ve mortalitesi artan yaşla ilişkilendirilmiştir. 50 yaşın altındaki her 350 erkekten sadece 1'i prostat kanseri teşhisi alırken (Perdanave ark., 2016), 50 ila 59 yaş arasında bu oran 52 erkekten birine kadar yükselmektedir. 65 yaşın üstündeki erkeklerde ise insidans oranı neredeyse %60'dır (National Cancer Institute, Bethesda, 2016). Ayrıca sosyal, çevresel ve genetik faktörlerdeki farklılıklar prostat kanserinde insidans oranlarını etkilemektedir (Panigrahi ve ark., 2019). 2040 yılına kadar tahmini olarak 2.293.818 yeni vaka beklenmektedir (Ferlay, 2019). Türkiye'de de prostat kanseri %13 görülme sıklığı ile erkekler arasında görülen en sık ikinci kanser türüdür ve 2018 yılında 3568 prostat kanseri ölümle sonuçlanmıştır (TÜİK, 2018).

Prostat kanseri evrelemesinde 2009 TNM (Tümör, Lenf Nodu, Metastaz) sınıflaması kullanılmaktadır. Bu sınıflama, hastalığın ilerlemesini belirlemek için farklı parametreleri kullanmaktadır. Klinik evrelemede, PSA (Prostat Spesifik Antijen) seviyeleri, parmakla rektal muayene sonuçları, prostat biyopsi bulguları ve görüntüleme yöntemleri değerlendirilir. TNM evreleme sistemi, T harfiyle kanserin prostat içindeki durumunu ifade eder ve PSA, parmakla rektal muayene, transrektal ultrasonografi (TRUSG) ve multiparametrik manyetik rezonans gibi görüntüleme (MR) yöntemleriyle belirlenir. N harfi, lenf nodu tutulumunu ifade eder ve bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MR) gibi görüntüleme yöntemleriyle değerlendirilir. M harfi ise uzak metastazları gösterir ve torakoabdominal BT ve kemik sintigrafisi gibi yöntemlerle

değerlendirilir. Prostat kanserinde evreleme yapılırken hangi yöntemlere ihtiyaç duyulacağı risk değerlendirilmesine göre yapılmaktadır. En sık kullanılan risk sınıflaması D’Amico’dur (Tablo 2.1). Doğru evreleme ile en uygun tedavi seçeneğine ulaşılır (Prostat Kanseri Klinik Protokolü, 2017).

Tablo 2.1. Prostat Kanseri D’Amico Risk Sınıflaması

	Düşük risk	Orta risk	Yüksek risk	
Tanım	PSA<10 ng /ml ve Gleason skoru* <7 ve cT1-2a	PSA10-20 ng /ml veya Gleason skoru 7 veya cT2b	PSA>20 ng/ml veya Gleason skoru >7 ve cT2c	Tüm PSA düzeyleri Tüm Gleason skorları cT3-4 veya cN+
		Lokalize		Lokal-İleri

* Tümörün agresifliğinin öngörülmesini sağlayan, skor aralığı 2 ila 10 arasında değişen histopatolojik bir derecelendirme sistemidir.

Günümüzde diğer kanser türlerinde olduğu gibi prostat kanserinin tıbbi teşhis ve tedavi yöntemlerinde de gelişmeler sağlanmasına rağmen prevalansı hala artmaktadır (Farris ve ark., 2017). Prostat kanseri genellikle erken belirtiler göstermeyip asemptomatik seyreden ve yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Çoğu insan, genellikle prostat kanserinin ileri evrelerinde ortaya çıkan belirtilerle birlikte sağlık kuruluşuna başvurmaktadır (Demirbaş ve Onmaz, 2021). Prostat kanseri, tiroid kanserinden sonra beş yıllık sağkalım oranı en yüksek olan kanser türü olsa da (Demirbaş ve Onmaz, 2021), ileri evrelerde teşhis konan hastalar için tedavi şansı azalmaktadır (Enemugwem ve ark., 2019; Khani Jeihooni ve ark., 2021). Bu nedenle, uygun kanser taramalarının uygulanması ve mevcut kanser hastalarının erken teşhis edilmesi, mortaliteyi azaltmak ve sağkalım oranını artırmak için önemlidir. Prostat kanseri taramalarıyla prostat kanserinin erken evrelerde tespit edilebildiği bildirilmiştir (Musalli ve ark., 2021).

2.2. Telomeraz

2.2.1. Telomerler ve Genetik Değişiklikler

İnsan telomerleri, yüksek oranda korunmuş olup, deoksiguanozin monofosfat nükleotidinden zengindir (G-zengin). Ardışık olarak tekrarlayan altı nükleotit dizisinden (TTAGGG) oluşur (Blackburn ve Challoner, 1984; Moyzis vd, 1988) ve yaklaşık olarak 5-15 kb uzunluğundadır (Samassekou ve ark., 2010). Altı proteinden oluşan bir kompleks, telomerik DNA tekrarlamalarıyla ilişkilendirilir. Bu proteinler, telomerik tekrar bağlayıcı faktör 1 ve 2 (TERF1 ve TERF2, aynı zamanda TRF1 ve TRF2 olarak da bilinir), TRF2 ile etkileşen protein 1 (TERF2IP, aynı zamanda RAP1 olarak da bilinir), TRF1 ile etkileşen nükleer faktör 2 (TINF2, aynı zamanda TIN2 olarak da bilinir), telomerleri koruma proteini 1 (POT1) ve tripeptidil-peptidaz 1 (TPP1) olarak adlandırılır (Jones ve ark., 2016; de Lange, 2005; Houghtaling ve ark., 2004; Liu ve ark., 2004; Ye ve ark., 2004).

Kromozom uçları, ekzonükleolitik bozunmanın potansiyel substratları olabilir ve aynı zamanda DNA hasar yanıtı (DDR) yolağı tarafından DNA çift sarmal kopması olarak tanınabilir. Yeterli uzunluktaki telomerler, ekzonükleaz aktivitesine karşı koruma sağlar ve DDR tanınmasını engeller (Griffith ve ark., 1999). Bunun yanı sıra, telomerler özelleşmiş T-halka yapıları oluşturarak potansiyel olarak zararlı DNA tamir mekanizmalarını inhibe eden shelterin proteinleri için bir iskele görevi görürler (Jones ve ark., 2016).

Telomerler, hücrelerde sınırlı üreme kapasitesini sağlayan ve güçlü bir kanser önleyici mekanizma olarak hizmet eden hücresel proliferasyon engelleridir (Hayflick, 1965; Hayflick ve Moorhead, 1961). DNA replikasyonu sırasında, lineer şablonların lagging DNA zincirinde sentez eksik kalır (son replikasyon sorunu) (Watson, 1972), bu da her hücre bölünmesinde yaklaşık olarak 50 terminal nükleotidin kaybedilmesine neden

olur (Levy ve ark., 1992). Sınırlı sayıda hücre bölünmesi için, telomerler bilgi taşıyan DNA dizilerinin kaybına karşı tampon görevi görür. Ancak telomerler önemli ölçüde kısalduğunda, DDR (DNA hasar yanıtı) yolları bir veya daha fazla telomerde aktive olur ve hücre döngüsünün ilerlemesi tümör baskılayıcı p53 yolağı aracılığıyla durdurulur (Fumagalli ve ark., 2012; von Zglinicki ve ark., 2005; Zou ve ark., 2004).

Hücre döngüsü arrestosu bu duruma "replikatif senezens" adı verilir ve hücre tipine bağlı olarak yaklaşık 50 hücre bölünmesinden sonra gerçekleşir (Hayflick sınırı). p53 yolu üzerinden hücre döngüsünün engellenememesi ciddi genomik sonuçlara yol açabilir. Bu sonuçlar end-to-end kromozomal füzyonlar, anafaz köprüleri, nonrekiprokal translokasyonlar ve anöploidinin ortaya çıkması şeklinde kendini gösterir (Graham ve Meeker, 2017). Tüm bu süreçler tümör baskılayıcı genlerin stokastik inaktivasyonu ve onkogenlerin aktive edilmesi yoluyla hücresel dönüşümü teşvik eder (Blasco ve ark., 1997; Chin ve ark., 1999; Hackett ve ark., 2001).

2.2.2. Kısa Telomerlerden Kaynaklanan Genomik Değişiklikler

Telomer kısalması, prostat kanseri oluşumunda en erken moleküler genomik olaylardan biridir ve genomik istikrarsızlığa yol açabilir. Genomik translokasyon olayları prostat kanserinde yaygındır ve kanser oluşumu sırasında kademeli olarak biriktiği düşünülmektedir. Bununla birlikte, kromotripsis adı verilen bir durum ortaya çıkabilir, bu durumda bir veya birkaç paramparça olmuş kromozom DNA tamir mekanizmalarıyla rastgele dizilerek yeniden bir araya getirilir ve birden fazla translokasyon olayı gerçekleşir (Malhotra ve ark., 2013; Zack ve ark., 2013).

Kromotripsis sonucu oluşan genomdaki mutasyonlar, füzyon genlerinin oluşumu, tümör baskılayıcıların inaktivasyonu ve onkogenlerin amplifikasyonu yoluyla tümör başlangıcı veya ilerlemesinde rol oynayabilir. Yapay olarak kısaltılmış telomerlere sahip hücre kültürü deneyleri, kritik derecede kısa telomerlerin kromotripsisi

tetikleyebileceğini göstermiştir (Maciejowski ve ark., 2015). Yaklaşık olarak prostat kanserlerinin %30-45'i, kromotripsis tarafından belirtilen translokasyon olaylarına benzeyen DNA yeniden düzenlemeleri gösterir (Kovtun ve ark., 2015).

Telomer kısalmasının erken aşamalarda genomik istikrarsızlığa katkısı, özellikle prostat kanseri öncü lezyonlarda gözlenen telomer füzyonları şeklinde belirgindir. Bu füzyonlar, disfonksiyonel kısa telomerlerin kromozom uçlarının birleşmesiyle ortaya çıkar (Tu ve ark., 2016). Bu tür telomer füzyonları, kromozomlardaki birleşme-kırılma-köprü (BFB) döngüsünü tetikleyebilir. Bu döngüde, birleşik kromozomlar hücre bölünmesi sırasında yanlış ayrışır ve kırılma ve birleşme süreci hatalı bir şekilde devam eder (McClintock, 1941). BFB döngüleri, özellikle duplikasyonlar, delesyonlar ve nonresiprokal translokasyonlar olmak üzere önemli kromozomal düzenlemelere yol açar. Bu yeniden düzenlemeler, radikal prostatektomi örneklerinden elde edilen prostat kanseri öncü lezyonlarının üzerinde gözlenir (Feijoo ve ark., 2014).

Prostat kanseri hücre hatları üzerinde yapılan araştırmalar, telomeraz aktivasyonuna rağmen (telomer uzunluğunu koruyabilen bir enzim) kısa telomerlerin BFB döngüleri aracılığıyla prostat kanserine özgü karmaşık kromozomal yeniden düzenlemeleri tetikleyebileceğini göstermiştir (Vukovic ve ark., 2007).

2.2.3. Prostat Kanserinde Telomer ve Telomeraz Aktivasyonu

Çoğu kanser hücresi, sınırsız replikatif kapasiteyi desteklemek ve genomik istikrarsızlığı önlemek için enzim telomerazı aktive eder. İnsan kanserlerinde, telomeraz aktivitesinin hız sınırlayıcı belirleyenin, katalitik protein alt birimi TERT'in ifadesi olduğuna inanılmaktadır. Telomeraz-pozitif kültürlü insan hücreleri, her bir hücrede yaklaşık olarak 1.150 TERC molekülü ve 500 TERT molekülü içerir (Xi ve Cech, 2014). Bununla birlikte, işlevsel olarak bir araya gelmiş telomeraz komplekslerinin sayısı hücre başına 20 ila 240 arasında değişmekte, bu da telomeraz bileşenlerinin birikmiş fazlasını

göstermektedir (Xi ve Cech, 2014; Cohen ve ark., 2007). TERT'in transkripsiyonu sıkı bir şekilde düzenlenir ve deneysel kanıtlar, telomeraz aktivitesinin doğrudan TERT ifadesiyle uyumlu olduğunu göstermektedir (Kilian ve ark., 1997; Nakamura ve ark., 1997). Ayrıca, somatik hücrelerde, TERT'in zorla ifade edilmesi telomeraz aktivitesini yeniden aktive etmek için yeterlidir (Bodnar ve ark., 1998; Counter ve ark., 1998; Vaziri ve Benchimol, 1998).

Androjen reseptörü (AR), prostatın gelişimi ve işlevi gibi erkek fenotipinde rol oynayan genlerin ifadesini uyarmak için gereklidir (Nieto ve ark., 2014). Sıçanların prostatında telomeraz aktivitesinin ilk in vivo çalışması, normal prostat bezlerinin telomeraz aktivitesinin olmadığını, ancak androjen yoksunluğu sonrası involüte olmuş prostat bezlerinin belirlenebilir düzeylerde telomeraz aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir (Meeker ve ark., 1996) Kastrasyon yoluyla androjenin yeniden uygulanması, kastrasyon öncesi prostatın yeniden büyümesini ve telomerazın tespit edilmediği prekastrasyon prostatının fenotip oluşumunu uyarmıştır, bu da androjenin telomeraz aktivitesini negatif olarak düzenlediğini göstermektedir (Nieto ve ark., 2014). Benzer gözlemler daha sonra rhesus maymunlarında da yapılmıştır (Ravindranath ve ark., 2001).

Normal insan prostat epitel hücrelerinde, AR TERT promotorüne bağlanır ve tümör baskılayıcı p53 ile işbirliği yaparak TERT ifadesini doğrudan bastırır (Moehren ve ark., 2008). Buna karşılık, androjen, prostat kanseri hücre hattı LNCaP'de TERT ifadesini aktive eder. LNCaP, AR geninde tekrarlayan olarak gözlenen bir nokta mutasyonuna sahiptir (Moehren ve ark., 2008; Guo ve ark., 2003) Prostat kanseri hatları metanseleninik asit ile tedavi edildiğinde, AR protein seviyelerinin (Cho ve ark., 2004) ve AR-yabani tip (LAPC-4) ve AR-mutasyona uğramış (CWR22Rv1, LNCaP ve LNCaP alt hatları) hücre hatlarında TERT ifadesinin (Liu ve ark., 2010) azaldığı, ancak AR-negatif (DU-145) hücre hattında azalmadığı görülmüştür. AR-pozitif hücre hatlarında azalmış TERT

ifadesi, TERT promotorunda azalmış AR bağlanmasının bir sonucu olarak bildirilmiştir (Liu ve ark., 2010).

Kanser hücreleri, TERT ifadesini artırarak telomeraz aktivitesini birkaç şekilde aktive edebilir. İki iyi belgelenmiş mekanizma, TERT promotorunun hipermetilasyonu (birçok kanser hücre hattında bildirilmiştir) (Renaud ve ark., 2007) ve TERT promotorunda aktive edici nokta mutasyonlarıdır (santral sinir sistemi, mesane, tiroid ve deri kanserlerinde gözlenmiştir) (Killela ve ark., 2013). Prostat kanserinde TERT promotorunun metilasyon durumu henüz tam olarak araştırılmamıştır; ancak TERT promotor mutasyonları prostat kanserinde gözlenmemiştir. Bunun yerine, MYC onkogeni, prostat kanserinde TERT katkıda bulunan bir faktör olarak gösterilmiştir (Killela ve ark., 2013; Stoeckl ve ark., 2015).

