T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KANSERLİ OLAN VE KANSER SAPTANMAYAN PROSTAT DOKULARINDA CUTIBACTERIUM ACNES VE BACTEROIDES FRAGILIS SIKLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI

EDİP TOKUÇ

DANIŞMAN
PROF.DR. HRİSİ BAHAR TOKMAN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2020

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ - CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
TEZ SAVUNMA SINAV TUTANAĞI

ÖĞRENCİNİN

Numarası : 2701170347
Adı Soyadı : Edip Tokuç
Anabilim Dalı :Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Programı :Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
Tez Savunma Sınav Tarihi :13.01.2021
Tez Savunma Sınav Saati : 11:00
Öğretim Yılı/Dönemi : 2020-2021 Güz

MEVCUT TEZİN

Tez Adı	KANSERLİ OLAN VE KANSER SAPTANMAYAN PROSTAT DOKULARINDA CUTIBACTERIUM ACNES VE BACTEROIDES FRAGILIS SIKLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI
Yabancı Dilde Tez Adı	Comparison Of The Frequency Of Cutibacterium Acnes And Bacteroides Fragilis In Benign And Malign Prostate Tissues

Yukarıda bilgileri sunulan öğrencinin tez savunma sınavı "İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'ne uygun olarak yapılmış ve jüri OY BİRLİĞİ ile tezin KABULÜNE karar vermiştir.

JÜRİ TARAFINDAN DÜZELTİLEN TEZİN

Tez Adı	
Yabancı Dilde Tez Adı	

Prof. Dr. HRİSİ BAHAR TOKMAN
Danışman

Prof. Dr. ÖMER KÜÇÜKBASMACI
Jüri Üyesi

Prof. Dr. BETİGÜL ÖNGEN
Jüri Üyesi

BEYAN

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

Edip Tokuç (İmza)



İTHAF

Aileme ve Hocama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca gelişmemde emeği olan ve bilgilerinden yararlandığım, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI'ya engin teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde büyük emeği olan, bilgi ve tecrübeleri ile beni yetiştiren, her zaman destekleyerek eğitimime büyük katkı sağlayan, örnek aldığım danışman hocam, Prof. Dr. Hrisi Bahar TOKMAN'a çok teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca üzerimde çok emekleri olan hocalarım, Prof. Dr. Bekir Sami KOCAZEYBEK, Prof. Dr. Gökhan AYGÜN, Prof. Dr. Arif KAYGUSUZ, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof. Dr. Kenan MİDİLLİ, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR, Prof. Dr. Sevgi ERGİN, Doç. Dr. Erdal POLAT, Doç. Dr. Suat SARIBAŞ ve Dr. Mert A. KUŞKUCU'ya ayrı ayrı teşekkür ederim.

Tez çalışmam için örneklerin alınmasında tüm imkanları sağlayan Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Nur Ahmet ERÖZENCİ'ye ve Asistan Dr. Uğur AFERİN, Asistan Dr. Birgi ERCİLİ, Asistan Dr. Ahmet GÜRBÜZ başta olmak üzere, emeği geçen Üroloji Anabilim Dalı tüm asistan doktorları ve hemşirelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam için gereken patoloji bilgilerine ulaşmamda tüm imkanları bana sağlayan, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. İclal GÜRSES'e ve asistan Dr. Deniz TÜZÜN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecimde, bilgi ve deneyimleri ile bana hep destek olan, Uz. Dr. Yeşim ÖZTÜRK BAKAR'a, Msc. Zeynep TANER'e ve her zaman yanımda olan değerli arkadaşım Biyolog Özge AKSU'ya çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince desteklerini gördüğüm, Anabilim dalımız asistanlarına ve Tıbbi Mikrobiyoloji Merkez Laboratuvarı personeline çok teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda olan canım annem ve babam Ranya ve İlyas TOKUÇ'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma,İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.Proje No:33684

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... İX
ŞEKİLLER LİSTESİ X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... Xİ
ÖZET ..... XİV
ABSTRACT XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Tarihçe 3
2.2. Prostat Bezinin Anatomisi 3
2.3. Prostat Bezinin Histolojisi 4
2.4. Prostat Bezinin Fizyolojisi 5
2.5. Prostat Kanserinin Epidemiyolojisi 5
2.5.1. Prostat Kanserinin Prevalansı ve İnsidansı 5
2.5.2. Prostat Kanserinde Mortalite 6
2.5.3. Prostat Kanserinde Sağkalım 7
2.5.4. Etiyoloji ve Risk Faktörleri 8
2.5.5. Yaş 8
2.5.6. Etnik Köken 8
2.5.7. Aile Öyküsü ve Genetik Faktörler 8
2.6. Prostat Kanseri Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Testler 9
2.7. Prostatit 10
2.7.1. Granülomatöz Prostatit 11
2.7.2. Prostat Apsesi 12
2.8. Prostat İnflamasyonunda İmmünolojik Yolaklar 12
2.8.1. Kronik İnflamasyon ve Prostat Kanseri 15

2.9. Erkek Üriner Mikrobiyomu ve Prostat Hastalıkları 17
2.10. Prostat Kanseri ile İlişkili Olduğu Düşünülen Bakteriler 19
2.11. *Cutibacterium acnes* 19
2.11.1. *Cutibacterium acnes* ile Prostat Kanseri İlişkisi 20
2.12. *Bacteroides fragilis* 22
2.12.1. Prostat Kanseri ve *Bacteroides fragilis* 22
2.13. Mikrobiyota Araştırmalarında Kullanılan Teknikler 24
2.13.1. Kültür Temelli Yöntemler 24
2.13.2. Kültür Temelli Olmayan Yöntemler 25
2.13.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) 25
2.13.2.2. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu 26
3. GEREÇ VE YÖNTEM 28
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması 28
3.1.1. Hasta Grubu 28
3.1.2. Kontrol Grubu 28
3.2. Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri 29
3.2.1. Hasta Grubu Dışlanma Ölçütleri 29
3.2.2. Kontrol Grubu Dışlanma Ölçütleri 29
3.3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı 29
3.4. Gereçler 31
3.4.1. Deneylerde Kullanılan Malzemeler 31
3.4.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar 31
3.4.3. Deneylerde Kullanılan Kitler ve Kimyasallar 31
3.4.3.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar ve Ticari Kitler 31
3.4.3.2. Gerçek Zamanlı PZR İçin Mikrobiyal DNA qPCR Assay Kitleri (QIAGEN Microbial DNA qPCR Assay) İçerisinde Bulunan Malzemeler 33
3.5. Yöntemler 34
3.5.1. Hasta ve Kontrollere İlişkili Bilgilerin Toplanması 34
3.5.2. Biyopsilerin Laboratuvara Taşınması ve Saklanması 35
3.5.3. Biyopsilerden Bakteri DNA'sının İzolasyonu 35
3.5.3.1. DNA İzolasyonu 36
3.6. *C. acnes* ve *B. fragilis*'in qPZR İle Kantitasyonun Yapılması 38

3.6.1. DNA Örnekleriyle *C. acnes ve B. fragilis* Mastermiks+Genomik DNA Hazırlama İşlemi 39
3.6.2. Mikrobiyal DNA Pozitif Kontrol 40
3.6.3. Mikrobiyal DNA Negatif Kontrol 40
3.6.4. Mikrobiyal DNA Standart Kontroller 40
3.6.5. Gerçek Zamanlı PZR Uygulanması 40
3.6.5.1. Rotor-Gene Q 5plex HRM Sistemi 40
3.6.6. Amplifikasyon Protokolü 41
3.6.7. Negatif Örneklerin Değerlendirilmesi 42
3.6.8. Pozitif Örneklerin Değerlendirilmesi 42
3.6.9. DNA'lardan Bakteri Kantitasyonu İçin Yapılan İşlemler 43
3.7. İstatistiksel Analiz 43
4. BULGULAR 44
5. TARTIŞMA 50
KAYNAKLAR 58
FORMLAR 77
ETİK KURUL KARARI 79
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 80
ÖZGEÇMİŞ 81

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1: Hasta ve kontrol grubuna ait parametrik bilgiler 30

Tablo 3.2:DNA izolasyon kiti (QIAamp DNA Mini Kit) içinde bulunan malzemeler ve kullanıldıkları aşamalar 32

Tablo 3.3:*C. acnes* mastermiks+genomik DNA hazırlama protokolü 39

Tablo 3.4:*B. fragilis* mastermix+genomik DNA hazırlama protokolü..... 39

Tablo 3.5:*C. acnes* ve *B. fragilis* için uygulanan qPZR çalışma protokolü..... 42

Tablo 4.1: Prostat Kanseri tanısı almış hastalarda ve kontrol grubundaki bireylerde *C. acnes* varlığının s (%) ve miktarlarının (log10bakteri/25mg) karşılaştırılması 44

Tablo 4.2: Prostat Kanseri tanısı almış hastalarda ve kontrol grubundaki bireylerde *B. fragilis* varlığının s (%) ve miktarlarının (log10 bakteri/25mg) karşılaştırılması 45

Tablo 4.3:*C. acnes* varlığının ve miktarlarının (log10 bakteri/25mg) hasta ve kontrol grubunda yaş gruplarına göre karşılaştırılması 46

Tablo 4.4:*B. fragilis* varlığının ve miktarlarının (log10 bakteri/25mg) hasta ve kontrol grubunda yaş gruplarına göre karşılaştırılması 47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Prostat bezinin anatomisi 4
Şekil 2.2:PK ve diğer kanser türlerinin mortalitesi,prevalansı ve insidansı 6
Şekil 2.3: Prostat iltihabının seröz bileşenleri 15
Şekil 3.1:FJ367787.1/B. fragilis 16s ribosomal rRNA gen dizisi 33
Şekil 3.2:NZ_ADJL01000005.1 Cutibacterium acnes 16s ribosomal rRNA gen dizisi 33
Şekil 3.3: Mikrobiyal DNA qPCR Assay primer/probe katolog numaraları ve NCBI veri bankasında yer alan referans numaraları 34
Şekil 3.4: Dokuların mekanik olarak parçalanmasının ardından tüplere ATL tamponu eklenerek tüplerin vortekslenmesi 36
Şekil 3.5: Doku lizis tamponu (ATL) ile vortekslenen tüplere enzim ilavesi ardından 56°C'de 1-3 saat boyunca dokuların inkübasyon bırakılması..... 36
Şekil 3.6:İnkübasyon sonrası dokulara lizis tamponu (AL) ilave edilip vortekslenen tüplerin 70°C 'de 10 dakika boyunca dokuların inkübasyona bırakılması..... 36
Şekil 3.7:Yıkama solüsyonu 1 ile 2 (AW1 ve AW2) ve QIAamp mini spin kolon ve toplama tüpleri..... 37
Şekil 3.8: Dokulardan yıkama solüsyonu (AW1) ile 8000 rpm'de 1 dakika boyunca yabancı maddelerin santrifüj edilerek uzaklaştırılması..... 37
Şekil 3.9: Dokulardan yıkama solüsyonu (AW2) ile 14.000 rpm'de 3 dakika boyunca ve 1 dakika boyunca yabancı maddelerin santrifüj edilerek uzaklaştırılması 37
Şekil 3.10: Dokuların Elüsyon tamponu (AE) ile 8000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj edilmesi ve bakteriyel DNA'ların elde edilmesi 38
Şekil 3.11: Elde edilen Bakteriyel DNA'ların ThermoScientific NanoDrop One cihazı ile derişim ve saflıklarının ölçülmesi..... 38
Şekil 3.12: Mastermiks+genomik DNA hazırlanmasında kullanılan malzemeler 39
Şekil 3.13: Rotor-Gene Q 5plex HRM Sistemi (Qiagen)..... 41
Şekil 4.1: Hastalarda ve kontrollerde *C. acnes* saptanma oranları 44
Şekil 4.2: Hastalarda ve kontrollerde *B. fragilis* saptanma oranları 45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

PIA: Proliferatif İnflamatuar Atrofi

DNA: Deoksiribonükleik Asit

NO: Nitrik oksit

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

TURP: Transüretral Prostat Rezeksiyonu

ETBF: Enterotoksijenik *Bacteroides fragilis*

PK: Prostat Kanseri

PSA: Prostat Spesifik Antijen

BPH:İyi Huylu Prostat Hiperplazisi

IL:İnterlökin

IL-17:IL-17A

IL-17R:IL-17 Reseptörü

Th17: Yardımcı T17 Hücreleri

NF-KB:Nükleer Faktörü K-β

Stat3: Sinyal Dönüştürücü Transkripsiyon Aktivatörü-3

CXC: Cysteine X amino asit-Cysteine

CXCL1: Cysteine X amino asit-Cysteine Ligant 1

CXCR2: Cysteine X amino asit-Cysteine Reseptör 1

USPSTF: Amerika Birleşik Devletleri Koruyucu Hizmetler görev gücü

HPC1: Kalıtsal Prostat Kanseri Geni 1

RNASEL: Ribonükleaz L

IFN:İnterferon

HPC2: Kalıtsal Prostat Kanseri Geni 2

ELAC2: ElaC homolog-2 geni

TGF-β:Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta

SMAD2: Small Mothers Against Decapentaplegic -2

MSR1: Makrofaj Süpürücü Reseptör-1

BRCA1: Meme Kanseri geni-1

BRCA2: Meme Kanseri geni-2

PALB2: Partner And Localizer of BRCA2:Meme Kanseri geni BRCA2'nin ortağı ve yerleştiricisi