Tablo 2.2. Telomerazın kanserle ilişkili aktivasyonu

Moleküler mekanizma	Prostat kanseri ilişkisi	Kaynaklar
TERT amplifikasyonu	TERT amplifikasyonu prostat kanserinde gözlenmemiş, ancak santral sinir sistemi embriyonik tümörlerinde, servikal karsinomda, akciğer adenokarsinomunda ve hepatoselüler karsinomda bildirilmiştir.	Zhang ve ark., 2002; Fan ve ark., 2003; Zhu ve ark., 2006; Totoki ve ark., 2014.
TERT translokasyonu	TERT'nin genomik yeniden düzenlemeleri prostat kanserinde bildirilmemiş, ancak yüksek riskli nöroblastomla sıkı ilişkilidir.	Peifer ve ark., 2015; Valentijn ve ark., 2015.
TERT promotoru hipermetilasyonu	TERT promotorunun metilasyon durumu prostat kanserinde henüz tam olarak araştırılmamış, ancak promotor metilasyonunun birçok kanser hücre hattında ve bazı kanserlerde olduğu bildirilmiştir.	Renaud ve ark., 2007; Castelo-Branco ve ark., 2013.
TERT promotoru aktivasyon mutasyonları	TERT promotor mutasyonları prostat kanserinde gözlenmemiş, ancak santral sinir sistemi, mesane, tiroid ve deri kanserlerinde sıkça gözlenmiştir.	Killela ve ark., 2013; Vinagre ve ark., 2013

Tablo 2.2. (Devamı)

MYC aktivasyonu	MYC, TERT ifadesini pozitif olarak düzenler ve MYC aktivasyonu, prostat tümöründe kısa telomerlerin tespit edilebilir olduğu döneme denk gelir. Prostat kanserlerinin %80'den fazlasında MYC'nin nükleer aşırı ifadesi vardır. Bu nedenle, MYC aktivasyonu, prostat kanserlerinin birçoğunda TERT aktivasyonunun bir mekanizması olabilir.	Gurel ve ark., 2008; Bethel ve ark., 2006
-----------------	--	---

2.2.4. Prostat Kanseri Yönetiminde Telomer ve Telomeraz Üzerine Odaklanan Potansiyel Uygulamalar-Tedaviler

Tanı aşamasında, telomeraz ifadesinin tespiti ve telomer uzunluğunun ölçümü, telomeraz aktivasyonu ve kısalan telomerler prostat kanseri ile güçlü bir şekilde ilişkilendirildiği için faydalı olabilir. Prognozun değerlendirilmesinde, telomer uzunluklarının belirlenmesi, letal metastaz gelişecek olan prostat kanserli erkekleri, hastalığı organa sınırlı olan erkeklerden ayırmayı mümkün kılabilir. Tedavide, telomeraz veya telomerlere yönelik stratejilerin, özellikle androjen sinyal yolunu hedefleyen geleneksel prostat kanseri tedavileriyle kombinasyon halinde kullanılması klinikte faydalı olabilir (Graham ve Meeker, 2017).

Tablo 2.3. Prostat kanseri yönetiminde telomer ve telomeraz üzerine odaklanan potansiyel uygulamalar.

Tanı	Prognoz	Tedavi
Telomeraz Tespiti: Prostat biyopsi örneklerinde veya dolaşımdaki tümör hücrelerinde TRAP (Telomeraz Ters Transkriptaz Polimeraz Zincir Tepkimesi) testi	Telomer uzunluğu değerlendirmesi: Prostatın normal stromal hücrelerinde FISH (Fluoresan İn Situ Hibridizasyon) testi	Telomeraz hedefli tedaviler: Küçük molekül inhibitörler, TERT (Telomeraz Ters Transkriptaz) bağımlı onkotik virüsler ve telomeraz aşıları
Telomer uzunluğu: Prostat kanser hücrelerinde değişken telomer uzunluğu ve kansere bağlı stromal hücrelerde kısalan telomer uzunluğu		Telomer hedefli tedaviler: G-karetopleks stabilizatörleri, androjen sinyalleşme inhibitörleri ve DNA hasar yanıtı inhibitörlerinin kombinasyonu

Prostat kanserinin çoğunluğunda, MYC'nin telomeraz aktivasyonunun ana neden olduğuna inanılmaktadır. Prostat kanserinde kısa telomerlerin ve telomeraz aktivasyonunun kombinasyonu, telomerazı cazip bir tedavi hedefi haline getirmektedir. Telomeraz veya telomerlere yönelik tedavilere yönelik literatürde yer alan bazı çalışmalara Tablo 2.4'te yer verilmiştir.

Tablo 2.4. Telomeraz veya telomerlere yönelik tedaviler

Etki mekanizması	Prostat kanseri ile ilişkisi	Referanslar
Telomeraz inhibitörü olarak küçük molekülle inhibisyon	Prostat kanserinde telomeraz küçük molekül inhibitörleri ile ilgili herhangi bir klinik çalışma bulunmamaktadır, ancak prelinik çalışmalar prostat kanseri hücre hatlarında imetelstatin tümör başlatıcı hücrelerde telomer kısalmasına neden olduğunu göstermektedir.	Chiappori ve ark., 2015; Rousseau ve Autexier, 2015.
Telomeraz aşısı	Bugüne kadar GV1001'in prostat kanserinde kullanımını araştıran çalışmalar bulunmamaktadır. Pankreas kanserinde, aşının klinik çalışmaları, ajanın immünojenik ve hastalarda iyi tolere edilen bir ajan olduğunu göstermiştir; ancak GV1001 tek başına veya kombinasyon tedavilerinde etkili olmamıştır.	Bernhardt ve ark., 2006; Middleton ve ark., 2014.
TERT düzenlemeli onkotik virüs	Telomelysin, çıplak farelerde LNCaP tümör modelinde etkilidir. Telomelysinin, prostat kanseri dahil olmayan çeşitli katı tümörlerde tamamlanan faz I çalışmaları, uygulama sonrası ciddi yan etkiler olmadığını, ancak hastalarda tümör yanıtının sınırlı olduğunu göstermiştir.	Huang ve ark., 2008; Nemunaitis ve ark., 2010.
AR düzenlenmesi ile telomeraz inhibisyonu	Bicalutamide ile birlikte metaneselenik asitin kullanılmasıyla AR inhibisyonu, prostat kanseri hücrelerinde TERT ekspresyonunu azaltmış ve apoptozu artırmıştır.	Liu ve ark., 2010.
G-Dörtlü stabilizatörleri ve telomestatin	Etkileri prostat kanserinde araştırılmamıştır. Prostat kanseri fare modelleri, TMPyP4 ve RHPS4 ile tedaviye yanıt vermiştir.	Drygin ve ark., 2009; Balasubramanian ve ark., 2009; Hasegawa ve ark., 2016.
AR inhibisyonu yoluyla telomer disfonksiyonu	Prostat kanseri hücre kültürü çalışmalarında, AR inhibisyonu telomer disfonksiyonuna neden olmuştur. ATM inhibisyonu, hücre döngüsü kontrol noktası duraklamasını engellemiş ve AR inhibisyonu tarafından zarar görmüş telomerlerin onarımını engelleyerek hücre ölümünü teşvik etmiştir.	Reddy ve ark., 2015.

Telomer uzunluğunun ve telomerase aktivitesinin prostat kanserinin başlangıcında ve ilerlemesinde rol aldığı düşünülmektedir ve buna bağlı olarak hastalığın teşhisinde, prognozunda ve tedavisinde önemli olduğu ileri sürülmektedir

2.2. D Vitamini

Geleneksel olarak temel bir besin olarak bilinen D vitamini, geniş bir fizyolojik süreci düzenleyen güçlü bir steroid hormonun öncüsüdür (Jeon ve Shin, 2018).

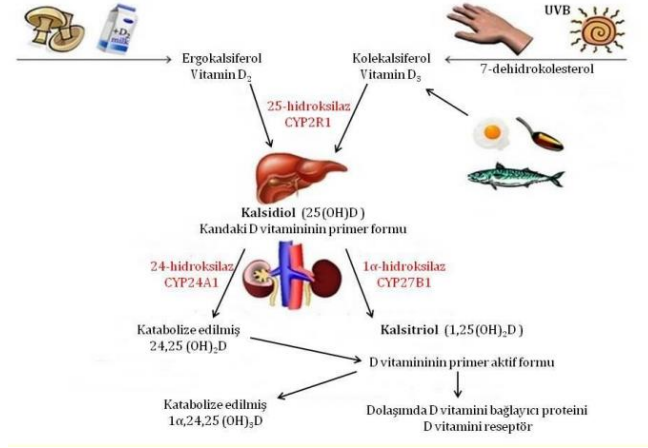
2.2.1. Vitamin D Metabolizması

İnsanlar için temel D vitamini kaynağı güneş ışığıdır. Güneşe yeteri kadar maruz kalmak, vücutta D vitamini sentezini başlatır. Bununla birlikte, D vitamini aynı zamanda diyet yoluyla da alınabilir ve vücutta endojen olarak sentezlenebilir (Whayne, 2011). D vitamini, vitamin D2 (ergokalsiferol) ve vitamin D3 (kolekalsiferol) olmak üzere iki önemli formda bulunur. Bitkilerde bulunan D vitamini D2 formunda bulunurken, hayvan dokularında ve insan cildinde D3 formu bulunur (Whayne, 2011; Feldman ve ark., 2014).

Tablo 2.5. D vitamini kaynakları

Güneş ışınları etkisiyle cilt	7-dehidrokolesterol
Yiyecekler	Bitkisel: Ergokalsiferol (Vitamin D2) Hayvansal: Kolekalsiferol (Vitamin D3)
İlaçlar	Kalsitriol, alfakalsidiol, kalsipotriol vb

D vitamini ayrıca birçok hastalık ve kanser türüne karşı koruyucu etkilere sahiptir. D vitamini yetersizliği genellikle kemik ve iskelet sistemi rahatsızlıklarıyla ilişkilendirilir. D vitamini yetersizliğinin en önemli sebeplerinden biri güneş ışığına yeteri kadar maruz kalmamaktır (Dümen ve Ün, 2019).



Şekil 2.1. D vitamini sentezi ve metabolizması

2.2.2. Vitamin D'nin Antikanserojenik Etkileri

Güneş ışığı maruziyeti ile kanser insidansı ve ölümü arasındaki ters ilişki ilk kez Kuzey Amerika'da neredeyse 80 yıl önce ortaya konmuştur (Apperly, 1941). Daha sonra, 1980 ve 1992'de sırasıyla düşük güneş ışığı maruziyeti ile kolon ve prostat kanser riski arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk epidemiyolojik çalışmalarda, D vitamininin kolon ve prostat kanseri riskine karşı koruma sağlayabileceği bildirilmiştir (Garland ve ark., 1980; Hanchette ve ark., 1992). Yapılan çalışmalar serum 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) düzeyleri ile kolon (Garland ve ark., 1989), meme (Engel ve ark., 2010), prostat (Ahonen ve ark., 2000; Tretli ve ark., 2009), mide ve diğer kanserler (Giovannucci ve ark., 2006) arasında ters bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, literatürde vitamin D'nin antitümöral etkilerini destekleyici birçok hücre kültürü ve deneysel çalışmalarda yer almıştır (Fleet ve ark., 2012; Feldman vd, 2014; Giammanco ve ark., 2015).

D vitamininin kanseri önlemeye ve tedavi etmeye yönelik faydalı etkileri, epidemiyolojik ve ön klinik çalışmalarda gözlemlenmiştir ve bu etkilerini açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. D vitamininin tümör oluşum sürecinde, başlangıçtan metastaza ve hücre-çevre etkileşimlerine kadar etkili olduğunu gösteren çalışmalar bildirilmiştir (Giammanco ve ark., 2015). Bu mekanizmalar arasında anti-inflamasyon,

hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz, otofaji ve hücre çoğalması gibi hücre davranışlarının düzenlenmesi yer almaktadır (Ahonen ve ark., 2000; Engel ve ark., 2010; Giammanco ve ark., 2015).

Çeşitli epidemiyolojik ve deneysel veriler, D vitamini'nin birçok kanser türünün önlenmesi ve tedavisinde faydalı bir rol oynadığını göstermektedir. Bu nedenle, kalsitriol veya D vitamini analoglarının klinik kullanımı araştırılmıştır (Giammanco ve ark., 2015). Bununla birlikte D vitamini'nin başlıca toksik etkisi olan hiperkalsemi, klinik uygulamalarını güçlü bir şekilde sınırlamıştır (Ma ve ark., 2010; Mehta ve ark., 2013). Yapılan bazı çalışmalar kanser hücrelerinin, hücrel kalsitriol seviyelerini azaltan ve D vitamininin antitümöral etkilerinden korunmak için işlevini azaltan birkaç mekanizma kullandığını öne sürmektedir (Fleet ve ark., 2012; Giammanco ve ark., 2015). Bu nedenle, kanserde D vitamini metabolizması ve sinyalizasyonunun nasıl işlediğini anlamak, D vitamini veya analoglarının klinik amaçlarla kullanımındaki bu sınırlamaları aşmak için etkili terapötik yaklaşımlar geliştirmeye yardımcı olacaktır.

2.2.3. Vitamin D ve Prostat Kanseri İlişkisi

Prostat kanseri ve diğer bir çok kanser türleri için D vitamininin en az dört mekanizma aracılığıyla anti-inflamatuar etki sergilediği bildirilmiştir. İlk olarak, kalsitriol, prostaglandin (PG) yolunu inhibe ederek pro-inflamatuar yanıtlarda rol alan siklooksijenaz-2 (COX-2) ve PG reseptörlerinin ekspresyonunu engelleyerek ve PG'lerin parçalanmasını sağlayarak pro-inflamatuar yanıtları inhibe eder (Krishnan ve Feldman, 2010).

Prostat kanseri hücrelerinde VDR (Vitamin D reseptörü) ekspresyonu tespit edilmiştir. İn vitro çalışmalar, kalsitriolün (aktif D vitamini formu) prostat kanserini inhibe ederek hücre çoğalmasını engelleyici ve proliferasyonu durdurucu etkiler gösterdiğini gözlemlemiştir (Apperly, 1941).

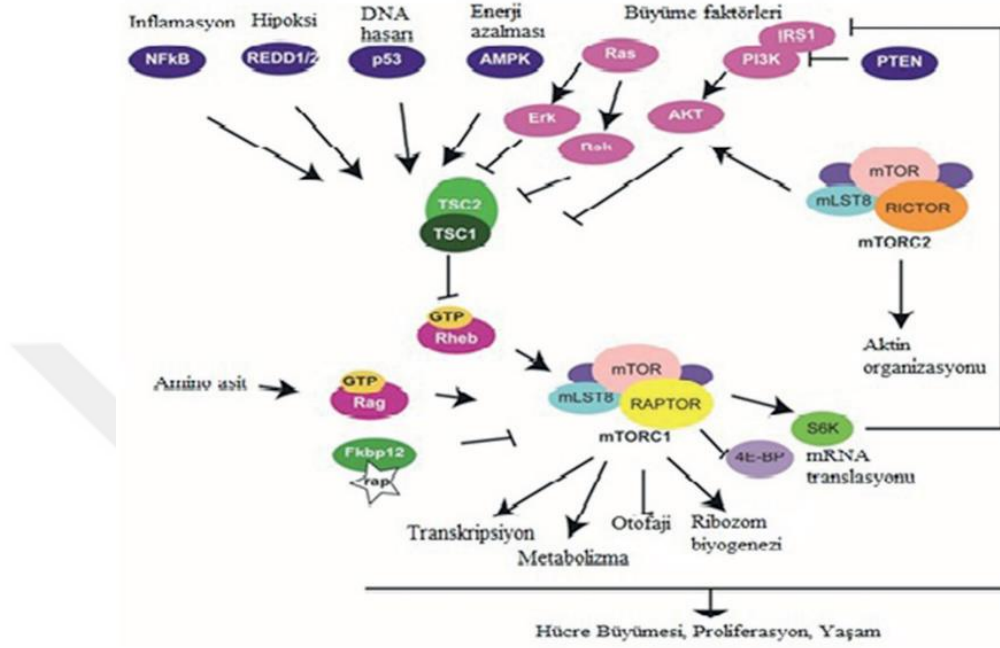
D vitamininin kanser üzerindeki etkisi, büyük ölçüde epidemiyolojik gözlemlerle desteklenmiştir. Birçok epidemiyolojik çalışma, güneş ışığının prostat, kolon, rektal, meme ve yumurtalık kanserine karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (Garland, 1980). Coğrafi olarak güneş ışığının daha fazla olduğu bölgelerde kanser insidansının, özellikle meme ve kolon kanseri için daha düşük olduğu, dolaşımdaki D vitamini seviyelerinin kolorektal ve prostat kanserine karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir (Bertone-Johnson ve ark., 2015). Prostat kanserinde endoplazmik retikulum aracılı yıkım (ERAD) yolağının vitamin D ve vitamin D reseptörü aracılı regülasyonun incelendiği bir çalışmada 1,25(OH)₂ D₃ aracılı sinyal mekanizmasının prostat kanseri hücrelerinde ERAD ve UPR mekanizmalarını sıkı bir şekilde düzenlediği bildirilmiştir (Aydoğdu, 2022). Bunun yanı sıra literatürde D vitamini ve prostat kanseri arasındaki ilişki tam olarak anlaşılmamıştır. Epidemiyolojik çalışmalar, düşük D vitamini düzeyinin prostat, meme ve kolorektal kanser riskinin artışıyla ilişkili olabileceğini göstermiştir. Ancak, diğer bir kohort çalışmasında, D vitamini alımının prostat kanseri gelişimi üzerine koruyucu etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Bikl, 2009; Feldman ve ark., 2014; Mokhtari ve ark., 2017). Bu nedenle, D vitamini ve prostat kanseri arasındaki ilişkiyi tam olarak anlamak için daha fazla araştırma ve klinik çalışma yapılması gerektiği belirtilmiştir (Pandolfi ve ark., 2017).

2.3. MTOR

2.3.1. mTOR Sinyal Yolağı ve Mekanizması

Kanser hücrelerinde sinyal iletimi, genellikle sitoplazmik kinazları tetikleyen reseptör tirozin kinazların (RTK) hareketini içerir. Hücre içinde bulunan mTOR protein kinaz, sinyal iletiminin merkezi bir noktasında yer alır. Kanserde önemli olduğu bilinen üç büyük sinyalizasyon yolu vardır. Bunlar PI3K/AKT kinaz zinciri, protein kinaz C ailesi (PKC) ve mitojene aktive olan protein kinaz (MAPK)/Ras sinyalizasyon

zincirleridir. PI3K/AKT/mTOR olarak adlandırılan önemli bir sinyal yolunun işlev süreci, reseptör tirozin kinazlarıyla yakından ilişkilidir (Şekil 2.2) (Yekaterina ve ark., 2012).



Şekil 2.2. PI3K/AKT/mTOR sinyal iletimi.

Damar endoteli büyüme faktörü (VEGF) reseptörü (VEGFR), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) reseptör-a, epidermal büyüme faktörü (EGFR), c-Met gibi çeşitli RTK'lar kanser hücrelerinden salınabilir. Bu RTK'lar, kanser hücrelerinin işlevlerini şekillendirmede PI3K/AKT/mTOR sinyal yolunu kullanır.

2.3.2. mTOR İnhibitörleri

mTOR (Mammalian Target of Rapamycin), Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) ile ilişkili olan bir serin/treonin kinazdır. mTOR, hücre büyümesi, metabolizma ve proliferasyon gibi çeşitli hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi ve hücre homeostazın sağlanmasında önemli bir rol oynar. Kanserde belirlenen önemli sinyalizasyon yollarından biri, PI3K/AKT kinaz sinyal iletim yoludur. Bu yol sıklıkla kanserde bozulur ve bu nedenle mTOR, önemli bir antitümör hedef olarak kabul edilir. mTOR inhibitörleri

olarak kullanılan antikanser ajanlar, rapamisin ve ondan türetilen temsirolimus, everolimus ve deforolimus (ridaforolimus) gibi maddelerden oluşur. Rapamisin ve benzerleri, in vitro ve in vivo olarak kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etme özelliğine sahiptir. Bu nedenle, mTOR inhibitörleri birçok kanser türü için önemli bir hedef olarak kabul edilir (Özcan ve Dikmen, 2015).

PI3K lipid kinaz ailesi, akış yukarı büyüme sinyalleri ile akış aşağı sinyal iletim mekanizması arasında önemli bir arayüz oluşturur. PI3K'ler, substrat tercihlerine ve dizi homolojisine göre üç sınıfa (I-III) ayrılır. Temel işlevleri, fosfatidilinozitol ve fosfoinozitidlerin 3'-hidroksil grubunu fosforile etmektir. Kanserle en ilgili olan sınıf, bir katalitik alt ünite (p110 α , p110 β veya p110 δ) ve bir düzenleyici alt ünite (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β veya p85 γ) oluşturan ve heterodimer olan sınıf IA PI3K'dır. Çeşitli sinyaller öncelikle reseptör tirozin kinazlar (RTK'lar) aracılığıyla PI3K aktivitesini uyarır (Skolnik ve ark., 1991; Carpenter ve ark., 1993), ancak G-proteinle bağlantılı reseptörler (Stephens ve ark., 1994) ve doğrudan p110'a bağlanan Ras gibi onkogenler aracılığıyla da uyarılabilir (Rodriguez-Viciano ve ark., 1994; Chan ve ark., 2002).

Uyarılma durumunda, PI3K'nın katalitik alt birimi fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat (PI-4,5-P₂) molekülünü fosforile eder ve bunun sonucunda fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat (PI-3,4,5-P₃) oluşur (Lemmon ve ark., 2007). Bu, hücre zarına çeşitli plekstrin homoloji alanı içeren proteinlerin gelmesi için ikincil haberci olarak görev yapar. Bu süreç, tümör baskılayıcı PTEN (fosfataz ve tensin homolog) ve INPP4B (inositol polifosfat 4-fosfataz tip II) tarafından tersine çevrilir. Bu moleküller, PI-3,4,5-P₃'ün PI-3-P'ye defosforile edilmesini sağlar (Gewinner ve ark., 2009). PI3K aktivitesinin hedeflerinden biri, prostat kanseri oluşumunu tetikleyen AKT serin/treonin protein kinaz ailesidir (Majumder ve ark., 2003). AKT'nin membrana çekilmesi ve ardından fosforile edilmesi onun aktifleşmesine yol açar (Sarbasov ve ark., 2005; Alessi ve ark., 1997).

Aktifleşen AKT, tuberöz skleroz kompleksi 2 (TSC2), glikojen sentaz kinaz 3 (GSK3), forkhead box O (FOXO) transkripsiyon faktörleri, p27, BAD ve eNOS gibi birçok önemli molekülü fosforile eder (Manning ve Cantley, 2007). Bu moleküller hücre büyümesini, hayatta kalma, hücre çoğalması, metabolizma ve anjiyogenez süreçlerini düzenler. Bu sinyal yollarının her birinin prostat kanserinin oluşması ve ilerlemesindeki rolü ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (Edlind ve Hsieh, 2014).

2.3.3. mTOR ve Prostat Kanseri İlişkisi

mTOR, memelilerde hücre büyümesi ve metabolizmasında önemli bir rol oynayan bir protein kompleksinin hedefidir. Kanserde önemli olduğu tespit edilen üç temel sinyalizasyon yolu vardır. Bunlar (PI3K)/AKT kinaz zinciri, protein kinaz C ailesi (PKC) ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK)/Ras'dır. mTOR, PI3K/AKT sinyal yolunun aşağı yönlü aktivasyonunda kilit bir kinazdır. Bu yollar sıklıkla kanserde bozulur ve bu nedenle mTOR önemli bir antitümör hedeftir. mTOR inhibitörleri olan rapamisin ve ondan türetilmiş temsirolimus, everolimus ve ridaforolimus, sonradan deforolimus adını almıştır ve antikanser ajanlar olarak kullanılmaktadır (Küçüköner ve Işıkdogan, 2013).

Yapılan bazı genetik ve transkriptomik çalışmalar, PI3K yolak bileşenlerinin genetik değişimlerinin ve düzensiz gen ekspresyonunun prostat kanserli hastalarda yaygın olduğunu göstermiş; bu değişimlerin, primer kanser örneklerinin %42'sinde ve metastatik prostat kanser örneklerinin %100'ünde meydana geldiği bildirilmiştir (Taylor ve ark., 2010; Grasso ve ark., 2012; Robinson ve ark., 2015; Armenia ve ark., 2018; Abida ve ark., 2019; Shorning ve ark., 2020).

Prostat kanserinde PI3K-AKT-mTOR yolak genetik anormalliklerinin sıklığı ve çeşitliliğine dair, cBioPortal veri tabanı kullanılarak OncoPrint ile yapılan çalışmalarda, PI3K-AKT-mTOR yolak genetik değişikliklerinin primer ve metastatik prostat

kanserinde yaygın olduğu ve gözlenen genetik olayların genellikle birlikte görüldüğü belirtilmiştir (Cerami ve ark., 2012; Gao ve ark., 2013; Armenia ve ark., 2018; Abida ve ark., 2019). Yapılan bu çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, yaygın olarak görülen genetik değişiklik türleri ve genetik değişiklik yüzde aralığı tabloda verilmiştir (Tablo 2.5).

Tablo 2.6. Prostat kanserinde PI3K-AKT-mTOR yolak genlerinde yaygın genetik değişikliklerin sıklığı.

PI3K-AKT-mTOR yolak genlerinde yaygın olarak görülen genetik değişiklik türleri	Genetik Değişiklik Yüzde Aralığı
PTEN delesyon/mutasyon	16.4–32.0%
DEPTOR amplifikasyonu	5.1–21.4%
SGK mutasyon/amplifikasyonu (SGK3)	5.6–20.5%
SGK mutasyon/amplifikasyonu (SGK1)	0.2–2.7%
FOXO delesyonu (FOXO1)	0.0–15.2%
FOXO delesyonu (FOXO3)	4.5–13.4%
MAP3K7 delesyonu	5.9–14.8%
RRAGD delesyonu	6.5–14.4%
SESN1 mutasyon/delesyonu	5.4–13.6%
PIK3CA mutasyon/amplifikasyonu	5.5–11.5%
PIK3C2B mutasyon/amplifikasyonu	1.4–11.5%
PDPK1 amplifikasyonu	0–8.1%

Tablo 2.6’da görüldüğü gibi gözlenen yaygın genetik değişiklikler PTEN, DEPTOR, SGK3, FOXO1/3, MAP3K7, RRAGD, SESN1, PIK3CA, PIK3C2B ve PDPK1’de tespit edilmiştir. Bununla birlikte daha az sıklıkta görülen birçok anormallik de belirlenmiştir. Bunlar arasında AMPK alt birimlerini kodlayan genler (örneğin PRKAB1 ve PRKAB2 amplifikasyonu) ve AMPK düzenleyiciler (örneğin CAMKK2 ve LKB1 delesyonu) yer almaktadır.

İleri düzeydeki prostat kanserinin çoğunda düzensizleşen PI3K-AKT-mTOR sinyal yolu, büyüme sinyallerinin protein sentezi, proliferasyon, hayatta kalma, metabolizma ve farklılaşma gibi hücresel süreçlerle entegrasyonu için kritik bir kavşak noktası oluşturarak, kanser hücrelerinin androjen yoksunluğuyla ilişkili stresi aşma mekanizmalarında yer alır. Ayrıca, ön klinik çalışmalar, PI3K-AKT-mTOR ve androjen reseptörü (AR) sinyal yolları arasında doğrudan bir bağlantıyı açığa çıkarmıştır ve androjen yoksunluğu tedavisine (ADT) direncin gelişimi sırasında bu yollar arasında dinamik bir etkileşim olduğunu ortaya koymuştur (Edlind ve Hsieh, 2014).



3. MATERYAL VE METOT

TDK-2022-10285 proje kodlu çalışma Atatürk üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 31.03.2022 tarihli toplantı sayısı 03 ve 76 numaralı karar ile bu çalışmaya onay verilmiştir (Ek1).

3.1. Çalışma ve Kontrol Gruplarının Belirlenmesi

Atatürk Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesinin Radyasyon Onkolojisi bölümünde Prostat kanseri tanısı almış hastalardan sorumlu hekim kontrolünde hemşire yardımıyla, hastalardan kanlar alındı. Erzurum ilinde yaşayan herhangi bir kronik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllüler kontrol grubu olarak araştırma hakkında bilgilendirilmelerinin ve “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” okutulup onaylarının alınmasının ardından çalışmaya dâhil edildi.

3.2. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması

Hasta ve kontrol grubundan venöz kan örnekleri antekübital venden oturur pozisyonda iken alındı. Serum eldesi için pıhtı aktivatörü içeren jel seperatörlü tüpler kullanıldı. Tüplerdeki numunelerin süpernatant kısımları 3500 rpm devirde 10 dakikalık soğutmalı (+4°C) santrifüj işlemi sonrasında ayrıldı. Elde edilen serumlar etiketlenmiş kilitli kapaklı mikro santrifüj tüplerine alınarak alikotlandı ve çalışma gününe dek -80°C’de derin dondurucuda saklandı.

Analizlerin yapılacağı günün bir önceki gününden itibaren dondurulmuş örnekler sırayla -20°C, +4°C ve oda sıcaklığına alınarak aşamalı olarak çözündürüldü. Vitamin D ölçümü Cobas e 801 immunassay otoanalizöründe elektrokemilüminesans yöntemiyle yapıldı. mTOR ve Telomeraz ölçümleri enzim-bağlı immunosorbent ölçüm (ELISA) metoduyla ve ticari kitlerde yer alan direktiflere göre serum numunesinde gerçekleştirildi.

3.3. Biyokimyasal Analizler

3.3.1. ELISA

Enzim immün ölçüm, enzimlerin katalitik özelliklerinin kullanıldığı immünokimyasal bir ölçüm yöntemidir. En yaygın kullanılan yöntem ise enzim-bağı immunosorbent ölçüm (ELISA) tekniğidir. Reaksiyon bileşenlerinden birinin katı faz yüzeye bağlanması sebebi ile bu yöntem heterojen özellik gösterir. Kimyasal, immünokimyasal veya nonspesifik adsorbsiyon şeklinde olabilen bu bağlanma ile serbest işaretli reaktifin bağlı olandan ayrılması kolaylaşır. ELISA yöntemi ile ölçülecek antijeni içeren bir kalibratör veya numune, katı fazdaki antikor ile bağlanabilmesi için bir süre inkübe edilir. İnkübasyondan sonra yıkama işlemi yapılır ve ilk aşamada bağlanmış olan antikordan farklı bir antikor ortama eklenir. Böylece, katı faz antikoru-antijen-enzim bağlı antikor sandviç kompleksi oluşur. Bağlı halde olmayan antikor yıkama işlemi ile reaksiyon ortamından uzaklaştırılır ve enzimin substratı eklenir. Numunedeki veya kalibratördeki antijen miktarınca oluşan sandviç kompleksin içerdiği enzim, ortama eklenen substratı ürüne dönüştürür. Sonuç olarak reaksiyon ortamında elde edilen ürün miktarı, ölçülmek istenen antijen ile doğru orantılı olur.