AR: Androjen Reseptörü

TRU: Transrektal Ultrasonografi

RNA: Ribonükleik asit

PRR: Patern tanıma reseptörleri

PAMP: Patojen ilişkili moleküler kalıplar

APC: Antijen Sunucu Hücreler

TLR: Toll Benzeri Reseptörler

DAMP: Hasarla İlişkili Moleküler kalıplar

NLRP:NOD benzeri reseptör protein

HIN-200: Hematopoietik İnterferonla İndüklenebilir Nükleer Protein -200

ASC: Apoptozla İlişkili Beneksi Proteinler

ATP: Adenozin Trifosfat

mDNA: Mitokondriyal DNA

HMGB1:Yüksek Hareketlilik Grubu Protein 1

LPS: Lipopolisakkarit

PIN: Prostatik İntraepitelyal Neoplazi

BCL2:B-cell CLL/lymphoma 2 Apoptoz Düzenleyici Proteini

GSTP1: Glutatyon S-Transferaz pi 1

GSTA1: Glutatyon S-Transferaz α1

COX-2:Siklooksijenaz-2

PTGS2: Prostaglandin G/H Sentaz ve Siklooksijenaz-2

ACT:α1-Antikimotripsin

IL-1β:İnterlökin-1β

IL-10:İnterlökin-10

TNF-α:Tümör Nekröz Faktörü-α

IL-6:İnterlökin-6

IL-8:İnterlökin-8

SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi

NIH: Ulusal Sağlık Enstitüsü

CP: Kronik Prostatit

CPPS: Kronik Pelvik Ağrı Sendromu

ÜSE:Üriner Sistem Enfeksiyonu

ABP: Akut Bakteriyel Prostatit

KBP: Kronik Bakteriyel Prostatit

AIP: Asemptomatik İnflamatuvar Prostatit

EC: Epitelyal Hücre

CD3: Farklılaşma Kümesi proteini 3

İEL:İntraepitelyal Lenfosit

PALT: Prostatla İlişkili Lenfoid Doku

PAH: Postatrofik Hiperplazi

HGPIN:Yüksek Dereceli Proliferatif İntraepitelyal Neoplazi

İYE:İdrar Yolu Enfeksiyonu

RecA: Rekombinaz A

PCR: Polymerase Chain Reaction

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

NOD:Nükleotid Bağlayıcı Oligomerizasyon alanı

rRNA: Ribozomal RNA

IL-18:İnterlökin-18

NTBF: Toksijenik Olmayan *Bacteroides fragilis*

CIAP2: Apoptoz 2 Hücresel İnhibitörü

SMO: Smoothened Protein

MAPK: Mitojenler tarafından aktive edilmiş protein kinaz

pH: Hidrojen İyonu Konsantrasyonu

qPCR: Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RT-PZR: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ETBF: Enterotoksijenik *B. fragilis*

NTBF: Nontoksijenik *B. fragilis*

ÖZET

Tokuç, E. Kanserli Olan Ve Kanser Saptanmayan Prostat Dokularında Cutibacterium Acnes Ve Bacteriodes Fragilis Sıklığının Karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,Tıbbi Mikrobiyoloji ABD,Yüksek Lisans Tezi,İstanbul,2020

Prostat kanseri (PK) dünya genelinde erkekler arasında en sık görülen ikinci malignite olarak bildirilmiştir. Son yıllarda çalışmalar Cutibacterium acnes'in prostat karsinogenezinde etkili olabileceğini göstermekte, Bacteroides fragilis'in rolü ise halen araştırılmaktadır.

Çalışmamız, Mayıs 2019-Mayıs 2020 tarihleri arasında histopatolojik incelemeleri sonucunda PK tanısı almış, yaş ortalaması 64,08 ± 6,66 olan 60 hastanın ve kanser ve/veya herhangi başka bir patoloji saptanmamış yaş ortalaması 61,85 ± 5,81 olan 60 bireyin prostat biyopsi örnekleri ile gerçekleştirilmiştir. Biyopsi örneklerinde C. acnes ve B. fragilis varlığı ve miktarı gerçek zamanlı PZR yöntemiyle araştırılmıştır.

Cutibacterium acnes varlığı hastaların 58 (%96,6) kontrollerin ise 39 (%65) biyopsi örneğinde saptanmıştır. Bu bakterinin miktarı hasta grubunda 6,14 ± 1,02 kontrol grubunda ise 4,53 ± 2,63 olarak belirlenmiştir. C. acnes saptanma oranı hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) ancak miktar bakımından gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Yaş grupları dikkate alındığında yalnızca 55-65 yaş aralığındaki hastalarda C. acnes ortalama miktarının kontrollerdekine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p=0,002$). B. fragilis'in hasta grubunda saptanma oran ve miktarı (%15, 2,18 ± 0,22) kontrol grubuna göre (%6,7, 1,79 ± 0,15) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,142$,$p=0,211$). Yaş grupları dikkate alındığında yine benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Bulgularımız, C. acnes'in, özellikle 55-65 yaş aralığındaki hastalarda PK etiyolojisinde rol oynayan bir bakteri olabileceğini B. fragilis'in ise PK etiyolojisinde yer almadığını düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler:Prostat kanseri,Cutibacterium acnes,Bacteroides fragilis, qPZR

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:33684

ABSTRACT

Tokuç, E. Comparison Of The Frequency Of Cutibacterium Acnes And Bacteroides Fragilis In Benign And Malign Prostate Tissues. İstanbul University-Cerrahpasa,Institute of Graduate Studies,Department of Medical Microbiology, Thesis of Master of Science,Istanbul,2020

Prostate cancer (PC) has been reported as the second most common malignancy among men worldwide. Studies in recent years have shown that Cutibacterium acnes may be effective in prostate carcinogenesis, and the role of Bacteroides fragilis is still under investigation.

Our study was conducter between May 2019 and May 2020 and included 60 patients diagnosed with PC as a result of histopathological examinations, with an average age of 64.08 ± 6.66, and 60 individuals with an average age of 61.85 ± 5.81 without cancer and/or any other pathology. The presence and amount of C. acnes and B. fragilis in biopsy samples were investigated by real-time PCR method.

The presence of C. acnes was detected in 58 (96.6%) biopsy samples of the patients and 39 (65%) of the controls. The amount of this bacteria was determined to be 6.14 ± 1.02 in the patient group and 4.53 ± 2.63 in the control group. The rate of detection of C. acnes was significantly higher in the patient group compared to the control group ($p<0.001$), but there was no significant difference between the groups in terms of amount. Considering the age groups, it was determined that the average amount of C. acnes in patients between the ages of 55-65 was statistically significantly higher than in controls ($p=0.002$). The detection rate and amount of B. fragilis in the patient group (%15, 2.18 ± 0.22) were not found to be statistically significantly different from the control group (%6.7, 1.79 ± 0.15, respectively, $p=0.142$,$p=0.211$) Similar results were obtained when age groups were considered.

Our findings suggest that C. acnes may be a bacterium that plays a role in the etiology of PC, especially in patients between the ages of 55-65, and B. fragilis is not included in the etiology of PC.

Key Word:Prostate Cancer,Cutibacterium acnes,Bacteroides fragilis,QPCR

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University-Cerrahpasa.Project No.33684

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar,kronik enfeksiyon,inflamasyon ve kanser arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir [1–5]. Fiziksel travma, bulaşıcı ajanlar,beslenme şekli,kanserojenler ve hormonal dengesizlikler gibi çevresel faktörlere maruz kalmanın prostatın yaralanmasına ve proliferatif inflamatuar atrofi (PIA) olarak adlandırılan kronik inflamasyon ve rejeneratif risk faktörü lezyonlarının gelişmesine yol açtığı,inflamatuvar hücrelerin epitelyal hücre proliferasyonunu teşvik eden ve anjiyogenezi uyaran sitokinler salgıladığı bildirilmekte,bakterilerin,hücre transformasyonu üzerindeki doğrudan etkileri veya toksik,kanserojen metabolitlerin üretilmesi yoluyla kanseri teşvik edebileceği belirtilmektedir [6,7]. Tüm bu etkileşimler altında somatik genetik ve epigenetik değişikliklerin birikmesi, tümör baskılayıcı ve koruyucu genlerin etkisizleşmesi ve onkogenlerin aktifleşmesinin prostat kanseri (PK) oluşumuna yol açtığı öngörülmektedir [7].

Bugüne kadar yapılan tüm çalışmalar PK'nin oluşum mekanizmasını kesin olarak açıklayamasa da bu gün için kabul edilen hipotez kronik inflamasyonun prostat karsinojenezini tetiklediğidir [7, 8]. Yüksek oranda reaktif oksijenlerin deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına neden olması yanı sıra nitrikoksid (NO) ya da türevlerini içeren bir mikro ortamda tekrarlanan doku hasarı ve rejenerasyonun kanser gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir [6,9–12].

İnflamasyon, vücudun iç ve dış çevresel uyaranlara verdiği tepkinin bir parçası olup, gelen uyaranları ortadan kaldırarak doku fizyolojisini düzenlemektedir. Doku hemostazı bozulduğunda, makrofajlar ve mast hücreleri,sitokinler,kemokinler,reaktif oksijen türleri (ROS) ve histamin gibi biyoaktif uyaranları serbest bırakırlar;bu durum inflamatuar süreçle ilişkili yaralanma yerinde lökosit mobilizasyonuna ve sızıntıya neden olmaktadır [13]. Bu yanıtların uzun süre devam etmesi kronik inflamasyona neden olup, kanser başta olmak üzere birçok hastalıkla sonuçlanabilmektedir [14,15].

Prostatektomi örneklerinin,prostat tümör dokusunun,prostatın transüretral rezeksiyon (TURP) örneklerinin ve prostat biyopsilerinin histopatolojik incelemelerinde hem kronik hem de akut inflamasyonun sıklıkla görüldüğü bildirilmektedir [8,16,17].

Cohen ve ark. [18], 2005 yılında yaptıkları çalışmada ilk defa *Cutibacterium acnes*'in inflamasyon ve PK ile ilişkili olabileceğini, Chung ve ark. [19], ise insanlarda potansiyel patojen olarak bilinen enterotoksijenik *Bacteroides fragilis* (ETBF) ile kolonize edilmiş farelerde *Bacteroides fragilis* toksininin (BFT) kolonik epitel hücrelerinde IL-17/17R,Nükleer Faktörü-Kappa B (NF-κB) ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (Stat3) sinyali gerektiren pro-kanserojen çok aşamalı bir inflamatuvar kaskadı tetiklediğini göstermişlerdir. PK'inde ise bu bakterinin tetikleyici rolü olup olmadığı halen araştırılmaktadır.

Bu tez çalışmamızda,ülkemizde ilk defa PK'li olguların ve PK olmayan kişilerin prostat biyopsilerinde *C. acnes* ve *B. fragilis* sıklığının kantitatif olarak saptanarak iki grup arasındaki farkın belirlenmesi ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda bu iki bakterinin PK ile ilişkilendirilmesi açısından bir pilot araştırma yapılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Tarihe bakıldığında prostat bir döneme kadar hiç fark edilmemiş,bir dönem boyunca kaybolmuş ve ardından tekrar keşfedilmiş bir organdır [20]. Prostattan ilk bahseden kişi Galen‘in metinlerine göre İskenderiyeli Herophilus’tur [20–23]. Galen‘in metinlerinde Herophilus, prostattan “salgı asistanları” olarak bahsetmiştir [20–22].

İtalyan anatomist Niccolò Massa’nın ilk olarak 1536’da prostattan bahsetmesiyle prostatın üzerinde durulmaya başlanmış ve Andreas Vesalius tarafından belli belirsiz olarak çizilerek,Leonardo Da Vinci’nin erkek genito-üriner sistem çizimlerinde prostatı tamamıyla yok saymasına karşın kendi anatomi kitabında resmedilmiştir [20–23]. Fransız anatomist Jean Riolan ise idrar retansiyonunu prostatik genişlemeye atfeden ilk bilim insanı olmuştur [20–23].