Telomeraz Ölçümü: Serum numunesinde telomeraz düzeyi ölçümü için ticari ELISA kiti (Sun Red Biotechnology Company Human Telomeraz ELISA kit Katalog No: 201-12-0935, China) kullanılmıştır. Serum, plazma ve diğer ilgili vücut sıvılarındaki telomeraz ölçümü amacıyla üretilen kitin standart eğri aralığı 0.5-150 IU/mL, duyarlılığı 0.447 IU/mL, çalışma içi kesinlik CV değeri <%10, çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%12'dir.

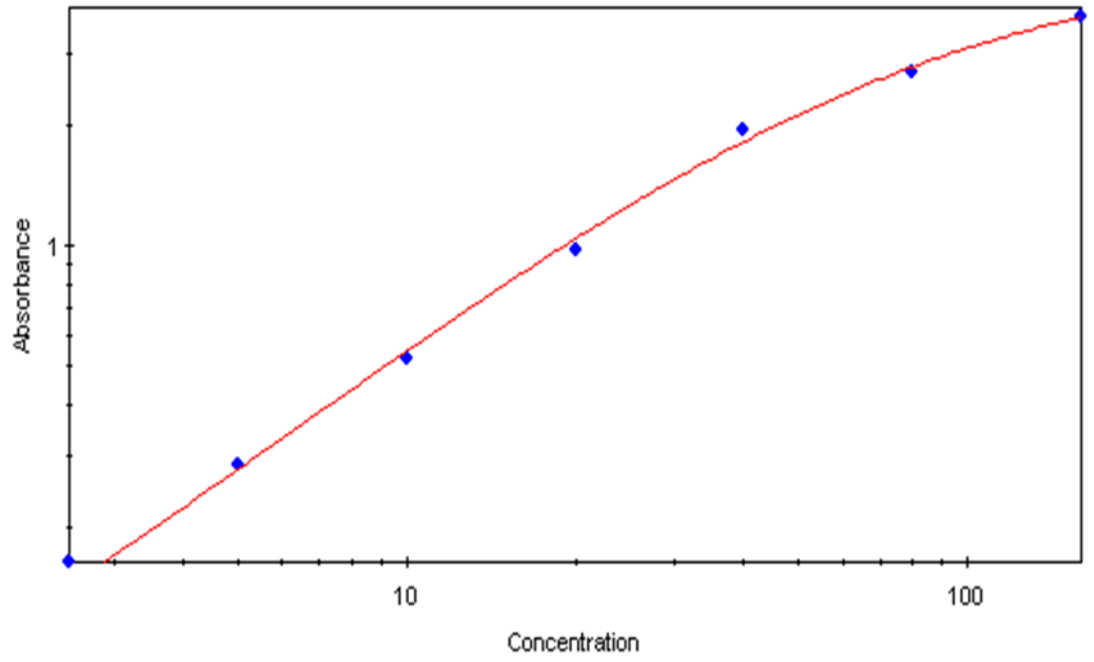
Sandviç ELISA prensibine göre çalışan bu kitte öncelikle, insan telomeraz antikoru ile kaplanmış olan kuyucuklara numune eklenir. Numunedeki telomeraz katı fazı oluşturan kuyucuklardaki antikorlarına bağlanır. İnkübasyonun ardından eklenen

biyotinlenmiş insan telomeraz antikoru numunedeki telomeraz ile bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir, biyotinlenmiş telomeraz antikoruyla bağlanır ve immunkompleks oluşur. 37°C’de 60 dakikalık inkübasyondan sonra yapılan yıkama işlemi ile antikora bağlanmamış serbest haldeki Streptavidin-HRP deney ortamından uzaklaştırılır. Kromojen A ve B solüsyonları eklenir ve numunelerdeki telomeraz konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişimi gerçekleşir. 37°C’de 10 dakikalık inkübasyon sonrasında asidik karakterli çözeltinin eklenmesi ile reaksiyon durdurulur ve 450 nanometre (nm)’de absorban ölçümü gerçekleştirilir.

Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek serum numunesinde telomeraz analiz edilmiştir:

- 1) Kitimiz ve numuneler oda sıcaklığına getirilerek hazırlandı.
- 2) Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
- 3) Numune kuyucuklarına 40 µL numune ve 10 µL telomeraz antikoru eklendi.
- 4) Kör haricindeki tüm standart ve numune kuyucuklarına 50 µL streptavidin-HRP eklendi, kuyucukların üzeri kapatılarak 60 dakika 37°C’de inkübe edildi.
- 5) Her bir kuyucukta 350 µL yıkama solüsyonu 1-2 dk kadar bekletilerek beş defa yıkama yapıldı.
- 6) Kör, standart ve numune kuyucuklarına 50 µL kromojen A ve B solüsyonları eklendi. Kuyucukların üzeri kapatılarak 37°C’de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında mavi renk oluştu.
- 7) Her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. BIO-TEK PowerWave XS mikropate okuyucu cihazında 450 nm’de absorban değerleri ölçüldü.

Standart eğrisinden yola çıkılarak numunelerin telomeraz konsantrasyonları IU/mL birimine göre belirlendi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Telomeraz standart kalibrasyon eğrisi

mTOR Ölçümü: Serum numunesinde mTOR düzeyi ölçümü için ticari ELISA kiti (Sun Red Biotechnology Company Human mTOR ELISA kit Katalog No: 201-12-0442, China) kullanılmıştır. Serum, plazma ve diğer ilgili vücut sıvılarındaki mTOR ölçümü amacıyla üretilen kitin standart eğri aralığı 15-4200 ng/mL, duyarlılığı 14.332 ng/mL, çalışma içi kesinlik CV değeri <%9, çalışmalar arası kesinlik CV değeri <%11’dir.

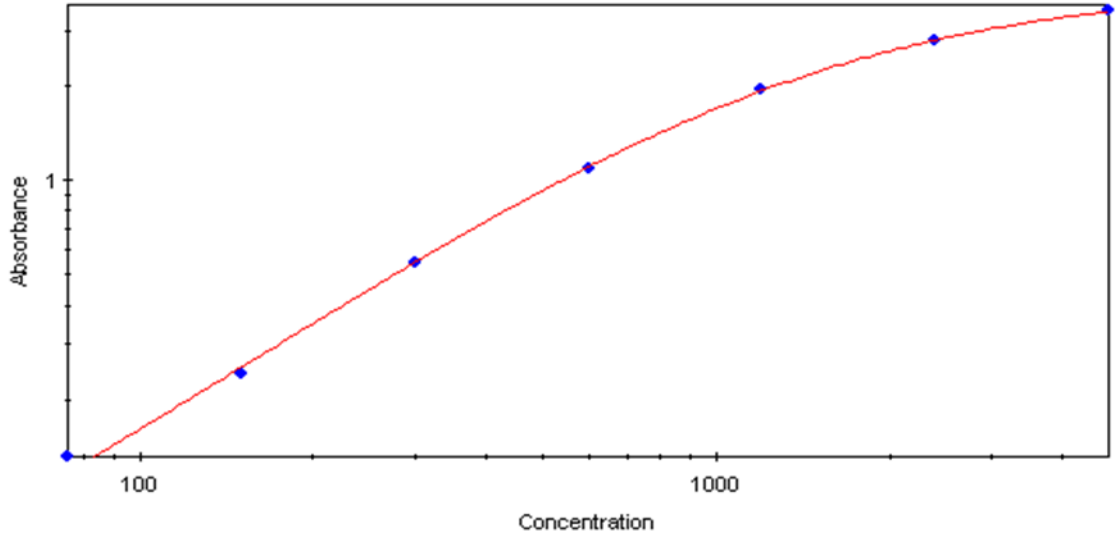
Sandviç ELISA prensibine göre çalışan bu kitte öncelikle, insan mTOR antikoruna ile kaplanmış olan kuyucuklara numune eklenir. Numunedeki mTOR katı fazı oluşturan kuyucuklardaki antikorlarına bağlanır. İnkübasyonun ardından eklenen biyotinlenmiş insan mTOR antikoruna numunedeki mTOR ile bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir, biyotinlenmiş mTOR antikoruna bağlanır ve immunkompleks oluşur. 37°C’de 60 dakikalık inkübasyondan sonra yapılan yıkama işlemi ile antikora bağlanmamış serbest haldeki Streptavidin-HRP deney ortamından uzaklaştırılır. Kromojen A ve B solüsyonları

eklenir ve numunelerdeki mTOR konsantrasyonu ile doğru orantılı olacak şekilde renk değişimi gerçekleşir. 37°C’de 10 dakikalık inkübasyon sonrasında asidik karakterli çözeltinin eklenmesi ile reaksiyon durdurulur ve 450 nanometre (nm)’de absorbans ölçümü gerçekleştirilir.

Kitin içerisindeki direktifler doğrultusunda aşağıdaki basamaklar takip edilerek serum numunesinde mTOR analiz edilmiştir:

- 1) Kitimiz ve numuneler oda sıcaklığına getirilerek hazırlandı.
- 2) Standart kuyucuklarına 50 µL standart eklendi.
- 3) Numune kuyucuklarına 40 µL numune ve 10 µL mTOR antikoruna eklendi.
- 4) Kör haricindeki tüm standart ve numune kuyucuklarına 50 µL streptavidin-HRP eklendi, kuyucukların üzeri kapatılarak 60 dakika 37°C’de inkübe edildi.
- 5) Her bir kuyucukta 350 µL yıkama solüsyonu 1-2 dk kadar bekletilerek beş defa yıkama yapıldı.
- 6) Kör, standart ve numune kuyucuklarına 50 µL kromojen A ve B solüsyonları eklendi. Kuyucukların üzeri kapatılarak 37°C’de 10 dakika karanlıkta inkübe edildi. Inkübasyon sonrasında mavi renk oluştu.
- 7) Her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklendi, mavi rengin sarıya dönüştüğü görüldü. BIO-TEK PowerWave XS mikropate okuyucu cihazında 450 nm’de absorbans değerleri ölçüldü.

Standart eğrisinden yola çıkılarak numunelerin mTOR konsantrasyonları ng/mL birimine göre belirlenmiştir (Şekil 3.2).



4 Parameter ($y = (A - D) / (1 + (x/C)^B) + D$)
A=4.1102 B=-1.2731 C=1336.8956 D=0.0161, R-Square = 0.9998

Şekil 3.2. mTor standart kalibrasyon eğrisi

3.3.2. Biyokimyasal Ölçümler

D Vitamini Ölçümü: Bu çalışma hizmet satın alımı ile Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvar'ında yapılmıştır. Çalışma ve kontrol grubu serumlarında 25 hidroksi D vitamininin kantitatif tayini için ROCHE- Elecsyscobas e 801 otoanalizörü ve Cobas Elecsys Vitamin D total II ticari kitleri kullanılmıştır. Elecsys Vitamin D total II testinde, vitamin D bağlayıcı protein rutenyum kompleksi ile işaretlenerek, 25-hidroksiergokalsiferol ve 25 hidroksikolekalsiferol bağlamak amacıyla yakalama proteini olarak kullanılmaktadır. Spesifik monoklonal antikorla, 24,25(OH)₂ D₃ ile çapraz reaktivite bloke edilir. Testin süresi toplam 27 dakikadır. Numunelerin 25 hidroksi D vitamini konsantrasyonları ng/mL birimine göre belirlenmiştir.

PSA Ölçümü: PSA ölçümü Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında Access Prostate specific antigen kiti kullanılarak DXI800 (Beckman

Coulter Diagnostics, Brea, CA, USA) analizörlerinde ölçülmüştür. Numunelerin PSA konsantrasyonları ng/mL birimine göre belirlenmiştir.

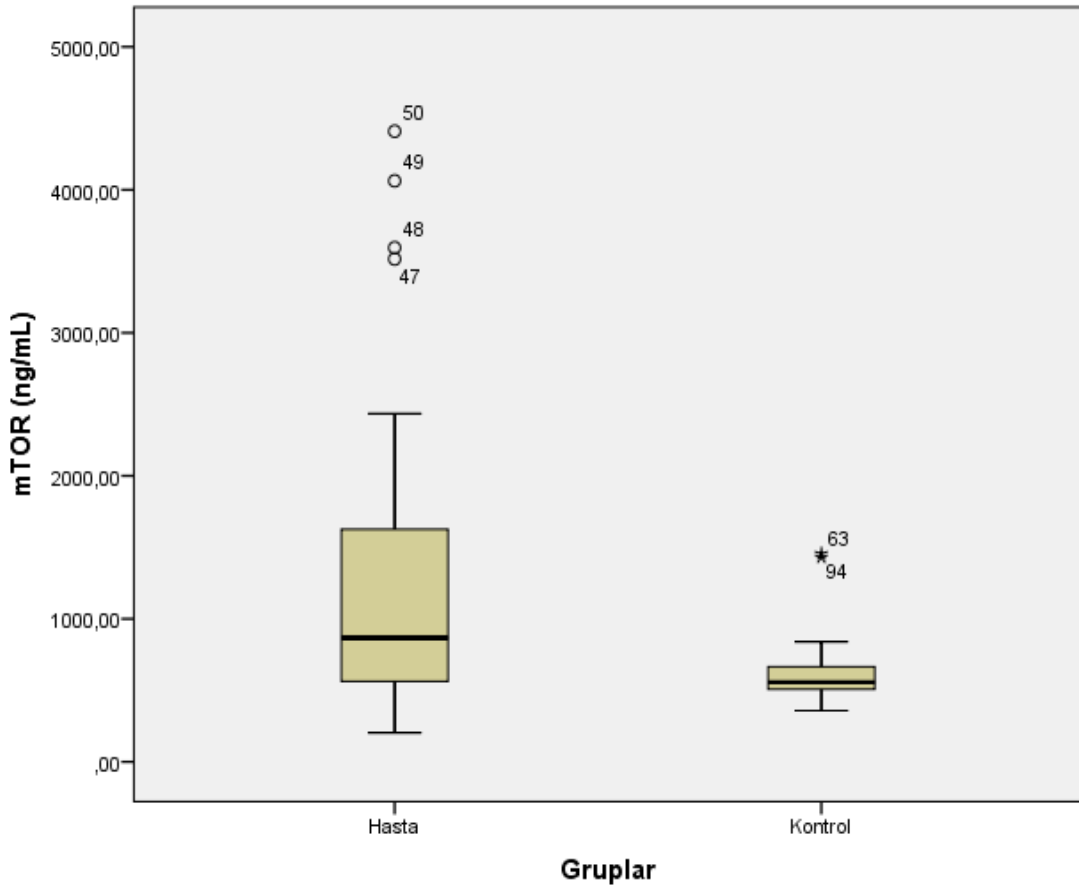
3.4. İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında istatistiksel analizler için SPSS 22 programı kullanılmıştır. Numerik değişkenler ortalama, standart sapma ve medyan (minumum, maksimum), kategorik değişkenler ise sayı ve yüzdeler şeklinde sunuldu. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile araştırıldı. Normal dağılan değişkenlerin gruplar arası mukayese edilmelerinde student t ve one way Anova testi kullanıldı, gruplar arasındaki farklılığın önemlilik derecesi post hoc Bonferroni testi ile belirlendi. Normal dağılıma uymayan parametrelerin gruplar arasındaki karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi uygulandı. İkili karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile yapıldı. Ölçüm parametreleri arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizinden yararlanıldı. Parametrelerin duyarlılık, özgüllük, ve cut off değerini hesaplamak için belli bir yöntemin öngörü gücünün ifadesi olan ROC eğrisi (Receiver Operating Characteristic) kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR

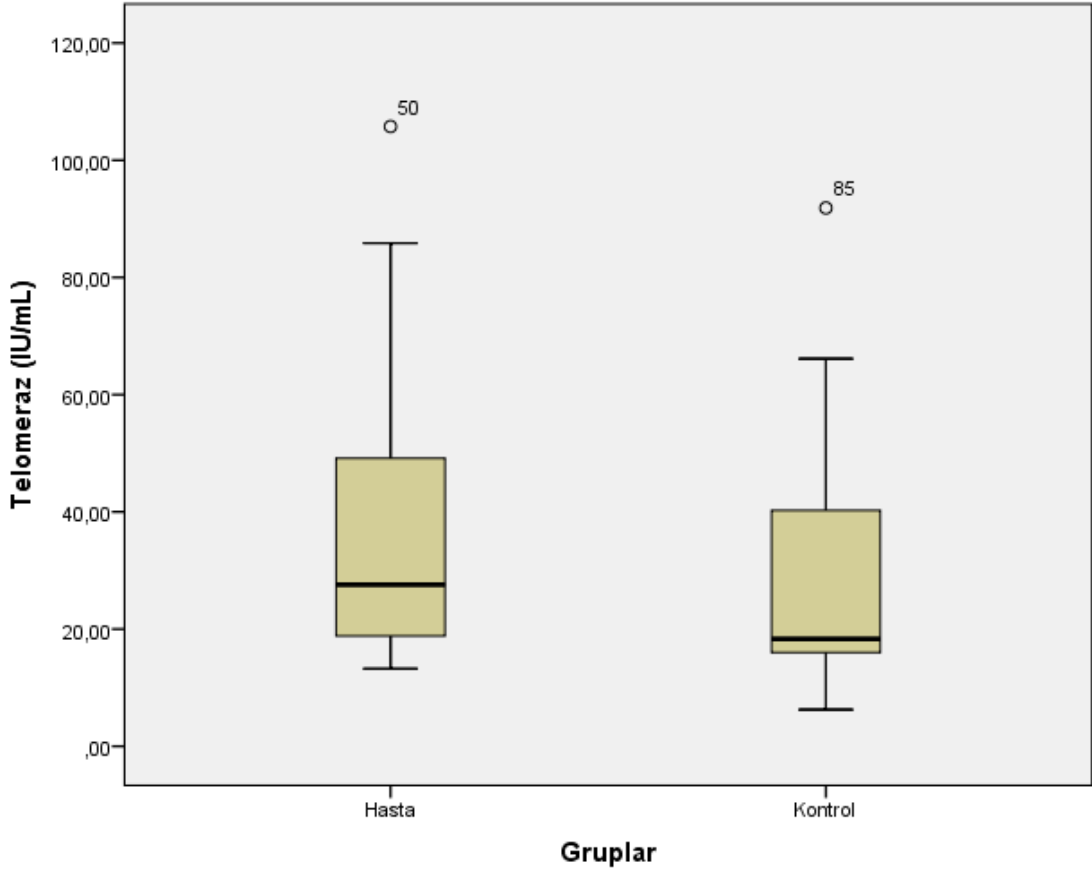
01.04.2022-01.04.2023 tarihleri arasında TRUS eşliğinde prostat biyopsisi sonucuna göre ilk kez tanı alan ve daha önce tedavi görmemiş 50 prostat kanserli hasta ile yine hastalarla aynı demografik özelliklere sahip 50 sağlıklı birey kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Prostat kanserli hastaların yaş ortalaması 69.64 ± 6.23 iken kontrol grubunun yaş ortalaması 71 ± 7.54 idi. Grupların yaşları birbirine yakındı ($p=0.49$).

Prostat kanserli hastaların mTOR düzeyleri 867.20 ng/mL (203.11, 4409.38) iken kontrol grubunun mTOR düzeyleri 556.83 ng/mL (357.62, 1455.89) idi. Hasta grubunun mTOR düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.001$) (Şekil 4.1).



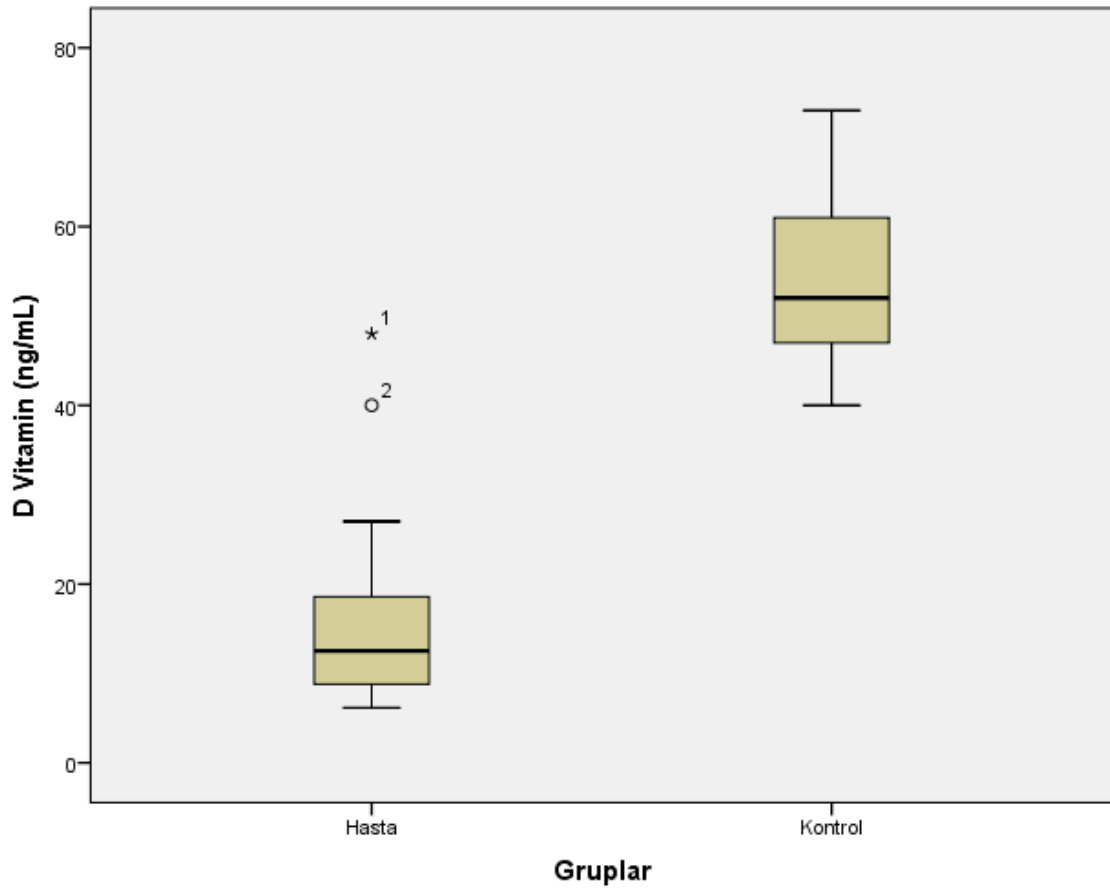
Şekil 4.1. Prostat kanserli hastalar ile kontrol grubu mTOR düzeyleri

Prostat kanserli hastaların telomeraz düzeyleri 27.58 IU/mL (13.27, 105.75) iken kontrol grubunun Telomeraz düzeyleri 18.31 IU/mL (6.24, 91.85) idi. Hasta grubunun Telomeraz düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0.011$) (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. Prostat kanserli hastalar ile kontrol grubu Telomeraz düzeyleri

Prostat kanserli hastaların D vitamini düzeyleri 12.53 ng/mL (6, 48) iken kontrol grubunun D vitamin düzeyleri 52 ng/mL (40,73) idi. Hasta grubunun D vitamin düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.001$) (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Prostat kanserli hastalar ile kontrol grubu D vitamini düzeyleri

Hastalar patolojik ve klinik bulgularına göre lokalize (T1a-T2b), lokal ileri (T3a-T4) ve metastatik (Tx, N+, M+) evre prostat kanseri olarak üç gruba ayrıldı. Hastaların 26'sı lokalize evre, 14'ü lokal ileri evre ve 10'u metastatik evre idi. Lokalize evre alt grubunda yer alan hastaların yaş ortalaması 65.42 ± 5.51 , lokal ileri evredeki hastaların yaş ortalaması 72 ± 5.26 ve metastatik evrede yer alan hastaların yaş ortalaması 73.8 ± 4.92 idi. Lokalize evrede yer alan hastaların yaş ortalaması, lokal ileri ve metastatik evredeki hastalara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p=0.002$, $p<0.001$ sırasıyla). Lokal ileri evre ve metastatik evrede yer alan hastaların yaş ortalaması ise birbirine yakındı ($p=1.0$).

Evrelerine göre 3 alt gruba ayrılan prostat kanserli hastaların mTOR, Telomeraz, D vitamini ve PSA düzeyleri tablo 4.1 de verilmiştir. Hastaların evreleri arttıkça serum

mTOR, Telomeraz ve PSA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede artmaktaydı, D vitamini düzeyi ise anlamlı derecede azalmaktaydı ($p<0.001$ hepsi için).

Tablo 4.1. Hastalığın evrelerine göre serum mTOR, Telomeraz, D vitamini ve PSA düzeyleri

	Lokalize	Lokal İleri	Metastatik	P
mTOR	575.00	1442.48	2325.05	P<0.001*
(ng/mL)	(203.11, 875.09)	(891.06, 1657.11)	(1783.26, 4409.38)	
Telomeraz	19.21	43.14	75.09	P<0.001*
(IU/mL)	(13.27, 28.15)	(30.25, 59.86)	(60.57, 105.75)	
D vitamini	18.27	10.18	7.32	P<0.001*
(ng/mL)	(12,48)	(9, 12)	(6,8)	
PSA (ng/mL)	12.95	28.3	609.19	P<0.001*
	(3.45, 30.18)	(16.25, 41.69)	(345.28, 1156.18)	

Sonuçlar medyan (minumum, maksimum) olarak verilmiştir. *p: Tüm grupların ikili karşılaştırılması.

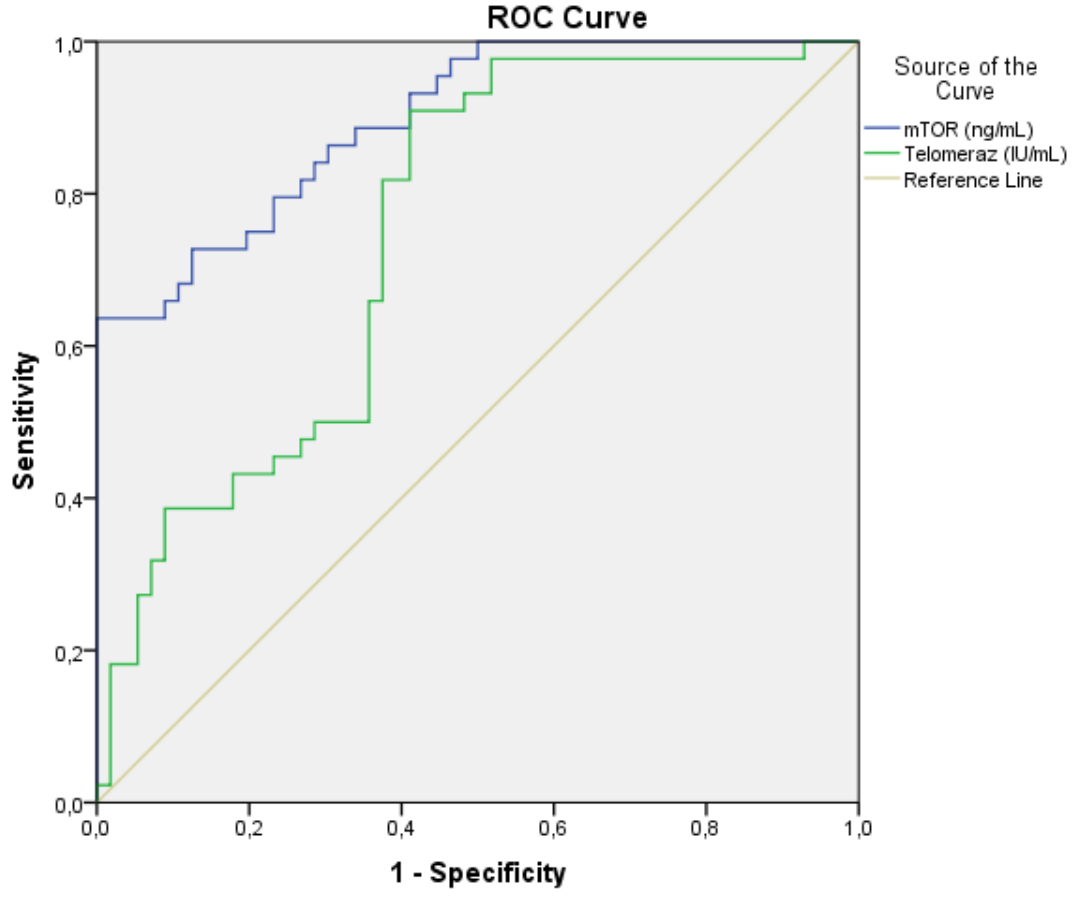
Prostat kanserli hastalar Gleason grade açısından gruplara ayrıldı. Gleason grade 2 olan grupta 10 hasta, Gleason grade 3 olan grupta 19 hasta, Gleason grade 4 olan grupta 13 hasta, Gleason grade 5 olan grupta 8 hasta bulunuyordu. Gleason grade 1’de yer alan hastamız bulunmamaktaydı. Grade derecesine göre 5 alt gruba ayrılan prostat kanserli hastaların mTOR, Telomeraz, D vitamini ve PSA düzeyleri tablo 4.2 de verilmiştir. Hastaların grade derecesi arttıkça serum mTOR, Telomeraz ve PSA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede artmaktaydı, D vitamini düzeyi ise anlamlı derecede azalmaktaydı ($p<0.001$ hepsi için).

Tablo 4.2. Hastalığın Gleason grade derecesine göre serum mTOR, Telomeraz, D vitamini ve PSA düzeyleri

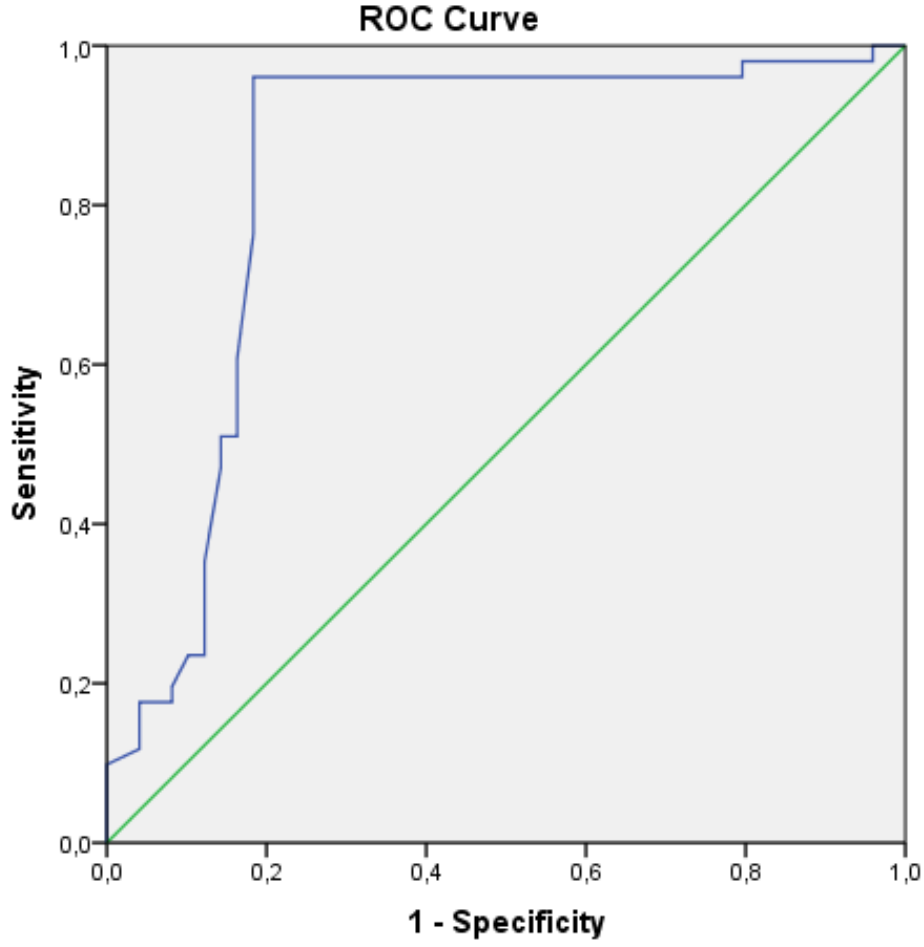
	Grade 2	Grade 3	Grade 4	Grade 5	P
mTOR (ng/mL)	488.15 (203.11, 541.89)	658.34 (547.59, 987.29)	1609.36 (1042.7, 1862.67)	2975.05 (2107.22, 4409.38)	P<0.001*
Telomeraz (IU/mL)	15.64 (13.27, 17.24)	22.08 (17.64, 31.67)	46.54 (36.99, 63.21)	75.53 (69.05, 105.75)	P<0.001*
D vitamini (ng/mL)	25.12 (20,48)	15.7 (12.20)	9.56 (8,12)	7.13 (6,8)	P<0.001*
PSA (ng/mL)	9.31 (3.45, 11.28)	17.72 (11.92, 30.18)	32.28 (22.69, 358.49)	661.92 (462.23, 1156.18)	P<0.001*

Sonuçlar medyan (minumum, maksimum) olarak verilmiştir. *p: Tüm grupların ikili karşılaştırılması.