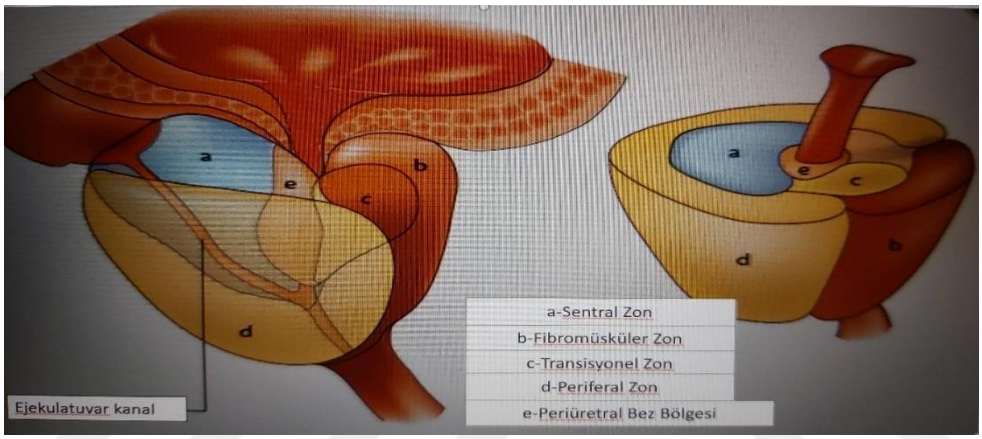
İnsan kanseri öyküsü antik Mısır'daki meme tümörlerinin yazılı kayıtlarından önce gelmektedir [23]. PK ilk olarak 19. yüzyılda George Langstaff'ın 1817’de ilk cerrahi PK vakasını bildirmesiyle tanımlanmıştır [23]. Histolojik olarak doğrulanmış ilk PK vakası ise 1853 yılında Londra Hastanesinde John Adams tarafından “çok nadir görülen bir hastalık” olarak bildirilmiştir [23]. Ghabili ve ark. [23], PK’inde osteoblastik lezyonların pelvis ve eksternal iskelette dağılım bakımından paralellikler çizdiğini doğrulamışlardır. Prostatın en eski ilk anatomik sınıflandırması 1912 yılında Lowsley tarafından yapılmıştır [24].

2.2. Prostat Bezinin Anatomisi

Prostat, fibromüsküler ve glandüler yapıda olan ve mesanenin hemen alt bölümünde bulunan bir organdır. Prostatın büyüklüğü normalde yaklaşık 20 gram kadardır ve 2,5 santimetre uzunluğundaki arka üretrayı içermektedir. Önden puboprostatik bağlar ve alttan ise ürogenital diyaframla desteklenir. Duktus ejakulatorius prostata arkadan giriş yapıp seminal colliculus içinden meyille ilerler ve arka üretra ile birleşip üriner sfinktere boşalır [24]. Prostat, simfiz pubis’in alt kollarının altında,ovoid şekilde bulunmaktadır [25]. Altta daralmış bir apeks ve üstte mesane ile devam eden geniş bir tabandan

oluşan, arkada ampulla rekti ile komşuluk içinde bulunan bir organdır [25]. Üst yüzeyinde vas deferensler ve seminal veziküller bulunur [25]. Denonvilliers fasyasının iki katmanı prostatı rektumla ayırmaktadır [24].

Prostat; lobus anterior,lobus posterior,lobus intermedius,lobus dekster ve lobus sinister lateralis olmak üzere 5 lobdan oluşmaktadır. McNeil ve ark. [26] beş yüz prostat örneği üzerinde yaptıkları incelemenin ardından prostatın periferik zon,sentral zon,tranzisyonel ve bir anterior fibromüsküler zonlara ayırılması gerektiğini ortaya koymuşlardır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1:Prostat bezinin anatomisi [7].

2.3. Prostat Bezinin Histolojisi

Yetişkin bir erkeğin prostat parenkimi, anatomik ve klinik olarak dört farklı zondan oluşmaktadır. Sentral zon,transisyonel zon,periferal zon ve periüretral zon. Sentral zon, periferal zon ile tranzisyonel zonun %70'ini kapsarken %30'luk kısmını önde fibromüsküler stroma kapsamaktadır [27].

Sentral zon:Bezin %25'lik kısmını oluşturmaktadır. Ejekülatör kanalları çevreleyen verumontanuma yakın sonlanan koni şeklinde seminal kolikulus boyunca uzanan müköz bir katlantıdır ve elips şeklinde bir yapı olarak prostatik üretrayı sarar. Sentral zonda hücreler iyi görünen bazofilik sitoplazmalara sahiptir ve embriyolojik olarak gelişen prostat içerisine dahil olan mezonefrik kanal hücrelerinden kökenlendiği düşünülmektedir [27].

Periferal zon:Bezin %70'ini oluşturmaktadır. Bezin apikal,posterior ve lateral parçalarını kapsayarak sentral zonu çevreler [27]. Prostatın rektuma

komşuluk gösteren bölümüdür. İnflamasyona duyarlıdır ve prostat kanserlerinin çoğu periferal zondan köken almaktadır. Kanserlerin rektal tuşeyle muayenesinde periferal zon palpe edilmektedir [27].

Transizyonel zon(Geçiş zonu):Bezin %5'lik kısmını oluşturur. Müköz bezler içeren ve prostatik üretrayı çevreleyen bir zondur. Yaşlı erkeklerde görülen nodül yapıları, bu zonun parenkiminin genişlemesiyle ilgilidir ve bu yapıların prostatik üretraya bası uygulamasından dolayı idrar güçlüğüne yol açabilmektedirler. Bu durum İyi huylu prostat hiperplazisi (Bening Prostat Hiperplazisi,BPH) olarak bilinmektedir [27].

Periüretral zon(Anterior fibromüsküler stroma):Mukozal ve submukozal bezleri içerir. BPH'nin ilerleyen aşamalarında bu zon stromal komponentin büyümesi sebebiyle geçiş zonundaki yer alan glandüler nodüller ile birlikte artmış üretral sıkışmaya ve mesanede idrarın daha çok birikmesine sebep olmaktadır [27].

2.4. Prostat Bezinin Fizyolojisi

Erkek üreme sistemi organından salgılanan semen sıvısının içerisinde %10 oranında vas deferens sıvısı,%60 oranında vesikula seminalis sıvısı ile prostat bezinden salgılanan %30 oranında prostat salgısı bulunmaktadır. Prostat salgısı pH'sı 7.5 olan alkali bir sıvıdır ve semene süt görünümü vermektedir. Salgıladığı enzimlerle semene önce pıhtılık kazandırır ardından pıhtılaşmanın erimesini sağlamaktadır [25].

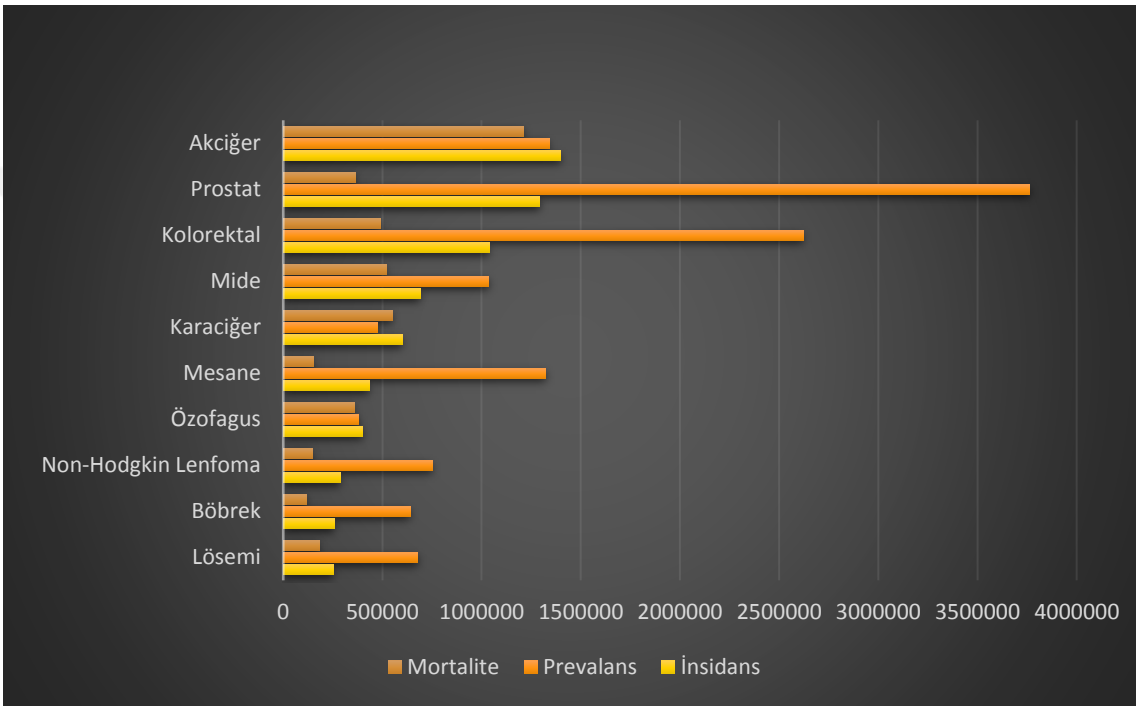
2.5. Prostat Kanserinin Epidemiyolojisi

Prostat kanseri, erkeklerde 1,276,106 yeni olguyla ve 364,154 ölen kişi sayısıyla tüm ölümlerin %3,8'ine neden olarak 2018'de global anlamda erkeklerde akciğer kanseri sonrası insidansı en yüksek ikinci malignite nedeni olmuştur [28–30]. (Şekil 2.2).

2.5.1. Prostat Kanserinin Prevalansı ve İnsidansı

Prostat kanserinin prevalansı bölgeler ile popülasyonlar arasında ve insidansı da kıtalar arasında oldukça değişkenlik göstermektedir [29,30]. 2018 yılında küresel olarak 1,276,106 yeni olgu görülmüş ve bu sayı erkeklerde tüm kanserlerin %7,1'i olarak kaydedilmiştir [28,30]. PK'nin dünyada görülme sıklığı incelendiğinde birinci sırada Okyanusya ikinci sırada

Kuzey Amerika üçüncü sırada ise Avrupa kıtası olduğu,Asya ve Afrika kıtalarının ise daha düşük insidans oranlarına sahip olduğu gözlemlenmiştir [29,30]. PK diğer kanserlerle karşılaştırıldığında insidansı yaş artışı ile doğru orantılı bir kanser türüdür [29,30]. Bu oran, 65 yaş ve üstü bireylerde %60'a yakındır [30,31]. Kheirandish ve Chinegwundoh'un [32] yaptıkları meta analizde global olarak en yüksek insidans aslen Afrika kökenli Amerikan bireylerde görülmüştür.



Şekil 2.2:PK ve diğer kanser türlerinin mortalitesi,prevalansı ve insidansı [33].

2.5.2. Prostat Kanserinde Mortalite

Prostat kanserinin öldürücülüğü de kıtalar arasında oldukça değişkendir. 2018'de en yüksek ölüm oranları Orta Amerika'da ardından sırasıyla Avustralya, Yeni Zelanda ve Batı Avrupa'da görülmüştür [29,30]. En düşük oran ise Asya ve Kuzey Afrika ülkelerinden bildirilmiştir. PK'inden ölen kişilerin %33'ü Asya kıtasından %29,9'u Avrupa kıtasındandır [29,30]. Ölüm oranı da yaş artışıyla doğru orantılıdır ve ölen erkeklerin %55 kadarı 65 yaş ve üzeridir [29,30]. 55-69 yaş aralığındaki bireylere prostat spesifik antijen

(PSA) taramasının yapılmasının bu hastalıktan meydana gelebilecek ölümleri azaltabileceği bildirilmiştir [30,33]. A.B.D'de,Avustralya'da ve Kanada'da 1980'ler ve 1990'lar arasında yaşanan ciddi mortalite ve insidans oranlarındaki artışın ancak şimdi PSA testinin hızlı yaygınlaşması nedeniyle azaldığı gözlemlenmiştir [30,34,35]. Buna karşın Avrupa ülkelerindeki mortalite ve insidans oranlarının PSA tarama testlerinin hastalara kademeli olarak uygulanması nedeniyle ve ultraviyole, radyasyona maruz kalma,diyet gibi başka birçok faktörün de etkisiyle artmaya devam ettiği bildirilmiştir [30,36].

Yapılan bir çalışmada, 2040 yılına kadar 1,017,712 yeni vaka ile dünya çapında PK insidansında bir artışın olacağı ve en yüksek insidansın Afrika,Latin Amerika,Karayipler ve Asya'da olacağı en düşük insidansın ise Avrupa'da olacağı öngörülmüştür [29,30]. PK'inde yaşanan bu insidans oranlarındaki artış yaşam kalitesiyle ilişkilidir. Gelişmekte olan ülkelerdeki insidans oranlarındaki artışın, tıbbi bakıma erişebilme,olguların kayıt altına alınması ve raporlanmasındaki artıştan dolayı olduğu sonucuna varılmıştır. Gelişmekte olan ülkeler için tıbbi bakım ve yardımın daha zor erişilebilir olduğu düşünüldüğünde bunun düşük insidans oranına rağmen yüksek mortalite durumuna olası bir açıklama sağladığı vurgulanmıştır [30].

2.5.3. Prostat Kanserinde Sağkalım

Prostat kanserinde insidans oranları yüksek olmasına rağmen görülen olguların hemen hepsinde malignite yalnızca prostatla sınırlıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (A.B.D.) teşhisi konan bireylerin 5 yıllık sağkalım oranlarına bakıldığında bu oranın yaklaşık %98 olduğu gösterilmiştir [30,31]. 2003 ile 2007 yılları arasında yapılan bir projede kanser teşhisi alan kişilerin hayatta kalma oranının %83 olduğu kaydedilmiştir [30,37]. Bu oranın Güney ve Orta Avrupa ülkelerinde %88 Doğu Avrupa ülkelerinde ise %76 olduğu ayrıca sağ kalma oranında kaydedilen en yüksek artışın da Doğu Avrupa ülkelerinde olduğu ve tüm Avrupa'da zaman içinde arttığı not edilmiştir [30,38].

2.5.4. Etiyoloji ve Risk Faktörleri

Etiyolojisi hakkında birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen diğer sık görülen kanserlerle karşılaştırıldığında PK'nin nedeni halen tartışma konusudur. Risk faktörleri olarak genetik faktörler,etnisite,aile öyküsü ve ileri yaş ile ilişkilendirilmiştir [30,39–41].

Araştırmalar sonucunda, PK ile beslenme şekli,obezite,hareketsizlik, hiperglisemi,enfeksiyonlar,mutajenik kimyasallara ve çevresel etkilere maruz kalma,iyonize radyasyona maruz kalma arasında bir ilişki saptanmıştır [30,40,42–46].

2.5.5. Yaş

Aile öyküsünde PK olmayan Amerikalı bireylerde özellikle 50 yaşından sonra aslen Afrikalı olan Amerikan bireylerde veya aile öyküsü olan bireylerde 40 yaşından sonra riskin yükseldiği görülmüş ve yaşın önemli bir faktör olduğu kaydedilmiştir [30,31].

2.5.6. Etnik Köken

Amerika Birleşik Devletleri'nde PK'nin prevalansı ile ilgili yapılan gözlemlerde değişik etnik gruplar arasında büyük farklılıklar kaydedilmiş ve en yüksek insidans oranının aslen Afrika kökenli Amerikan bireylerde olduğu,en düşük insidans oranının Alaska'da yaşayan Amerikan Kızılderilileri ve Asya/Pasifik Adasında yaşayan yerliler olduğu ve en son Amerikalı erkekler olduğu görülmüştür [30,31].

2.5.7. Aile Öyküsü ve Genetik Faktörler

Yapılan çalışmalarda, PK riskinin arkasında yatan nedenin bireyin kalıtsal genetik geçmişiyle ilgili olduğu ve riski yaklaşık %5 kadar arttırdığı bildirilmiştir [30,47,48]. PK için genler üzerinde yer alan yedi farklı lokusta büyük ölçüde duyarlılık saptanmıştır. PK ile ilişkilendirilen majör genlerden biri HPC1dir. Bu gen, doğal bağışıklık savunma mekanizmaları ve interferon (IFN) aracılı sinyalleşmede görevli olan ribonükleaz L (RNASEL) enzimini kodlayarak antiviral aktivitenin azaltılmasında ve apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesinde önemli role sahiptir [30,49–51]. On yedinci kromozomun 11. bölgesinde tanımlanmış diğer bir HPC geni HPC2/ELAC2 ise dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF-β) sinyalleme yolunun aktivasyonu

yoluyla proliferasyonu upregüle eden “small mothers against decapentaplegic-2” (SMAD2)'leri bağlayarak PK gelişiminde rol oynayan, işlevi tam olarak henüz netleştirilememiş bir gen olan ElaC homolog-2 (ELAC2)’leri kodlamaktadır [30, 52,53]. Makrofaj süpürücü reseptör-1 (MSR1) olarak tanımlanmış diğer bir HPC geni, 8. kromozomun 22. bölgesinde tanımlanmıştır [30,54–56]. Çalışmalarda, Meme Kanseri genleri Breast Cancer 1 ve 2 (BRCA1 ve BRCA2) mutasyonu görülen bireylerde klinik bakımdan daha agresif bir kanser formu gösteren bir HPC alt kümesinin oluştuğu bildirilmiştir [30,57]. Ayrıca, BRCA2 mutasyonu görülen bireylerle insidansın birbiriyle bağlantılı olduğu ve BRCA2 geni ile etkileşen Meme Kanseri geni BRCA2’nin ortağı ve yerleştiricisi PALB2 (Partner and localizer of BRCA2:PALB2) proteininin, ailesel PK öykülerinde rol oynadığı gösterilmiştir [30, 58]. X kromozomunun, androjen reseptörü (AR) içermesi ve X kromozomunun 26.3. ve 27.3. bölgesinde oluşan küçük delesyonların sporadik ve kalıtsal PK formlarında kaydedilmesinden dolayı PK kalıtımında görev aldığı düşünülmektedir [59, 60]. Stanford ve ark. [61] hastalıktan etkilenen 289 Kafkas ailede 7. kromozomun 21.,8. kromozomun 22. ve 15. kromozomun 13. ve 14. lokusları ile aslen Afrikalı olan 12 Amerikan ailede 2. kromozomun 24. lokuslarının PK ile ilişkili olabileceğini ve 11. kromozomun 25.,15. kromozomun 26. ve 17. kromozomun 12. lokuslarının daha saldırgan fenotipli kanserlerin çözümlemesinde kullanılabilecek anahtar lokuslar olabileceğini bildirmişlerdir.

2.6. Prostat Kanseri Tanısında Kullanılan Biyokimyasal Testler

Günümüzde prostat kanserlerinin taraması ve prognozu için PSA testi altın standart olarak kullanılmaktadır [62]. Ancak, PK dışında iyi huylu durumlarda da PSA’de artışlar görülebilmesi, transrektal ultrasonografi (TRU) eşliğinde biyopsi alınarak tanıya gidilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle, günümüzde PSA’nin etkisini arttırmaya yönelik araştırmalar yapılmakta, PSA’nın diğer izoformları olarak PSA hızı,serbest/total PSA oranı,PSA ikiye katlanma zamanı ve PSA dansitesi gibi biyobelirteçler kullanılmaktadır [63]. PSA testi, yüksek riskli PK’ni ayırt edemediğinden dolayı, tarama testi olarak önerilmiş, PK ve/veya yüksek riskli PK için daha spesifik biyobelirteçlere gereksinim vurgulanmıştır [62].

İdrar, PK'nin diagnozu ve prognozu için gereken yeni biyobelirteçlerin geliştirilmesinde çok önemli bir kaynak olmaktadır. Prostat içerisinde oluşturulan yeni hücre içi epitel tümör dokuları veya prostat epitelinden kökenlenen malign hücrelerin kendi hücresel bileşenleri veya bazı metabolik salgıları prostat glandına dökülebilmektedir. Malign hücrelerden elde edilen ve glanda dökülen bu prostat sıvıları, dijital rektal muayene ve prostat masajıyla idrar içine yönlendirildikten sonra biyobelirteçler aracılığıyla idrarda saptanabilmektedir [62]. DNA,RNA,proteinler,eksozomlar,küçük moleküller ve PK hücreleri idrarda başlıca bulunabilen biyobelirteçlerdir [62, 64].

2.7. Prostatit

Prostatit (Prostat İnflamasyonu)'in tanımı Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) ve Uluslararası Prostatit Ağı tarafından dört kategoriye ayırılmıştır:

Kategori I:Şiddetli Prostatit semptomları,sistemik enfeksiyon ve üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) ile ilişkili akut bakteriyel prostatit (ABP) [65]. İdrar yolu enfeksiyonları ile ilişkili prostatın inflamasyonudur. Üretranın enfeksiyonu veya enfekte idrarın idrar kesesinden prostat kanallarına reflüsünden dolayı geliştiği düşünülmektedir. Prostat dokusunda sıkça hiperemi ve ödem gelişmektedir. Uzun süreli enfeksiyonlarda çeşitli derecelerde nekroz ve apse oluşumu da ortaya çıkabilmektedir. Erişkin erkeklerde ABP sık görülmekte ve hastalarda sıklıkla bedensel bitkinlik,dorsoinferial,rektum ve perine bölgelerinde ağrı,ateş,titreme,eklem ağrısı,kas romatizması ve acil işeme hissi dürtüsü,sık işeme ve işerken yanma gibi üriner sistem yakınmaları görülmektedir [24].

Kategori II:Belirtileri olan veya belirtisiz seyredebilen prostatın kronik bakteriyel enfeksiyonunun neden olduğu kronik bakteriyel prostatit (KBP). Genellikle aynı bakteri suşunun neden olduğu tekrarlayan ÜSE'leri ile karakterize edilmektedir. Prostatit vakalarının %95'ini kapsayan en yaygın prostatit şeklidir [65]. ABP'te göre KBP vakaları daha belirtisiz görülmektedir. Mikroorganizmaların prostat *asinuslarında* yaşayabilmesi ve medikal tedavinin işe yaramamasından ötürü bu vakalar tekrarlayan, agresif idrar yolu enfeksiyonu (İYE) olan vakalar olarak tanımlanmışlardır. KBP'li hastalarda en sık görülen tipik bulgular; sancılı veya sık işeme,acil işeme hissiyatı,gece idrara çıkma ihtiyacı ve perine bölgesinde ağrıdır. Hastalarda genelde ateş

olmayıp aynı mikroorganizmaların neden olduğu seyrek olmayarak tekrarlayan ya da reenfekte İYE,enfekte üretra veya epididimit atakları görülmüştür [24].

Kategori III:ÜSE bulgularının tespit edilmediği ve yalnızca kronik genitoüriner ağrıların bulunduğu semptomları kapsamaktadır. (CP/CPPS, aktif üretrit,ürogenital kanser,idrar yolu hastalığı,fonksiyonel olarak önemli üretral darlık veya mesaneyi etkileyen nörolojik hastalıkları dışlanır) [65].

Kategori IV:Genitoüriner sistem semptomlarının yokluğunda prostat inflamasyonu ile karakterize edilen asemptomatik inflamatuvar prostatit (AIP) [65].

AIP'lerde, CD3+intraepitelyal lenfositlerin (IEL'lerin) saptanan normal üst sınırı (normal prostat epitelinde 1 IEL/100 EC'dir) <5 IEL/100 EC'dir. Bu değer ile üzerindeki değerler kategori IV prostatitin varlığını göstermektedir ve inflamasyonun şiddeti IEL sayısı ile ilişkilidir. Artan IEL sayısı, prostatik tümör ortamında kategori IV Prostatit, BPH ve PIN lezyonlarının bağışıklık veya otoimmün karakterini göstermektedir [66].

Amerika Birleşik Devleti nüfusundaki erkeklerin %16'sının hayatlarının bir döneminde semptomatik prostatit (I-III)'ten etkilendiği tahmin edilmektedir [67–69]. Ancak yapılan çalışmalarda aslında kategori IV prostatit prevalansının çok daha yüksek olduğu ve hasta biyopsilerinin %80 kadarında iltihap görüldüğü bildirilmiştir [69–76]. Prostatta oluşacak bir enfeksiyonun PK'ne yapacağı potansiyel bir katkının olabileceği ve kanserli dokuların histolojik örneklerinde sıklıkla açıklanamayan akut ve kronik inflamasyonla ilişkili lezyonlar görülmesinin de PK riskinin prostat iltihabının yaygınlığıyla ilişkili olabileceğini göstermektedir [7,69].

2.7.1. Granülomatöz Prostatit

Prostat enfeksiyonunun nadir görülen bir formudur. Bakteri,mantar ve virüs enfeksiyonları,Calmette-Guerin basili tedavisi,nedeni bilinmeyen inflamatuvar yanıt ve prostatı etkileyen sistemik granülomatöz hastalıklar nedenler arasında bulunmaktadır [24]. Olguların yaklaşık %66'sının özel bir sebebi yoktur ve spesifik olmayan granülomatöz prostatitin eozinofilik olan ve olmayan iki ayrı formu bulunmaktadır. Eozinofilik formda, prostattan dışarı salınan sıvıya karşı normal olmayan bir doku yanıtı görülmektedir. Eozinofilik

olmayan tipte ise prostat tanınmayan bir antijene daha şiddetli ve alerjik bir yanıt vermektedir. Hastalarda en sık görülen bulgular titreme,akut ateş,acil ve sık işeme,noktüri,aralıklı ve zayıf işeme,damlama ile mesanenin boşalmaması hissidir. Bazı olgularda idrar retansiyonu görülmektedir. Eozinofilik formda hastalar febrildir. Hastaların rektal tuşesi sert,endure ve fikse prostat ele gelmektedir. PK'den ayrımı yapılamaz ve idrar kültürü enfeksiyona ilişkin kanıt sağlamamaktadır. Serum, tipik olarak lökositozu gösterir. Eozinofilik formlu hastalarda sıkça belirgin eozinofili görülmektedir. Tanı biyopsiden sonra konulmaktadır [24].

2.7.2. Prostat Apsesi

Prostat apsesi olguları çoğunlukla ABP komplikasyonlarının yeterince ve uygun bir şekilde tedavi edilememesinden kaynaklanmaktadır. Prostat apseleri sık olarak diyabet tanısı alan,kronik diyaliz tedavisine maruz kalmış,bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve kalıcı kateter kullanan hastalarda görülmektedir. Prostat apsesi olan hastaların şikayetleri ABP'li hastalarla benzerlik göstermektedir. Hastalar ABP için tedavi edildikleri sırada medikal tedaviye iyi yanıt verememişse bulgular tipik olarak tekrarlayan prostat apsesi oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Prostat apselerinin rektal tuşesinde prostat genelde hassas ve şişiktir. Bu durum hastaların sadece %16'sında görülmekte ve zaman değişim gösterebilmektedir [24].