Serum mTOR, Telomeraz ve D vitamini düzeylerine ait ROC eğrisi şekil 4.4 ve şekil 4.5 de gösterilmiştir. Serum mTOR düzeyleri için Cut off değeri 608.09 ng/mL alındığında prostat kanserli vakaları sağlıklı bireylerden ayırt etmede duyarlılığı %82, özgüllüğü %73 olarak bulundu (Eğrinin altında kalan (AUC)=0.897, p<0.001). Serum Telomeraz düzeyleri için Cut off değeri 21.49 IU/mL alındığında prostat kanserli vakaları sağlıklı bireylerden ayırt etmede duyarlılığı %80, özgüllüğü %63 olarak bulundu (Eğrinin altında kalan (AUC)=0.748, p<0.001). Serum D vitamini düzeyleri için Cut off değeri 41.5 ng/mL alındığında prostat kanserli vakaları sağlıklı bireylerden ayırt etmede duyarlılığı %78, özgüllüğü %82 olarak bulundu (Eğrinin altında kalan (AUC)=0.843, p<0.001).



Şekil 4.4. Serum mTOR ve Telomeraz düzeylerine ait ROC eğrisi



Diagonal segments are produced by ties.

Şekil 4.5. Serum D vitamini düzeylerine ait ROC eğrisi

Hastaların PSA düzeyleri ile mTOR ve Telomeraz düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon vardı ($r=0.908$ ve $r=0.836$ sırasıyla, $p<0.001$ her ikisi için). PSA düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon vardı ($r= -0.861$, $p<0.001$).

5. TARTIŞMA

Genellikle genetik mutasyonlar, çevresel etkenler veya bir kombinasyonu sonucu normal hücrelerin anormal bir şekilde büyüüp çoğalmasıyla başlar. Kontrolsüz hücre büyümesi, tümör oluşumuna ve kanserin başlangıcına yol açar. Sung ve ark. (2021) tarafından belirtildiği gibi, kanser dünya genelinde ciddi bir sağlık sorunudur ve bu alandaki araştırmalar, hastalığın önlenmesi, erken teşhisi ve tedavisi konusunda önemli ilerlemelere yol açabilir. Kanserle mücadeledeki bu çabalar, tıp ve bilim alanında sürekli olarak gelişen ve evrilen bir alandır. Çalışmada, günümüzde görülme sıklığı artan prostat kanserli hastalarda mTOR, telomeraz ve D vitamini seviyelerinin belirlenmesi ve hastalığın evresi ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

mTOR, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) ile ilişkili bir serin/treonin kinaz ailesine ait bir enzimdir. Bu enzim, hücre büyümesi, metabolizma ve proliferasyon gibi çeşitli hücre fonksiyonların düzenlenmesinde ve hücre homeostazın korunmasında kritik bir rol oynamaktadır. Kanserdeki önemli sinyal yollarından biri, (PI3K)/AKT kinaz sinyal iletim yoludur, ve bu yolak genellikle kanser gelişimiyle ilişkilendirilmiştir (Özcan ve Dikmen, 2015).

Rapamisin adlı mTOR inhibitörüne yönelik birçok kanser türünde yapılan çalışmalar, rapamisin'in kanser kök hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engelleme potansiyeline işaret etmektedir (Yang ve ark., 2008; Matsubara ve ark., 2013; Xie ve ark., 2016; Carrasco-Garcia ve ark., 2016; Su ve ark., 2016). PI3K/AKT yolağı Rapamisin'in aktive ettiği önemli bir yoldur. Yapılan çalışmalar, özellikle Sorafenib'in PI3K/Akt yolağını aktive ederken, aynı anda Raf/(MAPK) yolağını inhibe ettiğini ve Akt proteininin hedef proteinlerinden olan S6K ve 4EBP1'nin fosforilasyonunu artırdığını ortaya koymuştur (Chen ve ark., 2011). Elde edilen bulgular, iki sinyal yolağının birbirleriyle bağlantılı olduğunu ve PI3K/AKT/mTOR sinyal yolağının, aktivasyonu

engellenen yolağı kompanse ettiğini göstermiştir. Bir çalışmada, DU-145 prostat kanseri hücreleri non-KKH (kemoterapiye karşı dirençli) ile karşılaştırıldığında, DU-145 KKH hücrelerinde mTOR ve MLST8 proteinlerinin floresan düzeyinde bir yükselme belirlenmiştir. Bu durum, prostat kanseri kök hücrelerinde mTOR ve MLST8 proteinlerinin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu göstermektedir (Binal, 2018). Başka bir çalışmada ise, mTOR kompleksleri içerisinde yer alan mLST8'in tümör ilerlemesindeki rolü incelenmiştir. Bazı kanser dokularında ve hücrelerinde mLST8 bileşeninin up regüle edildiği ve bu durumun AKT'nin aktive olmasını ve 4E-BP1'in fosforilasyonunu artırdığı belirtilmiştir. Özellikle kolon kanser dokusunda mLST8 transkriptlerinin düzeyleri artmıştır. Ancak, ilginç bir şekilde, aynı çalışmada prostat kanser dokusu ile sağlıklı hücrelerde mLST8 transkriptlerinin ekspresyonuna Western blot metodu ile bakılmış ve anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Kakumoto ve ark., 2015). Bu bulgular, prostat kanseri kök hücrelerinde mTOR ve MLST8 proteinlerinin artışının, kanser gelişiminde rol oynayabileceğini ve bu proteinlerin düzenlenmesinin kanser tedavisinde potansiyel bir hedef olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, farklı kanser türlerinde bu proteinlerin rolü ve düzenlenmesi üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar arasında çeşitlilik bulunmaktadır, bu da kanser biyolojisinin karmaşıklığını aklı getirmektedir. Atalay ve Kahraman'ın (2017), karaciğer kanseri hücre hatları üzerinde yürüttüğü araştırmada, PI3K/Akt/mTOR sinyal yolağı inhibitörlerinin kanser kök hücre popülasyonları üzerindeki etkileri in vitro ve in vivo yöntemlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre, karaciğer kanserine ait kök hücrelerdeki oranlar, mTOR'u inhibe eden Rapamisin tedavisi sonrasında belirgin bir şekilde azalmış ve bu hücreler kök hücre özelliklerini kaybetmiştir. Biz de çalışmamızda prostat kanserli hastalarda mTOR düzeylerini sağlıklılara kıyasla yüksek bulduk. Hastalığın evresi yükseldikçe mTOR düzeylerinde anlamlı artış tespit ettik. Ayrıca Gleason grade gruplamasına göre de

hastalığın grade düzeyi arttıkça mTOR düzeyi de anlamlı derecede artmaktaydı. Hastaların PSA düzeyleri ile mTOR düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon vardı.

Kanser hücrelerinin yaklaşık %85-90'ında, Hayflick sınır düzeyini aşmak için telomeraz ifade edilir (Zinn ve ark., 2007). Kyo ve ekibi (1997), yaptıkları çalışmada, endometrium (rahim iç tabakası) üzerinde telomeraz aktivitesi ile hücre çoğalma kapasitesi arasında bir ilişki olduğunu ve insan telomeraz (hTERT) ekspresyonunun menstrüel fazlar boyunca değişiklik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Buna göre, telomeraz aktivitesinin postmenopozal kadınlarda görülen endometrial kanserinin erken tanısında potansiyel bir belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, Akbay ve ekibi (2008) tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada, meme kanseri oluşumu ile telomer kısalması arasında bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Bu bulgu, telomer kısalmasının meme kanseri gelişiminde etkili bir belirleyici olabileceğini düşündürmektedir. Her iki çalışma da, telomeraz aktivitesi ve telomer kısalmasının kanserle ilişkilendirilebilecek önemli faktörler olduğunu ve bu faktörlerin kanser tanısında önemli bir rol oynayabileceğini öne sürmektedir. De Marzo ve ark. (2003) yapmış olduğu çalışmada, prostat kanserinde yüksek telomeraz ekspresyonu ve kısa telomer uzunluğu saptanmıştır (De Marzo ve ark., 2003). Çeşitli çalışmalarda, akciğer kanserli hastalarda TERT ekspresyonunun belirgin bir şekilde yüksek olduğu vurgulanmıştır. TERT ekspresyonundaki bu artışın, myc ve Wnt sinyal yollarının aktivasyonu ve hücre proliferasyonu ile ilişkilendiği bilinmektedir (Choi ve ark., 2008). Yapılan bir in vivo çalışmada (137 kanser ve 137 sağlıklı birey), TERT'in down regülasyonunun telomeraz aktivitesinin azalmasına ve apoptozun tetiklenmesine neden olduğu gösterilmiştir (Xie ve ark., 2013). Wentzensen ve ark. (2011), telomer kısalması ile kanser riskinin arttığını belirtmişlerdir. Primer akciğer kanserinde TERT ekspresyonunun yüksek olduğu ve bu

durumun hücre proliferasyonunu tetiklediği gösterilmiştir (Lundberg ve ark., 2002). Bazı kanserlerde kısa telomer uzunluklarının, organ yetmezliklerine neden olduğu ve yaklaşık mortalitenin %90'ından sorumlu olduğu ifade edilmiştir (Dokal, 2000). Beyin tümörleri üzerine yapılan bir çalışmada, Nakatani ve ark. (1997), normal beyin dokusunda telomeraz aktivitesi saptanamazken, habis tümörlerde %81, metastatik tümörlerde ise %100 aktivite gözlemlenmiştir. Telomeraz aktivitesi pozitif olan hastaların takibinde, negatif olanlara göre daha az yaşam sürelerinin olması telomeraz aktivitesinin beyin tümörlerinin tanı ve takibinde kullanılabileceğini desteklemektedir. Meme kanseri ile ilgili yapılan çalışmalarda, Bednarek ve arkadaşları (1997), meme kanserli olguların %95'inde, fibroadenomların ise %20'sinde telomeraz aktivitesi bulunduğunu belirlemişlerdir. Bu sonuçlar, meme kanseri tanısında telomeraz aktivitesinin potansiyel bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Mesane kanseri tanısı almış hastalarda yapılan bir çalışmada, hücre ekstraktlarındaki telomeraz aktivitesi “telomer tekrarı çoğalma protokolü” (TRAP) kullanılarak ölçülmüştür ve telomeraz aktivitesinin hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada ise, telomeraz aktivitesinin mesane kanseri teşhisi konulmasında ve tedaviye verilen yanıtın takip edilmesinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir (Bayramoğlu, 2006).

Yokota ve ekibi (1998) tarafından yürütülen bir çalışmada, kanserli bireylerin idrar örneklerinde telomeraz aktivitesinin, sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek seviyede olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, telomeraz aktivitesinin belirlenmesi sayesinde mesane kanserinin erken aşamalarda teşhis edilebileceği ve erken evre mesane kanserlerinin dahi tanımlanabileceği ileri sürülmüştür. Telomeraz aktivitesinin, mesane kanserinin tanısında kullanışlı, hassas ve spesifik bir belirteç olabileceği sonucuna varılmıştır (Kim ve ark., 1994; Kinoshita ve ark., 1997; Yoshida ve

ark., 1997; Ohyashiki ve ark., 1998; Yokota ve ark., 1998; Ramakumar ve ark., 1999). Prostat kanserinde yapılan bir çalışmada ise örneklerin %90'ında telomeraz pozitif olarak ve normal dokularda ise telomeraz negatif olarak saptanmıştır (Lin ve ark., 1997). Akciğer kanserinde ise TERC geninde genomik amplifikasyonları belirlenmiş ve bu durum kanser gelişimiyle bağdaştırılmıştır (Beroukhi ve ark., 2010; Pelosi ve ark., 2007). Bununla birlikte TERT polimorfizmlerinin akciğer, prostat, serviks ve pankreas kanseri gelişme riskini arttırdığı saptanmıştır (Pooley ve ark., 2010). Bunlar dışında telomer uzunluğu, yaş ve kanser gelişimi arasında bir korelasyon da olabileceği belirtilmektedir. Ters transkriptaz enzimi proteini ekspresyonunun normal hücrelerde düşük seviyede olduğu gösterilmiştir. Fakat germ hücrelerindeki insan tümörlerinin %90'ında yüksek seviyede olduğu ve telomeraz aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (Lantuejoul ve ark., 2007). Biz de çalışmamızda prostat kanserli hastalarda telomeraz düzeylerini sağlıklılara kıyasla yüksek bulduk. Hastalığın evresi yükseldikçe telomeraz düzeylerinde anlamlı artış tespit ettik. Ayrıca Gleason grade gruplamasına göre de hastalığın grade düzeyi arttıkça telomeraz düzeyi de anlamlı derecede artmaktaydı. Hastaların PSA düzeyleri ile telomeraz düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon vardı.

Epidemiyolojik ve klinik veriler, vitamin D'nin yetersiz veya düşük serum seviyeleri ile birden fazla kanserin gelişme riski arasında güçlü bir korelasyon olduğunu öne sürmektedir (Wu ark., 2019). Colston ve ark. (1981) aktif vitamin D'nin tümör hücreleri üzerindeki inhibe edici etkilerine dair ilk kanıtları sunmuştur. Garland ve Garland (2006), Amerika Birleşik Devletleri'nde kolon kanserinden kaynaklanan ölümlerin coğrafi dağılımını incelediklerinde, kolon kanserinin vitamin D eksikliği ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. Ölüm oranlarının, büyük şehirler veya yüksek enlemlerde olduğu gibi doğal ışığın düşük olduğu bölgelerde daha yüksek olduğunu

bildirmişlerdir. Süreç içerisinde birçok in vitro ve in vivo çalışma gerçekleştirilmiş ve D vitaminin antikanser özellikleri bildirilmiştir (Wang ve ark., 2012; Fleet ve ark., 2012; Wang ve ark., 2012; Haussler ve ark., 2013; Feldman ve ark., 2014; O'Brien ve ark., 2017; Vaughan-Shaw ve ark., 2017; Jeon ve Shin, 2018). Kanser önleme ve tedavisindeki vitamin D'nin faydalı etkilerinin epidemiyolojik ve ön klinik çalışmalarda gözlemlenmesi nedeniyle, bu antikanser etkilerini açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Artan veriler, vitamin D'nin tüm tümör oluşum sürecini, başlangıçtan metastaza ve hücre-çevre etkileşimlerine kadar düzenleyebileceğini öne sürmektedir (Giammanco ve ark., 2015). Bu mekanizmalar, proliferasyon, farklılaşma, apoptoz ve epitelyal-mesenkimal geçiş (EMT) gibi hücre davranışlarının düzenlenmesini ve aynı zamanda anjiyogenez, antioksidanlar, iltihap ve bağışıklık sistemi gibi hücre-çevre etkileşimlerinin modülasyonunu içerir. Biz de çalışmamızda prostat kanserli hastalarda D vitamini düzeylerini sağlıklılara kıyasla düşük bulduk. Hastalığın evresi yükseldikçe D vitamini düzeylerinde anlamlı düşüklük tespit ettik. Ayrıca Gleason grade gruplamasına göre de hastalığın grade düzeyi arttıkça D vitamini düzeyi de anlamlı derecede azalmaktaydı. Hastaların PSA düzeyleri ile D vitamini düzeyleri arasında negatif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon vardı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada;

Hasta grubunun mTOR düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.001$).