2.8. Prostat İnflamasyonunda İmmünolojik Yolaklar

Prostatın inflamasyonu sırasında, makrofajlar,dendritik hücreler,mast hücreleri,nötrofiller ve monositler gibi doğal bağışıklık sistem hücreleri tümör mikroçevresine saldıkları kemotaktik sitokinler aracılığı ile immün yanıtı düzenler ve bağışık yanıtı aktive ederler [77].

Korunmuş mikrobiyal kökenli ürünlerin tespit edilmesinden sorumlu doğuştan gelen bağışıklık hücreleri tarafından ifade edilen reseptörlerin,prostat iltihabı sırasında aktifleşmesi,doğal bağışıklık sisteminin harekete geçmesinde rol oynamaktadır [78–81]. Patern tanıyan reseptörler (PRR), patojen ilişkili moleküler paternleri ya da diğer bir deyişle patojen ilişkili moleküler kalıpları (PAMP) tanıyabilen proteinlerdir[80]. PRR'ler, yüzey epitelleri gibi enfeksiyon sırasında patojenlerle ilk karşılaşan hücreler üzerinde ve ayrıca antijen sunucu hücreler (APC) de dahil olmak üzere

doğuştan gelen bağışıklık sisteminin her türlü efektör hücresinde stratejik olarak ifade edilirler [81]. Kalıpları tanıyan reseptörlerin doğal bağışıklık hücreleri ile birlikte uyarıcı sinyalleri indüklemesi sonucunda, uyarlanabilir T lenfosit yanıtını aktifleştirerek ya enfekte olan hücrenin ölümüne ya da enfeksiyöz ajanları ortadan kaldırmak için gerekli olan mikrobisidal ve pro-inflamatuvar yanıtların aktifleşmesine neden olurlar [80,82,83]. Hasarla ilişkili moleküler kalıplar (DAMP) doku stres altında olduğunda veya hasara uğradığı sırada doku tarafından serbest bırakılan veya aktifleştirilen, uyarlanabilir bağışıklık tepkisini aktive etmek için APC'leri güçlendiren ve inflamatuvar yanıtın başlamasına veya yayılmasında rol oynayan endojen moleküllerdir. Bu mekanizmada bağışıklık sistemi, vücudumuzla karşılaşma açısından oluşan doku hasarında antijenlerin yapısını dikkate almaksızın başka bir deyişle vücudun kendine karşı kendinden olmayanı ayırmakla ilgilenmeden, doku homeostazını sağlamak için bağışıklığı güçlendirici ya da inflamasyonu başlatan tepkiler gösterir [80,84]. Nükleotidlere Bağlanan Oligomerizasyon Alanı Proteinleri ve Hemopoietik IFN ile indüklenebilir Nükleer Protein (HIN-200) ailesinde tek başına bulunan veya tekrar eden 200 amino asit uzunluğunda kalıplarının bazı üyeleri DAMP veya PAMP'lara yanıt olarak inflamazomlar olarak bilinen supramoleküler yapılar oluşturarak yanıt verirler. Bu moleküller apoptoz ile ilişkili beneksi proteinler (ASC) gibi adaptör molekülleri birleştirebilmekte, pro-IL-1b'leri IL-1b'lere ve pro-IL-18'leri IL-18'lere ayıran sistein proteaz kaspaz-1'leri aktive edebilmektedirler. IL-1b ve IL-18 olgun sitokinleri, pro-inflamatuvar olarak görev yapmakta ve klasik inflamatuvar yanıtı tetiklemektedirler. Criyopirin, NOD benzeri reseptör protein 3 (NLRP3) içeren ve çeşitli ürolojik patolojilerde rol oynayan önemli bir inflamazomdur [78].

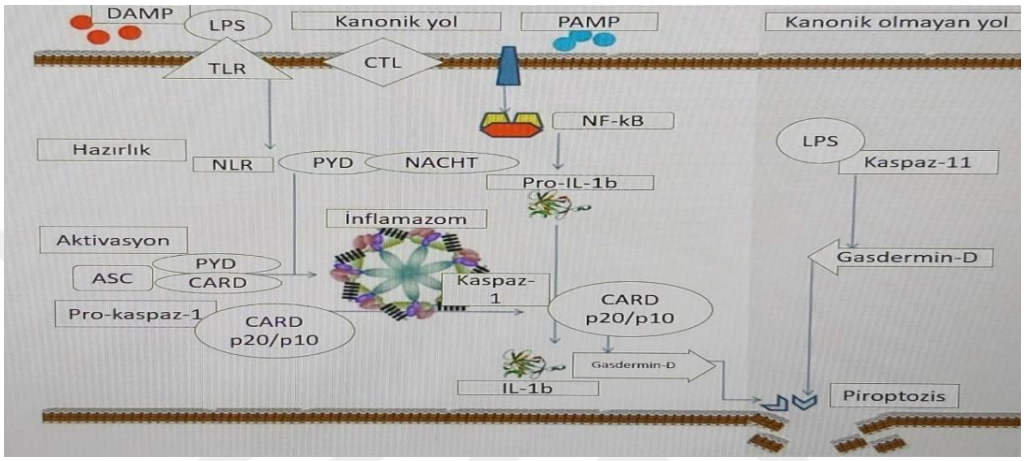
Prostatta kronik iltihaplanma, kanonik ve kanonik olmayan yolda oluşan inflamasyon ile başlar [78,85–88]. Kanonik yolda, TLR reseptörüne ligand bağlanması sonucu inflamasyonla ilgili bileşenlerin ekspresyonu artar [78]. Hücre zarına zarar verebilen çözünemeyen kristallerin bulunması ve ROS'lerinin varlığı, purinerjik reseptörler ile hücre dışı ATP bağlanması sonucunda ATP ile uyarılan inflamasyon hücrelerinin hücre zarlarının büyük moleküler ağırlıktaki maddelere daha geçirgen hale gelmesiyle birlikte hücreden potasyum çıkışı,NLRP3'ün mitokondriye translokasyonu,mDNA ve

kardiolipin salınımı ile mitokondriyal yıkım,katepsin salınımı ile lizozomal bozulma gibi hücresel değişikliklerle sonuçlanmaktadır [78,89]. Ayrıca, NLRP3 oligomerizasyonu kanonik yolun aktivasyonu sonucu oluşur ve ASC proteinlerinin çekirdeklenmesini tetiklemektedir. ASC proteinlerinin prokaspaz-1 ile etkileşime girmesi, kaspaz-1'lerin otoproteolitik olgunlaşmasını desteklemektedir. Daha sonra aktif kaspaz-1, kompleksten serbest bırakılır ve pro-IL-1b ve pro-IL-18'i olgun formlarına ayırır [78]. Aktif kaspaz-1 ayrıca gasdermin-D (GSDMD)'nin N terminalinde gasdermin-D'leri yıkarak kaspaz-1'in NLRP3'e bağlı aktivasyonunu kendiliğinden teşvik edebilmesi sonucunda piroptoz adı verilen litik bir hücre ölüm sürecini başlatabilmektedir [78,90–92].

Piroptozis, programlanmış hücre ölümünün bir formu olarak kabul edilmesine rağmen apoptoz ve nekroptoz tarafından sunulan programlanmış hücre ölümlerinden farklı olarak invaziv patojenler veya bakteriler tarafından enfekte edilen miyeloid hücrelerde tanımlanmış kaspaz-1 aktivasyonu sonucu oluşan ve pro-apoptotik kaspazlardan bağımsız olarak ortaya çıkan yüksek derecede inflamatuvar bir hücre ölümü formudur [83,93–95]. Piroptoz en sık olarak hücre içi patojenler ile oluşturulan enfeksiyonlardan sonra ortaya çıkmaktadır ve antimikrobiyal yanıtın bir parçası olduğu düşünülmektedir [96–99]. Piroptoz temel olarak kemirgenlerde inflamatuvar kaspaz-1 ve/veya kaspaz-11 (insanlarda kaspaz-4 ve 5) aktivasyonu sonucunda meydana gelmesinden ötürü nekroptozis'den farklı bir form olarak görülmektedir [80]. Piroptozda nekroza bağlı hücre ölümüne benzer özellikler olarak, plazma membranının yırtılması, su girişi,hücresel şişme,ozmotik lizis ve pro-inflamatuvar hücresel içeriğin salınmasıyla birlikte aynı zamanda apoptoza bağlı DNA parçalanması ve çekirdek bütünlüğünün korunduğu bir hücre ölüm formudur [95].

Piroptozda iltihap alevlenmesi artar çünkü olgun IL-1b,IL-18,ürik asit, ATP ve yüksek hareketlilik grubu protein-1 (HMGB1) gibi DAMP'leri, komşu hücrelerdeki iltihabı harekete geçirmektedirler [78,85]. Serbest kalan ASC agregatları, inflamazom aktivasyonunu başlatan makrofajlar veya hücre dışı alanda bulunan olgun pro-sitokinler tarafından alındığında, piroptoz başlamaktadır [78]. Kanonik olmayan yol ise NLRP3 inflamazom kompleksini aktive etmenin alternatif bir yoludur. İnsanlarda kaspaz 4 ve 5'i,

kemirgenlerde ise kaspaz-11'i içermektedir [78,86,100–102]. Bu kaspazlar, hücre içi bakterilere veya LPS'lere doğrudan bağlanma yoluyla aktive edilirler ve bir kez aktive edildiklerinde kaspaz-11'in makromoleküler inflamazom oluşumunu tetiklemesi sonucunda sonraki olayları aktive edebilmekte veya kaspaz-11 gazdermini doğrudan yıkarak iltihap oluşmadanda piroptozu indükleyebilmektedirler [78,91]. [Şekil 2.2].



Şekil 2.3:Prostat iltihabının seröz bileşenleri [78].

2.8.1. Kronik İnflamasyon ve Prostat Kanseri

Multidisipliner araştırmalar sonucunda kronik inflamasyon ile PK riski arasında bir ilişkinin olduğunu gözlemlenmiştir [7,103–105]. Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda da kronik prostatitlerin enfeksiyonlarla birleşince prostat dokusundaki hücrelerin aşırı geliştiği, kusurlu ve yangılı gelişim göstererek ROS'lerinin prostatın hücre tabakasına zarar verdiği gözlemlenmiştir [106]. Normal prostat bulgularına sahip olmayan bireylerin histopatolojik incelemelerinde kronik prostatit varlığı ile birlikte hastaların %6 kadarında kötü huylu tümörlerin olduğu ve prostat inflamasyonuna *C. acnes'in* sebep olabileceği bildirilmektedir [18,103].

Prostatın iyi huylu ve kötü huylu histolojik örneklerinde PIA ve inflamatuvar hücre materyalleri çok sık görülebilmektedir [105,107–110]. PIA, bezi çevreyelen yumuşak dokuda mononükleer hücre birikintileri veya bez boşluğundaki epitelyumda biriken makrofajlar ve nötrofillerle,yangılı,düşük apoptotik index ve artmış proliferatif indeks ile karakterize edilen lezyonlardır [105–107,111,112]. PIA hücreleri, ROS'lerinin yarattığı hasar sonucunda dokulara gelen oksijen miktarının yetersizliği sebebiyle enfeksiyon sonrası

veya vücudun kendi hücrelerine karşı oluşturulan antikorların harabiyeti sonucunda ortaya çıkan inflamatuvar bir doku bozukluğudur. Hızla bölünen hücrelerde bu doku bozuklukları hücrelerde dönüşüm birikimi yoluyla maligniteye yol açmaktadır [105].

Bundan dolayı PIA hücreleri pre-kanseröz bir doku bozukluğu olarak görülmekte ve kanser oluşumuna yakın dönemlerde sıklıkla "Yüksek Dereceli Proliferatif İntraepitelyal Neoplazi" (HGPIN)'ler ile ilişkilendirilmektedirler [105].

Epitelyal atrofiler, diffüz ve fokal olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar [113]. Fokal atrofilerin PK ile olan ilişkisi diffüz atrofilerden daha önce araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür [114,115]. Diffüz atrofiler, androjen yoksunluğundan sonra prostatta eşit olarak gelişen ve kübik epitel hücrelerinin altında görülen belirgin bir bazal hücre tabakasından oluşan lezyonlardır. Diffüz atrofilerin aksine fokal atrofiler androjen varlığında gelişerek, prostatta heterojen olarak görülürler ve belirgin olmayan bir bazal hücre tabakası içerirler. Bu lezyonların çoğu akut ve kronik inflamasyon ile ilişkilidir ve yaygın olarak PK'nin ağırlıklı olarak geliştiği periferik bölgede görülürler [116]. Bu lezyonlar atrofik morfoloji gösterseler de epitel hücreleri çoğalma eğilimindedir [107,113]. De Marzo ve ark. [107,113] fokal atrofilerin alt sınıflandırılması için önerilen kriterleri dört paternde sınıflandırmışlardır: (i) basit atrofi; (ii) postatrofik hiperplazi (PAH); (iii) kist oluşumu ile basit atrofi ve (iv) kısmi atrofi. Bu sınıflandırma sisteminde basit atrofi ve PAH'lerin, PIA olarak sınıflandırılması gerektiğini bildirmişlerdir. PIA ve HGPIN lezyonları arasında morfolojik geçişlerin olduğu ve HGPIN lezyonlarının %40'ının doğrudan PIA'ler ile birleşebileceğini belirtmişlerdir [112]. Bu nedenle PIA'lerin inflamasyon ile birlikte PK'nin gelişimini bağlayan bir lezyon olduğu düşünülmektedir [117].

Normal prostat epitelinde yüksek oranda eksprese edilen ve PIN ile PK'inde sıklıkla baskılanan NKX3.1 ve p27 genlerinin ekspresyonu prostat atrofilerinde bulunmamaktadır [7,107,118]. p27 geni çekirdekteki siklin-siklin bağlı kinaz komplekslerinin aktivitesini inhibe ederek hücre döngüsü ilerlemesini durdurduğundan dolayı p27 seviyeleri genellikle PIA ve PIN'de görülmemektedir [7,119–122]. Prostat tümörünü baskılayan gen, 8. kromozomun 21. bölgesi içinde kodlanan ve PK'inde sıklıkla tek kopya silme

içeren prostatla sınırlı olan bir homeodomain proteinidir. NKX3.1 proteinleri prostat hücrelerinin büyümesini baskılarken azalan NKX3.1 protein seviyeleri ise oksidatif DNA hasarının artmasına neden olmaktadır [7,123,124]. PIA ve proliferatif atrofilerde, programlanmış hücre ölümünü engelleyen, güçlü bir apoptoz baskılayıcı gen ürünlerinden biri olan artmış B-cell CLL/lymphoma 2 Apoptoz Düzenleyici Proteini (BCL2) ekspresyonu ile oksidan ve elektrofilik stresle indüklenen veya Glutatyon S-Transferaz pi-1 ve α- 1 (GSTP1,GSTA1),siklooksijenaz-2 (COX-2) ve p16 geni dahil olmak üzere hücre aktivasyonu ve proliferasyonuyla ilişkili gen ürünlerinde artış görülmektedir [7,107,125,126]. PIA ve proliferatif atrofilerde strese uğrayan hücrelerin doku onarımı geçirmesi, tirozin protein kinaz geni ve MET ekspresyonlarında artış meydana getirmektedir [119,127]. Glutatyon S-Transferaz pi genleri, inflamasyon sonucu üretilen reaktif elektrofillerin ve oksidanların detoksifikasyonunu katalize edebilen ayrıca neoplastik transformasyona karşı da koruyabilen uyarılabilir enzimlerdir. PIA lümeninde bulunan hücrelerin, yüksek düzeyde GSTP1,GSTA1 ve COX-2 protein ekspresyonu göstermesi bu lezyonların hücresel strese maruz kaldığını göstermektedir [117,125,128]. GSTP1'lerin ekspresyonu PK'inde GSTP1'in promotörü olan CpG ada hipermetilasyonu tarafından disregüle edilmektedir [128]. İnflamasyonla ilgili bir molekül olan COX-2'nin, araşidonik asidi pro-inflamatuvar prostaglandinlere dönüştüren enzimlerin indüklenebilir bir izoformu olarak PK'inde fazlaca sentezlenebileceği gösterilmiştir [129,130]. PK'inde upregüle edilen akut fazlı,protein yapıda bir molekül olan α1-antikimotripsin (ACT) proteininin promotör bölgesinde oluşan tek nükleotid polimorfizminin PK riski artışıyla ilişki olduğu ve bu korelasyonun genç PK hastalarında da görüldüğü bildirilmektedir [131].

2.9. Erkek Üriner Mikrobiyomu ve Prostat Hastalıkları

Erkek üriner mikrobiyomunda en yaygın bulunan cinsler; *Actinobaculum,Actinomyces,Anaerococcous,Corynebacterium,Enterobacteriaceae,Finegoldia,Gammaproteobacteria,Gardneralla,Lactobacillus,Peptoniphilus,Pseudomonas,Staphylococcus ve Streptococcus* cinsleridir [132–138].

Corynebacterium,Staphylococcus ve Streptococcus cinsleri bu cinsler arasında en baskın görülenler olarak tanımlanmakta, *Actinobacteria*

filumunda *Corynebacterium* türleri ile birlikte yer alan *Cutibacterium* türlerinin de erkeklerde daha yaygın olma eğilimi gösterdiği bildirilmektedir [132–138]. Üriner mikrobiyotada bulunan bakteri türlerinin gastrointestinal sistemde olduğu gibi karmaşık bir yapıda ve tür dağılımında olduğu,yaş grubuna spesifik profillerden meydana gelebileceği belirtilmektedir [132]. Erkek idrar mikrobiyomu diğer mikrobiyal topluluklar gibi dinamik bir yapıda olduğundan yaşla birlikte ve muhtemelen cinsel hastalıklar ile değişebilmektedir. Öyle ki *Anaerophaga* ve *Azospira* gibi bazı bakteri türleri sadece 70 yaşın üzerindeki erkeklerde görülmekte ve kadın idrarında baskın bir tür olan *Lactobacillus*'ların cinsel açıdan aktif ergen erkeklerde bulunarak kadın ve erkek üriner mikrobiyomu arasında potansiyel bir etkileşimin olabileceğini göstermektedir [136,139]. Bakteriyel prostatite neden olduğu bilinen *E. coli* ve *Enterococcus faecalis* gibi üropatojenlerin üretrayı çevreleyen prostatın anatomik yapısı gereği, prostata bulaştığı düşünüldüğünde, idrar yolları mikrobiyomunun belirlenmesi çok önemli olmaktadır [140]. Bazı çalışmalarda, NIH kategori III sendromlu hastaların üriner mikrobiyotasında sağlıklılara göre daha yüksek bulunan *Clostridium* ve *Bacteroides* türleri prostatitli erkeklerden analiz edilen seminal sıvıda da benzer oranlar göstermektedir [141,142]. Biyopsi ile kanıtlanmış PK tanısı alan ve almayan erkeklerin idrar mikrobiyomu arasındaki bakteriyel yükle veya bakteri çeşitliliği ile ilgili yapılan çalışmalarda, kanser hastalarında *Streptococcus anginosus*,*Anaerococcus lactolyticus*,*Anaerococcus obesiensis*,*Varibaculum cambriense* ve *Propionimicrobium lymphophilium* gibi bakterilerin arttığı belirtilmektedir [138, 143–147]. *Ureaplasma* spp. gibi üropatojenlerin, düşük ve yüksek dereceli kanserlerde ve prostat inflamasyonunun tipi ve derecesi ile ilişkili olarak anlamlı derecede farklılık gösterdiği bildirilmektedir [134].

Bu bakterilerin örneğin idrar reflüsü yoluyla prostata sokulduğu durumlarda erkekleri kronik prostatik inflamasyon gelişimi için daha yüksek bir riske soktuğunu düşünülmekte ve PK'nin gelişmesine ve ilerlemesine yol açan koşullara yol açabileceği öngörülmektedir [135]. Bu çalışmalar, erkek üriner mikrobiyomunun disbiyozu sonucunda çeşitli prostat ve idrar yolu hastalıklarının oluşabileceğini göstermektedir [138].

2.10. Prostat Kanseri ile İlişkili Olduğu Düşünülen Bakteriler

Üropatojenik mikroorganizmaların yapmış olduğu enfeksiyonlar prostat inflamasyonunun kaynağı olarak görülmekte ancak bu mikroorganizmaların yapmış olduğu bakteriyel prostatitlerin PK'nin gelişimi için bir faktör olup olmadığıyla ilgili tartışmalar devam etmektedir [104,148]. Bakteriyel prostatitler, tüm prostatit vakalarının %5-10'unu oluşturmakta, *Escherichia coli, Enterococcus* spp.,*Pseudomonas* spp.,*Proteus mirabilis*,*Klebsiella* spp. ve *Serratia* spp.'lerin en yaygın görülen mikroorganizmalar olarak bildirilmektedir [67,69,140].

Yapılan araştırmalarda, PK riskinin tek bir enfeksiyöz bakteriyle ilişkilendirilemeyeceği vurgulanmaktadır [7,135]. Bakteriyel prostatitlerden esas olarak Gram-negatif üropatojenler sorumlu tutulsa da Cai ve ark. [149], gram-pozitif ve cinsel yolla bulaşan patojenlerin de nedensel ajanlar olarak tanımlanması gerektiğini vurgulamaktadırlar. Son yıllarda muhtemelen antibiyotiklerin daha sık kullanılmasından dolayı atipik mikroorganizmaların da enfeksiyon başlangıcında rol oynadığı ve gram pozitif cinslerin prevalansında önemli bir artışın olduğu bildirilmektedir. Bakterilerin oluşturduğu protein yapıdaki toksinlerin uyarıcı etkileri olabildiği gibi kanserojen etkileri de olabilmektedir [150]. Bu proteinlerin, DNA'lerde düzensizlikler meydana getirmesi sonucunda apoptoza direnmesi veya hücrelerin çoğalmasını teşvik eden sinyalleşmeyi etkilemesiyle de karsinogenezde rol oynayabileceklerine değinilmektedir [151].

2.11. *Cutibacterium acnes*

Cins adı *Cutibacterium* olarak değiştirilen *Propionibacterium acnes* gram pozitif,yavaş büyüyen,basil tipte,sporsuz ve mikroaerofilik ortamda da gelişebilen yüz ile boynun yağ bezeciklerinde ve vücut bölgelerinde bulunabilen anaerop bir bakteridir [152–156]. *C. acnes* deri mikrobiyotasında erken neonatal dönemden itibaren ilk savunma hattında bulunmaktadır [157,158]. Derinin durumu ve ilk savunma hattında yer alan mikroorganizmalarının dağılımı *C. acnes*'in hastalıklardaki rolünü biçimlendirmekte ve bu bakteri a*cne vulgaris,macular hypomelanosis* gibi hastalıklar ile de ilişkilendirilmektedir [159–161]. Yapılan filotipleme çalışmalarıyla *C. acnes'in* vücuda yerleştirilen cansız maddeler üzerinde

yerleşerek kalp ve kalp kapağı enfeksiyonlarında,göz içi enfeksiyonlarda,sinir sistemi enfeksiyonlarında etken olarak belirlendiği gösterilmektedir [162,163]. *C. acnes*'in, salgı bezlerinin epitel hücrelerine ve dolaşım sisteminde bulunan makrofajlara yapabildiği invazyon neticesinde prostat bezi epitel hücreleri içinde yaşayarak immün sistem hücrelerinden kaçabildiği bu nedenle PK'ne dolaylı yoldan bir etkisinin olabileceği düşünülmektedir [164–169]. *C. acnes*'in bu dolaylı etkisi, enfeksiyon başlatmada rol oynayabilmesi,inflamasyon yanıtının verilmesi ve/veya kanserleşmenin başladığı yerden yayılmaya yardımcı olması gibi tam olarak sebebi bilinmeyen bir takım mekanizmalara bağlanmaktadır [155].

Genomik teknikler sayesinde Rekombinaz A (*RecA*) ve Putative Hemolizin (*tly*) genlerinin kısmi dizilimi ile *C. acnes* ve alt tipleri 6 filogenetik gruba ayrılmıştır [170]. Son 5 yıl içinde bu filotiplerin üç alt türe ayrılması önerilmiştir:*C. acnes* subsp*. filotip I*,*C. acnes* subsp*. defendens filotip II* ve bu iki filumdan morfolojik açıdan farklılıklar göstermesi nedeniyle *C. acnes* subsp*. elongatum filotip III'*tür [171,172]. Bu öneri özellikle subtiplerin elektron mikroskoplarındaki yapıca farklılıklarına ve gram boyamada gözlenen çomakların pleomorfizmine, soy geçmişleri ile evrimsel açıdan farklılıklarına atfedilirken, *C. acnes tip* II ile III'ün birincil izolatlarından farklı olarak *C. avidum* birincil izolatları ile *C. acnes* tip 1 suşları, β-hemolitik suşlar olarak tanımlanmaktadır [173,174]. *C. acnes* tip 1 ve 2'lerin prostat üzerindeki yüzeylere tutunup çoğalabilmeleri neticesinde PK için gizil bir tehlike faktörü olan süreğenleşen yangı yanıtına sebep olabilecekleri düşünülmektedir [169].