Hasta grubunun telomeraz düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir ($p=0.011$).

Hasta grubunun D vitamin düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.001$).

Hastalığın evresi yükseldikçe serum mTOR, telomeraz ve PSA düzeyleri anlamlı bir artış gösterirken, D vitamini düzeyinde ise anlamlı derecede azalma belirlenmiştir ($p<0.001$ hepsi için).

Prostat kanserli hastalar Gleason grade açısından gruplandırıldığında, Gleason grade derecesi arttıkça serum mTOR, telomeraz ve PSA düzeylerinin anlamlı derecede arttığı, D vitamini düzeyinin ise anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir ($p<0.001$ hepsi için).

Serum mTOR düzeyleri için Cut off değeri 608.09 ng/mL alındığında prostat kanserli vakaları sağlıklı bireylerden ayırt etmede duyarlılığı %82, özgüllüğü %73 olarak bulunmuştur.

Telomeraz düzeyleri için Cut off değeri 21.49 IU/mL alındığında prostat kanserli vakaları sağlıklı bireylerden ayırt etmede duyarlılığı %80, özgüllüğü %63 olarak bulunmuştur.

Serum D vitamini düzeyleri için Cut off değeri 41.5 ng/mL alındığında prostat kanserli vakaları sağlıklı bireylerden ayırt etmede duyarlılığı %78, özgüllüğü %82 olarak bulunmuştur.

Hastaların PSA düzeyleri ile mTOR ve telomeraz düzeyleri arasında pozitif yönde anlamlı ve güçlü; D vitamini düzeyleri ile arasında ise negatif yönde anlamlı ve güçlü bir korelasyon tespit edilmiştir.

Bulgularımız mTOR, telomeraz ve D vitamini düzeyinin prostat kanserinde, ilerlemiş hastalığın belirteci olmaya aday olduğunu göstermektedir. Ancak bu belirteçlerin düzeyinin prostat kanserli hastaların teşhis, evre tayini ve prognozu değerlendirmede önemini ortaya koymak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

- Abida, W., Cyrt, J., Heller, G., Prandi, D., Armenia, J., Coleman, I., ... & Sawyers, C. L. 2019. Genomic correlates of clinical outcome in advanced prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(23), 11428-11436.
- AG, B. 1998. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science*, 16, 334-335.
- Ahonen, M. H., Tenkanen, L., Teppo, L., Hakama, M., & Tuohimaa, P. 2000. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes & Control*, 11, 847-852.
- Akkoyun, H., Bayramoğlu, M., Suat, E. K. İ. N., & Çelebi, F. 2014. D vitamini ve metabolizma için önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9(3).
- Alessi, D. R., James, S. R., Downes, C. P., Holmes, A. B., Gaffney, P. R., Reese, C. B., & Cohen, P. 1997. Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase Ba. *Current biology*, 7(4), 261-269.
- Apperly, F. L. 1941. The relation of solar radiation to cancer mortality in North America. *Cancer research*, 1(3), 191-195.
- Armenia, J., Wankowicz, S. A., Liu, D., Gao, J., Kundra, R., Reznik, E., ... & Van Allen, E. M. 2018. The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. *Nature genetics*, 50(5), 645-651.
- Balasubramanian, S., Hurley, L. H., & Neidle, S. 2011. Targeting G-quadruplexes in gene promoters: a novel anticancer strategy?. *Nature reviews Drug discovery*, 10(4), 261-275.
- Bernhardt, S. L., Gjertsen, M. K., Trachsel, S., Møller, M., Eriksen, J. A., Meo, M., ... & Gaudernack, G. 2006. Telomerase peptide vaccination of patients with non-

- resectable pancreatic cancer: a dose escalating phase I/II study. *British journal of cancer*, 95(11), 1474-1482.
- Bertone-Johnson, E. R., Chen, W. Y., Holick, M. F., Hollis, B. W., Colditz, G. A., Willett, W. C., & Hankinson, S. E. 2005. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 14(8), 1991-1997.
- Bethel, C. R., Faith, D., Li, X., Guan, B., Hicks, J. L., Lan, F., ... & De Marzo, A. M. 2006. Decreased NKX3. 1 protein expression in focal prostatic atrophy, prostatic intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma: association with gleason score and chromosome 8p deletion. *Cancer research*, 66(22), 10683-10690.
- Bikle, D. 2009. Nonclassic actions of vitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(1), 26-34.
- Bikle, D. D. 2016. Extraskelatal actions of vitamin D. *Annals of the New York academy of sciences*, 1376(1), 29-52.
- Blackburn, E. H., & Challoner, P. B. 1984. Identification of a telomeric DNA sequence in Trypanosoma brucei. *Cell*, 36(2), 447-457.
- Blasco, M. A., Lee, H. W., Hande, M. P., Samper, E., Lansdorp, P. M., DePinho, R. A., & Greider, C. W. 1997. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*, 91(1), 25-34.
- Bouillon, R., Carmeliet, G., Verlinden, L., Van Etten, E., Verstuyf, A., Luderer, H. F., ... & Demay, M. 2008. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocrine reviews*, 29(6), 726-776.
- Brawer, M. K., Chetner, M. P., Beatie, J., Buchner, D. M., Vessella, R. L., & Lange, P. H. 1992. Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen. *The Journal of urology*, 147(3), 841-845.

- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424.
- Carpenter, C. L., Auger, K. R., Chanudhuri, M., Yoakim, M., Schaffhausen, B., Shoelson, S., & Cantley, L. C. 1993. Phosphoinositide 3-kinase is activated by phosphopeptides that bind to the SH2 domains of the 85-kDa subunit. *Journal of biological chemistry*, 268(13), 9478-9483.
- Castelo-Branco, P., Choufani, S., Mack, S., Gallagher, D., Zhang, C., Lipman, T., ... & Tabori, U. 2013. Methylation of the TERT promoter and risk stratification of childhood brain tumours: an integrative genomic and molecular study. *The lancet oncology*, 14(6), 534-542.
- Catalona, W. J., Richie, J. P., Ahmann, F. R., M'Liss, A. H., Scardino, P. T., Flanigan, R. C., ... & Southwick, P. C. 1994. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *The Journal of urology*, 151(5), 1283-1290.
- Cerami, E., Gao, J., Dogrusoz, U., Gross, B. E., Sumer, S. O., Aksoy, B. A., ... & Schultz, N. 2012. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer discovery*, 2(5), 401-404.
- Chan, T. O., Rodeck, U., Chan, A. M., Kimmelman, A. C., Rittenhouse, S. E., Panayotou, G., & Tsichlis, P. N. 2002. Small GTPases and tyrosine kinases coregulate a molecular switch in the phosphoinositide 3-kinase regulatory subunit. *Cancer cell*, 1(2), 181-191.

- Chiappori, A. A., Kolevska, T., Spigel, D. R., Hager, S., Rarick, M., Gadgeel, S., ... & Schiller, J. H. 2015. A randomized phase II study of the telomerase inhibitor imetelstat as maintenance therapy for advanced non-small-cell lung cancer. *Annals of oncology*, 26(2), 354-362.
- Chin, L., Artandi, S. E., Shen, Q., Tam, A., Lee, S. L., Gottlieb, G. J., ... & DePinho, R. A. 1999. p53 deficiency rescues the adverse effects of telomere loss and cooperates with telomere dysfunction to accelerate carcinogenesis. *Cell*, 97(4), 527-538.
- Cho, S. D., Jiang, C., Malewicz, B., Dong, Y., Young, C. Y., Kang, K. S., ... & Lü, J. 2004. Methyl selenium metabolites decrease prostate-specific antigen expression by inducing protein degradation and suppressing androgen-stimulated transcription. *Molecular cancer therapeutics*, 3(5), 605-612.
- Cohen, S. B., Graham, M. E., Lovrecz, G. O., Bache, N., Robinson, P. J., & Reddel, R. R. 2007. Protein composition of catalytically active human telomerase from immortal cells. *Science*, 315(5820), 1850-1853.
- Counter, C. M., Meyerson, M., Eaton, E. N., Ellisen, L. W., Caddle, S. D., Haber, D. A., & Weinberg, R. A. 1998. Telomerase activity is restored in human cells by ectopic expression of hTERT (hEST2), the catalytic subunit of telomerase. *Oncogene*, 16(9), 1217-1222.
- De Lange, T. 2005. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes & development*, 19(18), 2100-2110.
- Drygin, D., Siddiqui-Jain, A., O'Brien, S., Schwaebe, M., Lin, A., Bliesath, J., ... & Rice, W. G. 2009. Anticancer activity of CX-3543: a direct inhibitor of rRNA biogenesis. *Cancer research*, 69(19), 7653-7661.

- Duman, İ., & İsmail, Ü. N. 2019. Sekosteroid hormon olarak D vitamini ve kanser ilişkisi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 9(1), 19-29.
- Edlind, M. P., & Hsieh, A. C. 2014. PI3K-AKT-mTOR signaling in prostate cancer progression and androgen deprivation therapy resistance. *Asian journal of andrology*, 16(3), 378.
- Engel, P., Fagherazzi, G., Boutten, A., Dupre, T., Mesrine, S., Boutron-Ruault, M. C., & Clavel-Chapelon, F. 2010. Serum 25 (OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention*, 19(9), 2341-2350.
- Fan, X., Wang, Y., Kratz, J., Brat, D. J., Robitaille, Y., Moghrabi, A., ... & Eberhart, C. G. 2003. hTERT gene amplification and increased mRNA expression in central nervous system embryonal tumors. *The American journal of pathology*, 162(6), 1763-1769.
- Feijoo, P., Dominguez, D., Tusell, L., & Genesca, A. 2014. Telomere-dependent genomic integrity: evolution of the fusion-bridge-breakage cycle concept. *Current Pharmaceutical Design*, 20(41), 6375-6385.
- Feldman, D., Krishnan, A. V., Swami, S., Giovannucci, E., & Feldman, B. J. 2014. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature reviews cancer*, 14(5), 342-357.
- Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M., ... & Bray, F. 2018. Global cancer observatory: cancer today. *Lyon, France: international agency for research on cancer*, 3(20), 2019.
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., ... & Bray, F. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major

- patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer*, 136(5), E359-E386.
- Fleet, J. C., Desmet, M., Johnson, R., & Li, Y. 2012. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochemical Journal*, 441(1), 61-76.
- Fumagalli, M., Rossiello, F., Clerici, M., Barozzi, S., Cittaro, D., Kaplunov, J. M., ... & d'Adda di Fagagna, F. 2012. Telomeric DNA damage is irreparable and causes persistent DNA-damage-response activation. *Nature cell biology*, 14(4), 355-365.
- Gao, J., Aksoy, B. A., Dogrusoz, U., Dresdner, G., Gross, B., Sumer, S. O., ... & Schultz, N. 2013. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Science signaling*, 6(269), p11-p11.
- Garland, C. F., & Garland, F. C. 1980. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer?. *International journal of epidemiology*, 9(3), 227-231.
- Garland, C., Garland, F., Shaw, E., Comstock, G., Helsing, K., & Gorham, E. 1989. Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer: eight-year prospective study. *The Lancet*, 334(8673), 1176-1178.
- Gewinner, C., Wang, Z. C., Richardson, A., Teruya-Feldstein, J., Etemadmoghadam, D., Bowtell, D., ... & Cantley, L. C. 2009. Evidence that inositol polyphosphate 4-phosphatase type II is a tumor suppressor that inhibits PI3K signaling. *Cancer cell*, 16(2), 115-125.
- Giammanco, M., Di Majo, D., La Guardia, M., Aiello, S., Crescimannno, M., Flandina, C., ... & Leto, G. 2015. Vitamin D in cancer chemoprevention. *Pharmaceutical biology*, 53(10), 1399-1434.
- Giovannucci, E. 2008. Vitamin D status and cancer incidence and mortality. *Sunlight, vitamin D and skin cancer*, 31-42.

- Graham, M. K., & Meeker, A. 2017. Telomeres and telomerase in prostate cancer development and therapy. *Nature Reviews Urology*, 14(10), 607-619.
- Grasso, C. S., Wu, Y. M., Robinson, D. R., Cao, X., Dhanasekaran, S. M., Khan, A. P., ... & Tomlins, S. A. 2012. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature*, 487(7406), 239-243.
- Griffith, J. D., Comeau, L., Rosenfield, S., Stansel, R. M., Bianchi, A., Moss, H., & De Lange, T. 1999. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*, 97(4), 503-514.
- Guo, C., Armbruster, B. N., Price, D. T., & Counter, C. M. 2003. In vivo regulation of hTERT expression and telomerase activity by androgen. *The Journal of urology*, 170(2), 615-618.
- Gurel, B., Iwata, T., Koh, C. M., Jenkins, R. B., Lan, F., Van Dang, C., ... & De Marzo, A. M. 2008. Nuclear MYC protein overexpression is an early alteration in human prostate carcinogenesis. *Modern pathology*, 21(9), 1156-1167.
- Hackett, J. A., Feldser, D. M., & Greider, C. W. 2001. Telomere dysfunction increases mutation rate and genomic instability. *Cell*, 106(3), 275-286.
- Hanchette, C. L., & Schwartz, G. G. 1992. Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation. *Cancer*, 70(12), 2861-2869.
- Hasegawa, D., Okabe, S., Okamoto, K., Nakano, I., Shin-ya, K., & Seimiya, H. 2016. G-quadruplex ligand-induced DNA damage response coupled with telomere dysfunction and replication stress in glioma stem cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 471(1), 75-81.
- Hayflick, L. 1965. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Experimental cell research*, 37(3), 614-636.

- Hayflick, L., & Moorhead, P. S. 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental cell research*, 25(3), 585-621.
- Houghtaling, B. R., Cuttonaro, L., Chang, W. & Smith, S. 2004. A dynamic molecular link between the telomere length regulator TRF1 and the chromosome end protector TRF2. *Curr. Biol.* 14, 1621–1631.
- Huang, P. 2008. Direct and distant antitumor effects of a telomerase-selective oncolytic adenoviral agent, OBP-301, in a mouse prostate cancer model. *Cancer Gene Ther.* 15, 315–322.
- Jeon, SM., Shin, EA. 2018. Kanserde D vitamini metabolizmasını ve işlevini keşfetmek. *Exp Mol Med* 50 , 1–14, <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0038-9>
- Jiang BH, Liu LZ. 2009. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. *Advances In Cancer Research*, 102, 19-65
- Jones, M. 2016. The shelterin complex and hematopoiesis. *J. Clin. Invest.* 126, 1621–1629.
- Kilian, A. 1997. Isolation of a candidate human telomerase catalytic subunit gene, which reveals complex splicing patterns in different cell types. *Hum. Mol. Genet.* 6, 2011–2019.
- Killela, P. J. 2013. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 110, 6021–6026.
- Kovtun, I. V., Murphy, S. J., Johnson, S. H., Cheville, J. C. & Vasmataz, G. 2015. Chromosomal catastrophe is a frequent event in clinically insignificant prostate cancer. *Oncotarget* 6, 29087–29096.

- Küçüköner, M., Işıkdöğün, A. 2013. Kanser tedavisinde mTOR sinyal yolağı ve mTOR inhibitörleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 40 (1): 156-160 doi: 10.5798/diclemedj.0921.2013.01.0248
- Lemmon, MA. 2007. Pleckstrin homology (PH) domains and phosphoinositides. *Biochem Soc Symp*; 74: 81–93.
- Levy, M. Z., Allsopp, R. C., Futcher, A. B., Greider, C. W. & Harley, C. B. 1992. Telomere end-replication problem and cell aging. *J. Mol. Biol.* 225, 951–960.
- Liu, D. 2004. PTP interacts with POT1 and regulates its localization to telomeres. *Nat. Cell Biol.* 6, 673–680.
- Liu, S. 2010. Telomerase as an important target of androgen signaling blockade for prostate cancer treatment. *Mol. Cancer Ther.* 9, 2016–2025.
- Ma, Y., Trump, D. L. & Johnson, C. S. 2010. Vitamin D in combination cancer treatment. *J. Cancer* 1, 101–107.
- Maciejowski, J., Li, Y., Bosco, N., Campbell, P. J. & de Lange, T. 2015. Chromothripsis and kataegis induced by telomere crisis. *Cell* 163, 1641–1654.
- Majumder PK, Yeh JJ, George DJ, Febbo PG, Kum J. 2003. Prostate intraepithelial neoplasia induced by prostate restricted Akt activation: The MPAKT model. *Proc Natl Acad Sci*; 100: 7841–6.
- Malhotra, A. 2013. Breakpoint profiling of 64 cancer genomes reveals numerous complex rearrangements spawned by homology-independent mechanisms. *Genome Res.* 23, 762–776.
- Manning BD, Cantley LC. 2007. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*; 129: 1261–74
- McClintock, B. 1941. The stability of broken ends of chromosomes in *Zea Mays*. *Genetics* 26, 234–282.

- Meeker, A. K., Sommerfeld, H. J. & Coffey, D. S. 1996. Telomerase is activated in the prostate and seminal vesicles of the castrated rat. *Endocrinology* 137, 5743–5746.
- Mehta, R. G., Peng, X., Alimirah, F., Murillo, G. & Mehta, R. 2013. Vitamin D and breast cancer: emerging concepts. *Cancer Lett.* 334, 95–100.
- Middleton, G. 2014. Gemcitabine and capecitabine with or without telomerase peptide vaccine GV1001 in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer (TeloVac): an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 15, 829–840.
- Moehren, U., Papaioannou, M., Reeb, C., Grasselli, A., Nanni, S., Asim, M., Roell, D., Prade, I., Farsetti, A., & Baniahmad, A. 2008. Wild-type but not mutant androgen receptor inhibits expression of the hTERT telomerase subunit: a novel role of AR mutation for prostate cancer development. *FASEB Journal*, 22, 1258-1267.
<https://doi.org/10.1096/fj.07-9360com>
- Mokhtari, Z., Hekmatdoost, A., & Nourian, M. 2017. Antioxidant efficacy of vitamin D. *Journal of Parathyroid Disease*, 5(1), 11-6
- Moyzis, R. K., Buckingham, J. M., Cram, L. S., Dani, M., Deaven, L. L., Jones, M. D., Meyne, J., Ratliff, R. L., & Wu, J. R. 1988. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(18), 6622–6626. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.18.6622>
- Nakamura, T. M., Morin, G. B., Chapman, K. B., Weinrich, S. L., Andrews, W. H., Lingner, J., Harley, C. B., & Cech, T. R. 1997. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science* (New York, N.Y.), 277(5328), 955–959. <https://doi.org/10.1126/science.277.5328.955>
- National Cancer Institute, Bethesda, MD. 2016. https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/.

- Nemunaitis, J., Tong, A. W., Nemunaitis, M., Senzer, N., Phadke, A. P., Bedell, C., Adams, N., Zhang, Y. A., Maples, P. B., Chen, S., Pappen, B., Burke, J., Ichimaru, D., Urata, Y., & Fujiwara, T. 2010. A phase I study of telomerase-specific replication competent oncolytic adenovirus (telomelysin) for various solid tumors. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*, 18(2), 429–434. <https://doi.org/10.1038/mt.2009.262>
- Nieto, C. M., Rider, L. C. & Cramer, S. D. 2014. Influence of stromal-epithelial interactions on androgen action. *Endocr. Relat. Cancer* 21, T147–160.
- Özcan, Ö, Dikmen, D. 2015. Kanser Tedavisinde mTOR İnhibitörleri. *Marmara Pharmaceutical Journal* 19: 290-297, 10.12991/mpj.201519394607
- Pandolfi, F., Franza, L., Mandolini, C., & Conti, P. 2017. Immune Modulation by Vitamin D: Special Emphasis on Its Role in Prevention and Treatment of Cancer. *Clinical therapeutics*, 39(5), 884–893. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.03.012>
- Panigrahi, G. K., Praharaj, P. P., Kittaka, H., Mridha, A. R., Black, O. M., Singh, R., Mercer, R., van Bokhoven, A., Torkko, K. C., Agarwal, C., Agarwal, R., Abd Elmageed, Z. Y., Yadav, H., Mishra, S. K., & Deep, G. 2019. Exosome proteomic analyses identify inflammatory phenotype and novel biomarkers in African American prostate cancer patients. *Cancer medicine*, 8(3), 1110–1123. <https://doi.org/10.1002/cam4.1885>
- Peifer, M., Hertwig, F., Roels, F., Dreidax, D., Gartlgruber, M., Menon, R., Krämer, A., Roncaioli, J. L., Sand, F., Heuckmann, J. M., Ikram, F., Schmidt, R., Ackermann, S., Engesser, A., Kahlert, Y., Vogel, W., Altmüller, J., Nürnberg, P., Thierry-Mieg, J., Thierry-Mieg, D., ... Fischer, M. 2015. Telomerase activation by genomic rearrangements in high-risk neuroblastoma. *Nature*, 526(7575), 700–704. <https://doi.org/10.1038/nature14980>

- Perdana NR, Mochtar CA, Umbas R, Hamid AR. 2016. The Risk Factors of Prostate Cancer and Its Prevention: A Literature Review. *Acta Med Indones*; 48(3):228–238.
- Prostat Kanseri Klinik Protokolü. 2017. Sağlık Teknolojisi Değerlendirme Daire Başkanlığı https://www.saglikaktuel.com/d/file/prostat_ca_20_09_1.pdf
- Ravindranath, N., Ioffe, S. L., Marshall, G. R., Ramaswamy, S., Plant, T. M., & Dym, M. 2001. Androgen depletion activates telomerase in the prostate of the nonhuman primate, *Macaca mulatta*. *The Prostate*, 49(1), 79–89. <https://doi.org/10.1002/pros.1120>
- Reddy, V., Wu, M., Ciavattone, N., McKenty, N., Menon, M., Barrack, E. R., Reddy, G. P., & Kim, S. H. 2015. ATM Inhibition Potentiates Death of Androgen Receptor-inactivated Prostate Cancer Cells with Telomere Dysfunction. *The Journal of biological chemistry*, 290(42), 25522–25533. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.671404>
- Renaud, S., Loukinov, D., Abdullaev, Z., Guilleret, I., Bosman, F. T., Lobanenko, V., & Benhattar, J. 2007. Dual role of DNA methylation inside and outside of CTCF-binding regions in the transcriptional regulation of the telomerase hTERT gene. *Nucleic acids research*, 35(4), 1245–1256. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl1125>
- Robinson, D., Van Allen, E. M., Wu, Y. M., Schultz, N., Lonigro, R. J., Mosquera, J. M., Montgomery, B., Taplin, M. E., Pritchard, C. C., Attard, G., Beltran, H., Abida, W., Bradley, R. K., Vinson, J., Cao, X., Vats, P., Kunju, L. P., Hussain, M., Feng, F. Y., Tomlins, S. A., ... Chinnaiyan, A. M. 2015. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell*, 161(5), 1215–1228. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.001>

- Rodriguez-Viciano P, Warne PH, Dhand R, Vanhaesebroeck B, Gout I. 1994. Phosphatidylinositol-3-OH kinase as a direct target of Ras. *Nature* 1994; 370: 527–32.
- Rousseau, P. & Autexier, C. 2015. Telomere biology: Rationale for diagnostics and therapeutics in cancer. *RNA Biol.* 12, 1078–1082 .
- Samassekou, O., Gadji, M., Drouin, R. & Yan, J. 2010. Sizing the ends: normal length of human telomeres. *Ann. Anat.* 192, 284–291.
- Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, Sabatini DM. 2005. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science*; 307: 1098–101.
- Shorning BY, Dass MS, Smalley MJ, Pearson HB. The PI3K-AKT-mTOR Pathway and Prostate Cancer: At the Crossroads of AR, MAPK, and WNT Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(12):4507. <https://doi.org/10.3390/ijms21124507>
- Skolnik EY, Margois B, Mohammadi M, Lowenstein E, Fischer R, 1991. Cloning of PI3 kinase-associated p85 utilizing a novel method for expression/cloning of target proteins for receptor tyrosine kinases. *Cell*; 65: 83–90.
- Stephens L, Smrcka A, Cooke FT, Jackson TR, Sternweis PC, 1994. A novel phosphoinositide 3 kinase activity in myeloid-derived cells is activated by G protein beta-gamma subunits. *Cell*; 77: 83–93.
- Stoehr, R. 2015. Frequency of TERT Promoter Mutations in Prostate Cancer. *Pathobiology* 82, 53–57.
- T.C. Sağlık Bakanlığı. Sağlık istatistikleri yılığı 2018. [online]. URL: https://ohsad.org/wpcontent/uploads/2020/01/SB_istatistik-y%C4%B1ll%C4%B1%C4%9F%C4%B1-2018.pdf

- Taylor, B.S.; Schultz, N.; Hieronymus, H.; Gopalan, A.; Xiao, Y.; Carver, B.S.; Arora, V.K.; Kaushik, P.; Cerami, E.; Reva, B. 2010. Integrative Genomic Profiling of Human Prostate Cancer. *Cancer Cell*, 18, 11–22.
- Thompson, S. J. et al. 1992. P53 and Ki-67 immunoreactivity in human prostate cancer and benign hyperplasia. *Br. J. Urol.* 69, 609–613.
- Totoki, Y. et al. Trans-ancestry mutational landscape of hepatocellular carcinoma genomes. *Nat. Genet.* 46, 1267–1273 (2014).
- Tretli, S., Hernes, E., Berg, J. P., Hestvik, U. E. & Røksahm, T. E. Association between serum 25(OH)D and death from prostate cancer. *Br. J. Cancer* 100, 450–454 (2009).
- Tu, L. 2016. Widespread telomere instability in prostatic lesions. *Mol. Carcinog.* 55, 842–852.
- Valentijn, L. J. et al. 2015. TERT rearrangements are frequent in neuroblastoma and identify aggressive tumors. *Nat. Genet.* 47, 1411–1414 (2015)
- Vaziri, H. & Benchimol, S. 1998. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Curr. Biol.* 8, 279–282.
- Vinagre, J. et al. 2013. Frequency of TERT promoter mutations in human cancers. *Nat. Commun.* 4, 2185.
- Vivanco I, Sawyers CL. 2002. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2(7), 489-501
- von Zglinicki, T., Saretzki, G., Ladhoff, J., d’Adda di Fagagna, F. & Jackson, S. P. 2005. Human cell senescence as a DNA damage response. *Mech. Ageing Dev.* 126, 111–117.

- Vukovic, B. et al. 2007. Correlating breakage-fusion-bridge events with the overall chromosomal instability and in vitro karyotype evolution in prostate cancer Cytogenet. *Genome Res.* 116, 1–11.
- Wang, H. et al. 2017. Vitamin D and chronic diseases. *Aging Dis.* 8, 346–353.
- Watson, J. D. 1972. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat. New Biol.* 239, 197–201.
- Whayne TF. 2011. Vitamin D: Popular Cardiovascular Supplement But Benefit Must Be Evaluated. *Int J Angiol.* 2011 Jun; 20(2): 63–72.
- Wong KK, Engelman JA, Cantley LC. 2010. Targeting the PI3K signaling pathway in cancer. *Current Opinion in Genetics & Development*, 20(1), 87-90.
- Xi, L. & Cech, T. R. 2014. Inventory of telomerase components in human cells reveals multiple subpopulations of hTR and hTERT. *Nucleic Acids Res.* 42, 8565–8577.
- Ye, J. Z. et al. 2004. POT1-interacting protein PIP1: a telomere length regulator that recruits POT1 to the TIN2/TRF1 complex. *Genes Dev.* 18, 1649–1654.
- Yekaterina Y. Zaytseva, Joseph D. Valentino, Pat Gulhati, B. 2012. Mark Evers. mTOR inhibitors in cancer therapy. *Cancer Letters* 2012:319:1-7.
- Yencilek, F., Koca, O., & Kuru, M. 2018. Prostat kanserinde tanı. *Nucl Med Semin*, 4(3), 163-173.
- Zack, T. I. et al. 2013. Pan-cancer patterns of somatic copy number alteration. *Nat. Genet.* 45, 1134–1140.
- Zhang, R. & Naughton, D. P. 2010. Vitamin D in health and disease: current perspectives. *Nutr. J.* 9, 65.
- Zhang, A. et al. 2002. Amplification of the telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene in cervical carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 34, 269–275.
- Zhu, C. Q. et al. 2006. Amplification of telomerase (hTERT) gene is a poor prognostic marker in non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer* 94, 1452–1459 (2006).

Zou, Y., Sfeir, A., Gryaznov, S. M., Shay, J. W. & Wright, W. E. 2004. Does a sentinel or a subset of short telomeres determine replicative senescence? *Mol. Biol. Cell* 15, 3709–3718.



EKLER

EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Bayram ALKAN
Öğrencinin Numarası	20023901002
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyokimya
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 3	% 15
II. Genel Bilgiler	% 16	% 35
III. Materyal ve Metod	% 14	% 35
IV. Bulgular	% 9	% 15
V. Tartışma	% 20	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Bayram ALKAN	Doç.Dr. Esra LALOĞLU
20.12.2023	20.12.2023
İmza:	İmza:

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



Bölümü : Dekanlık
Servisi : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/326
Konu : Etik Kurul Kararı

31.03.2022

Sayın: Dr. Öğr. Üyesi Esra LALOĞLU
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz
"Prostat Kanserli Hastalarda MTOR,Telomeraz ve D Vitamini Seviyelerinin
Belirlenmesi" isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Mustafa GÜL
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı

Sorumlu Araştırmacı :
1. Dr. Öğr. Üyesi Esra LALOĞLU

Yardımcı Araştırmacı :
1. Doç. Dr. Hilal KIZILTUNÇ ÖZMEN
2. Dr. Bayram ALKAN
3. Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU**



KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	+90 442 234 65 11
	FAKS	+90 442 236 09 68
	E-POSTA	atatipetikkurul@gmail.com
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Dr. Öğr. Üyesi Esra LALOĞLU
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Prostat Kanseri Hastalarda MTOR,Telomeraz ve D Vitamini Seviyelerinin Belirlenmesi
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı: 3 Karar No: 76	Tarih:31.03.2022
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin BAP tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	