2.11.1. *Cutibacterium acnes* ile Prostat Kanseri İlişkisi

Akut ve kronik prostatitler sonucunda meydana gelen inflamasyon BPH veya PK patolojisine katkıda bulunabilmektedir. Yapılan araştırmalarda, prostat dokularında *C. acnes* en yaygın bulunan mikroorganizma olarak tanımlandığından dolayı inflamatuvar yanıtın ortaya çıkmasına *C. acnes*'in neden olabileceği düşünülmektedir. Bakterinin prostat ile olan bu spesifik ilişkisi özellikle bakterinin prostat epitel hücrelerine yapabildiği invazyon yeteneğine bağlanmaktadır [169,175]. Araştırmalarda, BPH için transüretral rezeksiyon veya PK için radikal prostatektomi yoluyla elde edilen örneklerde, prostat dokusunda yer alan makrofajlarda birikmiş,önemli sayıda *C. acnes*

izolatının varlığına dikkat çekilmektedir [165,168]. Sıçan ve fareler üzerinde yapılan hayvan deneylerinde *C. acnes*'in murin veya sıçan prostatına ve mesaneye enjeksiyonunun,açık,uzun süreli yangısal reaksiyona ve prostat bezi içinde çok çeşitli hücresel rahatsızlıklara yol açtığı bildirilmektedir [176,177]. Yapılan araştırmalarda, radikal prostatektomi örnekleri aerobik ve anaerobik kültüre tabi tutulmuş ve *C. acnes*'in bu örneklerde ürediği doğrulanarak *C. acnes* yanı sıra *C. granulosum* ve *C. avidum* gibi diğer *Cutibacterium* cinslerinin de ürediği bildirilmiştir. Kültürde üreyen *C. acnes* izolatlarının 16S rDNA gen dizilimi ile tiplendirilmesi sonucunda iki klonal komplekse ait olduğu bildirilmekte ve prostat ilişkili *C. acnes* izolatlarının tipik cilt/akne klonlarından farklı olup fırsatçı enfeksiyonlar veya üretral flora ile ilişkili izolat tiplerine uydukları belirtilmekte ve bu suşların cilt flora kontaminasyonunu temsil etme olasılığının bulunmadığı vurgulanmaktadır [169,178]. Araştırmalarda, PK'li hastaların prostat dokularında bakteri kültürü ile izolasyon yolu dışında konfokal mikroskopide inceleme ile floresan in situ hibridizasyon yöntemiyle *C. acnes*'e yönelik nükleik asit probları ile tanıma ve sayarak inceleme,immunhistokimyasal boyamalarla ve 16S rRNA temelli PZR profilleme gibi çeşitli metodolojik yöntemlerle de *C. acnes*'in varlığı gösterilmektedir [18,166,168,169,179,180]. *C. acnes*, sarkoid lezyonlardan bakteriyel kültürle izole edilmiş tek mikroorganizmadır. Sarkoidoz patolojisinde, *C. acnes*'in akciğer ve lenf düğümlerinde protoplast formda yaşamına devam ederek gizil enfeksiyonlara yol açmaktadır [181]. Hareketsiz form belirli koşullar altında endojen olarak aktive olmakta ve gizil enfeksiyon bölgesinde çoğalmaktadır. *C. acnes*'e aşırı duyarlı hastalarda granülomatöz inflamasyon bakterinin hücre içi proliferasyonu ile tetiklenmekte ve çoğalan bakteriler organlara yayılarak granülomatöz izolasyondan kaçabilmektedirler [182]. *C. acnes*'in hem PK hem de BPH hastalarının prostat doku örneklerinde hücreler içinde konumlanmış olarak bulunduğu,stromal biyofilm benzeri agregat yapılarıyla birlikte bakterinin prostat bezinde 6 yıla kadar kronikleşerek yaşamını sürdürebildiği ve inflamasyon varlığını gösteren NF-κB,IL-6,STAT3 ve COX2 dahil olmak üzere sarkoidoz patolojisi için tarif edilenlere benzer inflamatuvar yolları aktive edebileceği yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda kanıtlanmaktadır [165,166,168,178,182,183].

2.12. *Bacteroides fragilis*

Gram negatif,hareketsiz,zorunlu anaerop bir bakteridir. Boyutları 0.8-0.13 μm'den 0.8-1.6 μm uzunluğa kadar değişmektedir. Kapsül içeren bazı kökenleri bulunmaktadır. Katı besiyerinde 1.3 mm çapında konveks,yarı opak koloniler oluşturmaktadır. Hemin içeren besiyerinde üretilebilen bu bakteriler kuvvetli asit oluştururlar ve bu asit nedeniyle ölürler. Bu nedenle frajil olarak adlandırılmaktadırlar. %20 oranındaki safraya dirençlidirler ve 25-45^{o}C'de ürerler. ß-laktamaz üreten, penisiline ve birçok sefalosporine dirençli olan bu bakteriler aynı zamanda plazmit ile tetrasiklin,eritromisin ve klindamisine direnç geliştirebilmektedirler. Apandisit,peritonit,rektal apse,kalp kapak enfeksiyonları ve pilonidal kist enfeksiyonu,postoperatif yara enfeksiyonuna neden olabilmektedirler [185].

Bacteroides fragilis grubu bakteriler 20'nin üzerinde tür içeren büyük bir gruptur. *Bacteroides fragilis* grubu bakteriler arasında mikrobiyotada en çok izole edilen *B. fragilis,B. ovatus,B. vulgatus,B. thetaiotaomicron,B. uniformmis, B.* cacae'dır. Yakın zamana kadar *Bacteroides fragilis* grubu içinde florada sıklıkla izole edilen *Bacteroides distasonis,Bacteroides goldsteinii* ve *Bacteroides merdae* 16S rRNA dizi analizi yöntemleri sonuçlarına göre *Parabacteroides distasonis,P. goldsteinii* ve *P. merdae* olarak yeniden isimlendirilmişlerdir [186].

B. fragilis, bağırsak mikrobiyotasının ayrılmaz bir parçasıdır. Mikrobiyotanın küçük bir kısmını temsil etmesine karşın klinik vakalarda sıklıkla izole edilen organizmalardan biridir. Proteolitik enterotoksinler gibi enzimleri ile sıkı bağlantı bölgelerinin yıkımı sonrası bağırsakta mikrovillusların kaybı,hücre hasarı ve lokal inflamasyonla hücreler arası geçirgenliğin arttırılması önemli patojenik aktivitelerinden biridir. Bunların sonucunda vücudun kendi hücrelerine olan toleransın kaybı tetiklenerek T hücrelerinin dengesizliği sonrası bağırsakta ve bağırsak dışında inflamatuvar yanıta neden olabileceği öne sürülmektedir [187].

2.12.1. Prostat Kanseri ve *Bacteroides fragilis*

Anaerop bakteriler, akut ve kronik prostatitler,prostatik apseler gibi farklı patolojilere neden olabilmektedirler. Yapılan çalışmalarda, prostat masajı sonrası alınan idrar örneklerinde anaerobik bakteri sayısında artış

olduğu vurgulanmakta ve çalışmalarda izole edilen anaerobik bakteriler arasında *Bacteroides fragilis*'e sıklıkla rastlandığı görülmektedir [188–191]. Erkek genitoüriner sistemin en süpüratif enfeksiyonları *B. fragilis* ile de ilişkilendirilmektedir [190]. Çalışmalarda, erkek üretrasının anaerobik bakterilerle kolonizasyonunun cinsel aktivite ile de ilişkili olduğu vurgulanmaktadır [192]. İnsan bağırsağında kolonize olabilen iki *B. fragilis* sınıfı tanımlanmıştır. Bu sınıflar, ısıya dayanıksız bir toksin üretip üretmeme yetenekleri ile ayırt edilmektedir. Toksin üreten enterotoksijenik *B. fragilis* (ETBF)'in ürettiği toksin ile bir proinflamatuvar sitokin olan IL-18 üretimini uyarabilmesi,böylece inflamasyonu indükleyerek,epitelyal homeostazı bozarak ve epitel proliferasyona yol açarak kanserin başlamasına neden olabileceği öngörülmektedir [192,193]. *Bacteroides fragilis* toksini *(bft*), bir ön-proprotein holotoksini olarak kodlanmakta ardından ısıya dayanıksız,olgun,20-kDa ağırlığında çinkoya bağımlı bir metalloproteaz protein olarak salgılanmaktadır [195]. Kromozomal toksin genine sahip *B. fragilis*'ler ETBF olarak adlandırılırken bu genden yoksun olan suşlara non-toksikjenik *B. fragilis* (NTBF) olarak tanımlanmaktadır [193]. Fragilizin olarak da adlandırılan bu toksin hücre litik aktivitesi yerine hücre çoğalmasını desteklemektedir [192,195].

B. fragilis'in *bft* genleri tarafından oluşturulan *bft*-1 (kuzu) ve *bft*-2 (domuz) olmak üzere 2 *bft* izotipi bildirilmiştir. Toksijenik suşlar, bu proteinlerden yalnızca birini oluşturabilmekte ve hepsini birlikte üretememektedir [196,197]. Yapılan çalışmalarda, bir *bft* izotipi daha bildirilmiş ve bu izotipin *bft*-2 ile in vitro ve in vivo olarak *bft*-1'den daha fazla spesifik ve biyolojik aktivite sergilediği ve bu yeni izotip olan *bft*-3'ün de zonula adherens bağlantılarında rol oynayan E-kadherini ayırdığı bildirilmektedir [192,196,197]. Ayrıca, *bft*-1 ve *bft*-2 üreten ETBF suşları dünya çapında görülmekteyken *bft*-3 salgılayan ETBF suşları ise yalnızca Güneydoğu Asya bölgesiyle sınırlıdır [199]. Yapılan in vitro çalışmalarda, *bft*'nin ROS üretimini,DNA hasarını ve hücre çoğalmasını tetikleyen antiapoptotik protein cIAP2 ve poliamin katalizör spermin oksidazı (SMO) indükleyerek hızla DNA hasarına neden olarak kanserojen etkiler gösterdiği bildirilmektedir [200–204]. Bunun sonucunda NF-κB ve SMO aktivasyonunun pro-onkojenik aktiviteleri teşvik ettiği öngörülmektedir [205].

2.13. Mikrobiyota Araştırmalarında Kullanılan Teknikler

Bir yüzyıl boyunca insan vücudunda kolonileşebilen patojenik olmayan mikroorganizmalarla ilgili çalışmalar çok az ilgi çekmiştir. Bunun nedeninin bu organizmaların iyi huylu olduğu ve patojenik mikroorganizmalar gibi insan sağlığı üzerinde etkilerinin muhtemel olmadığı düşüncesine dayanmaktaydı. Mikrobiyom analizleri, patojen mikroorganizmaların yanı sıra insan vücudunun farklı nişlerinde bulunan patojenik olmayan mikrop topluluklarına yeni bir ilgi getirmiş, mikrobiyotada bulunan farklı cinsleri tanımlamamıza, gruplandırmamıza ve mikroorganizmaların topluluk halinde insan sistemine olan etkilerinin kliniğe olan yansımalarını anlayabilmemize olanak sağlamıştır [206].

2.13.1. Kültür Temelli Yöntemler

Kültür teknikleri 139 yıl önce Robert Koch tarafından geliştirilmiştir. Bu teknikler, bir organizmanın büyümesi ve analiz edilebilmesi için önkoşul olarak yerleşik ve kanıtlanmış bir prosedürü gerekli kılmış ve böylece mikrobiyoloji bir yüzyıl boyunca tamamen kültüre bağımlı olarak organizmanın morfolojik, fizyolojik,biyokimyasal özelliklerini ve antibiyotik duyarlılığını temel alan kültür yöntemleriyle ilerlemiştir. Bu süreç, yalnızca saptanabilecek olan organizmaların çeşitliliğini çoğaltmakla sınırlı kalarak *Escherichia coli* gibi aerobik organizmaların üretilmesine ve var olan laboratuvar kültür koşullarının geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Mikrobiyal türlerin çoğunluğunun hiçbir zaman bir laboratuvarda kültürlenememiş, incelenememiş veya ölçülememiş olması gerçeği örneğin bağırsak mikrobiyotasında bulunan bakterilerin büyük bir kısmınının kültürde gözden kaçabilen ya da üretilemeyen zorunlu anaerop bakteriler olması,kültür tekniğinin sınırlamalarını ortaya koymuştur. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için bakteriyel genomik materyalin incelenmesine yönelik tekniklerin 20. yüzyılın sonlarında gelişmesiyle birlikte moleküler tekniklerle farklı bakteri türlerinin tanımlandığı çeşitli yöntemler geliştirilmiştir [207]**.**

2.13.2. Kültür Temelli Olmayan Yöntemler

Deoksiribonükleik asit temelli kültürden bağımsız yöntemlerin 1980'li yıllara gelindiğinde ortaya çıkmasıyla mikrobiyal toplulukların incelenebilmesine yardımcı olmuş ve bu sayede büyük ilerleme katedilmiştir. Bu metodolojinin temel prensibi bakteriyel DNA'lerin in vitro izole edilmiş saf kültürlerden elde edilmesinin aksine doğrudan ilgili bölgeden türetilmiş bir örnekten ekstrakte edilen DNA'lerin analizine dayanmaktadır. Bu sayede mikrobiyal toplulukların çeşitli yönlerini (örneğin taksonomik kompozisyon ve fonksiyonel metagenomik) araştırmak ve teorik olarak mikrobiyal toplulukların bir bütün olarak incelenerek potansiyel biyolojik görevlerini ortaya çıkarmak için bu yöntemler giderek artan hızda kullanılmaktadır [206].

2.13.2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Mitotik hücre bölünmesi sürecinde her yeni somatik hücre için genomun bir kopyası oluşturulmakta ve bu işlem sayesinde iki katına çıkarılan DNA miktarının iki yeni hücre arasında eşit olarak paylaşılması sağlanmaktadır. Çok hücreli bir organizmada sürekli hücre bölünmesi yoluyla orijinal progenitör hücreden başlayarak yapılan nükleer DNA'nın iki katına çıkarılması işlemi her hücre bölünmesinde gerçekleşmekte ve orijinal progenitör hücredeki tek genom kopyası, organizmada milyarlarca kopyaya dönüştürülmektedir. PZR, çok düşük DNA konsantrasyonlarını çok yüksek DNA konsantrasyonlara dönüştürmek için benzer prensiplerle oluşturulmaktadır.

PZR'nin fiziksel bileşenleri:

1-Kopyalanacak DNA

2-DNA'nın yapı taşları olan adenin,timin,guanin ve sitozin trifostatlar

3-Taq DNA polimeraz;nükleotidleri bir araya getiren ve şablonun ayna görüntüsünü oluşturan enzim

4-Oligonükleotid primerleri;DNA polimeraz aracılığıyla hedef DNA'yı tamamlayacak ve DNA sentezi sonucu birbirine bağlanacak olan DNA dizisini oluşturan kısa DNA zincirleri

5-Uygun iyonik güç ve pH'ya sahip bir tampon çözeltisi

Polimeraz Zincir Reaksiyonunda ısıya dayanıklı bir DNA polimeraz olan Taq DNA polimeraz kullanılmaktadır. Enzimin yapısı gereği sahip olduğu

termal kararlılığı sayesinde hem primer özgüllüğünü arttıran nispi yüksek sıcaklıklardaki aktivasyon sürdürülebilmekte hem de DNA'nın yüksek sıcaklıklardaki denatürasyonuna dayanmasını sağlamaktadır.

PZR temel olarak üç adımdan oluşmaktadır. Birinci adım olan denatürasyonda,PZR bileşenleri,çok küçük bir test tüpünde,94-96°C'ye kadar ısıtılır. Bu işlem DNA'leri denatüre eder ve iki tamamlayıcı ipi birbirinden ayırır. İkinci adım olan soğutmada ise tüp soğutularak DNA primerlerinin hedef sekansları ile baz çiftleşmesi yoluyla bağlanması sağlanır. Primer DNA sekansı, hedefi tamamlayıcı niteliktedir. Son adım olan uzatma aşamasında DNA polimeraz,DNA primerlerine bağlanır ve daha sonra primerleri her seferinde bir nükleotit kadar uzatarak aynı anda şablonu okur ve ardından şablonu tamamlayan bir nükleotit yerleştirir [208]. Örneğin;Şablon ipliğin bir "A" olması durumunda,DNA polimeraz,yeni sentezlenen ipliğe tamamlayıcı pozisyonda bir "T" yerleştirir. Bu işlemin bir dizi döngü boyunca tekrarlanmasıyla hedef DNA'nın konsantrasyonu katlanarak artmış olur. Örneğin;Amplifikasyon için hedefin tek bir kopyası varsa bir PZR döngüsünde miktarını iki katına çıkaran tek bir kopya oluşturur. Hedef PZR'nun ikinci döngüsünde kopyalanabilecek iki hedef olacak ve hedef miktarı dörde katlanacaktır. Üçüncü döngüde hedefi dört ila sekiz daha sonra sekiz ila onaltı şeklinde artarak devam etmektedir [208].

2.13.2.2. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qPZR), bir hedef DNA sekansının veya ilgilenilen bir genin spesifik nükleotit sekansının ekspresyon seviyesini ölçmek için kullanılan analitik bir araçtır. Temel olarak kalitatif PZR'dan farklıdır çünkü sadece ilgilenilen genin belirli koşullar altında ifade edilip edilmediğini belirlemesine değil aynı zamanda kontrollü bir örneğe göre, ilgilenilen genin seviyesinin ifadesinin hesaplamasına izin verir. qPZR yöntemi, normal PZR reaktiflerine (Taq polimeraz,primerler,dNTP'ler ve tamponlama reaktifleri) ek olarak floresan belirteçlerin kullanılmasını gerektirir. Bunlar,belirli bir nükleotit sekansına veya PZR döngüleri sırasında ortaya çıkan herhangi bir çift sarmallı DNA'leri (SYBR® Green) bağlayan boyalara bağlanan ya da oligonükleotit probları (TaqMan) formunda olabilen kimyasal belirteçlerdir. TaqMan gibi prob bazlı analizlerde, bir floresan

sinyalin emisyonu yalnızca prob eğer hedefe spesifik nükleotit sekansı ile etkileşime girmişse meydana gelir. Öte yandan SYBR®Green boyalar ise herhangi bir çift sarmallı nükleotit sekansı ile temas ettiğinde bir floresan sinyali yaymaktadır. Uygun qPZR protokolü izlendiğinde ve primerler dikkatle tasarlandığında SYBR®Green tabanlı testlerle TaqMan ile aynı derecede yüksek performanslı sonuçlar daha az kurulum ve işletme maliyeti ile elde edilebilmektedir. SYBR®Green tabanlı testler daha düşük maliyetli olduklarından dolayı birçok laboratuvar için metodolojik açıdan daha cazip gelmektedir [209].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Mayıs 2019-Mayıs 2020 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda transrektal ultrasonografi eşliğinde alınmış olan prostat biyopsi örnekleri ile gerçekleştirilmiştir. Biyopsi örneklerine ait histopatolojik değerlendirme sonuçları fakültemiz Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilmiş, hasta ve kontrol gruplarının oluşturulması sırasında bu sonuçlar kullanılmıştır. Biyopsi örneklerinden DNA izolasyonu ve PZR analizleri Anabilim Dalımız Ekrem Kadri Unat 2 Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar danışman hocamla birlikte değerlendirilmiştir. Fakültemiz Etik Kurulu'ndan onay alınarak gerçekleştirilen olgu kontrol temelli kesitsel çalışmaya katılan her bireye onam formu (Formlar bölümünde yer almaktadır.) okutulmuş ve gereken onam alınmıştır (Etik kurul karar no:54138).

3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

3.1.1. Hasta Grubu

Hasta grubu, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,Üroloji Anabilim Dalı'na sık idrara çıkma,kesik kesik idrar yapma,gece idrara kalkma,zor idrar yapma,ağrılı idrar yapma,kanlı idrar ve kanlı meni yakınmaları ile müracaat eden,TRU eşliğinde alınan biyopsi örneğinin histopatolojik inceleme sonucu PK tanısı alan,PK dışında farklı bir kanser tanısı almamış,biyopsi alınmadan evvelki 2 hafta içinde antibakteriyel tedavi almamış 60 erişkin hastayla oluşturulmuştur. Her hasta için yalnızca bir biyopsi örneği kullanılmıştır.

3.1.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na sık idrara çıkma,kesik kesik idrar yapma,gece idrara kalkma,zor idrar yapma,ağrılı idrar yapma,kanlı idrar ve kanlı meni yakınmaları ile müracaat eden,TRU eşliğinde alınan biyopsi örneğinin histopatolojik inceleme sonucu PK tanısı veya farklı bir kanser tanısı almamış,biyopsi alınmadan evvelki 2 hafta içinde antibakteriyel tedavi almamış,özellikle yaş bakımından hasta grubunu oluşturan bireylerle eşleştirme yapılarak (match) çalışmaya dahil edilmiş olan 60 erişkin bireyle oluşturulmuştur. Hasta grubunun yaş

ortalaması:64,08 ± 6,66, kontrol grubunun yaş ortalaması:61,85 ± 5,81, (Tablo:3.1). Her kontrol için yalnızca bir biyopsi örneği kullanılmıştır.

3.2. Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri

3.2.1. Hasta Grubu Dışlanma Ölçütleri

Histopatolojik değerlendirmesinde PK görülmeyen,biyopsi alımı öncesindeki son 2 hafta içinde antibiyotik kullanan ve PK dışında başka bir kanseri olan hastalar,erişkin olmayan hastalar,son 2 ay içerisinde kemoterapi veya radyoterapi alan hastalar çalışmadan dışlanmıştır.

3.2.2. Kontrol Grubu Dışlanma Ölçütleri

Histopatolojik değerlendirmesinde PK tanısı alan,biyopsi alımı öncesindeki son 2 hafta içinde antibiyotik kullanan ve PK dışında başka bir kanseri olan hastalar,erişkin olmayan hastalar,son 2 ay içerisinde kemoterapi veya radyoterapi alan hastalar çalışmadan dışlanmıştır.

3.3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Prostat kanseri için en yaygın risk faktörünün yaş olduğu belirtilmektedir. PK'nin insidansı ve mortalitesi yaş ilerledikçe artmakta ve en yüksek ortalama'nın 66 yaş civarında olduğu belirtilmektedir [210]. Amerikan Kanser Araştırmaları Enstitüsü ABD'de PK tanısı alan hastaların %97'sini 50 yaş üstü hastalar olduğunu ve ortalama yaşın 65 yaş olduğunu belirtmektedir [210]. United State Preventive Service Task Force (USPSTF), 55 ila 69 yaş aralığının prostat kanser riski bakımından en önemli yaş aralığı olduğunu belirterek özellikle bu yaş aralığındaki erkeklerin PSA testi ile PK yönünden taranmasını önermektedir [211]. 70 yaş ve üstü erkeklerde prostat kanseri için PSA tabanlı taramayı önermese de prostat kanserinden ölümlerin en çok >75 yaş erkeklerde görülmesi nedeniyle klinik şikayetleri olan bireylerde PSA'nın tanıyı destekleyici bir test olarak kullanılabileceğini belirtmektedir [211].

Bu veriler doğrultusunda çalışmamızda yer alan 60 hastanın 55-75 yaş arasındaki erkeklerden oluştuğu dikkate alınmış,kontrol grubundaki 60 erkek de bu yaş aralığından seçilmiştir. Ayrıca, hasta ve kontrol grubundaki 55-75 yaş arası erkekler,55-65 yaş grubu ve 66-75 yaş grubu olmak üzere 2 farklı yaş grubuna ayrılarak,farklı yaş aralıklarının sonuçları etkileyip etkilemediği araştırılmıştır.

Çalışmamızda PK tanısı almış 60 hastanın 31'inin (%51,6) 55-65 yaş grubunda olduğu,29'unun (%48,3) 66-75 yaş grubunda olduğu görülmüştür. Kontrol grubumuzdaki bireyler,hasta gruplarının yaş aralıkları ve birey sayısı ile eşleştirilerek oluşturulmuştur. Buna göre kontrol grubu 55-65 yaş grubunda 31 (%51,6) birey, 66-75 yaş grubunda 29 (%48,3) bireyden oluşmuştur (Tablo 3.1).

Tablo 3.1:Hasta ve kontrol grubuna ait parametrik bilgiler

Parametrik bilgiler	Hastalar	Kontroller
Toplam sayı (n)	60	60
Ortalama yaş	64,08 ± 6,66	61,85 ± 5,81
55-65 yaş: n (%)	31 (%51,6)	31 (%51,6)
Ortalama yaş (55-65 yaş grubu)	59,29 ± 4,09	57,93 ± 2,23
66-75 yaş: n (%)	29 (%48,3)	29 (%48,3)
Ortalama yaş (66-75 yaş grubu)	70,04 ± 3,75	66,72 ± 5,18

3.4. Gereçler

3.4.1. Deneylerde Kullanılan Malzemeler

• Steril edilmiş plastik kriyoviyal flakonlu şeffaf numune saklama ve dondurma tüpleri
• Steril petri
• Steril bistüri ucu
• Steril edilmiş 2 ml'lik eppendorf tüpleri
• Etanol
• 10-100 µl'lik mikropipet
• 100-1000 µl'lik mikropipet
• 100 µl'lik ve 1000 µl'lik filtreli pipet uçları
• 2 ml'lik toplama tüpleri
• 0,2 ml'lik steril edilmiş ince çeperli PZR Tüpleri

3.4.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

•Vorteks (Dlab MX-S)

•Çalkalamalı inkübatör (FINEPCR BAE07-H300)

•Mikro santrifüj (Hettich Mikro 120)

•Spektrofotometre (Nanodrop One ThermoFisher Scientific)

•RotorGene Q 5plex HRM (Qiagen)

•Buzdolabı ve derin dondurucusu (LG-B502GVTW)

3.4.3. Deneylerde Kullanılan Kitler ve Kimyasallar

3.4.3.1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Kimyasallar ve Ticari Kitler

• QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen,GmBH,Hilden,Almanya)

Kit içerisinde bulunan malzemeler ve kimyasalların listesi aşağıda yer alan tabloda gösterilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2:DNA izolasyon kiti (QIAamp DNA Mini Kit) içinde bulunan malzemeler ve kullanıldıkları aşamalar

Kit İçerisinde Bulunan Malzemeler	Kullanım aşaması
ATL Tamponu (14 ml)	Doku Lizis Tamponu:Dokuların eritilmesi ve ufalanmasını ve sıcaklık ile homojen hale gelmesini sağlar. DNA izolasyonunun 1. aşamasında kullanıldı.
Proteinaz K (1.25 ml)	Enzim:DNA izolasyonunda proteinlerin parçalanması için kullanılan enzim. DNA izolasyonunun 2. aşamasında kullanıldı.
AL Tamponu (12 ml)	Lizis Tamponu:Uygun pH ve tuz konsantrasyonuyla DNA'nın katı yüzeye yapışmasını sağlar ve geri kalanların yıkamada uzaklaştırılmasını sağlar DNA izolasyonunun 3. aşamasında kullanıldı.
Sample Tüpleri (2 ml'lik x 50 adet)	Toplama Tüpleri:Mikrosantrifüj tüpleri içinde DNA'nın bağlanmasını sağlayan matriks tabakasına sahip tüpler. DNA izolasyonunun 5. aşamasından sonra kullanıldı.
Mini Spin Kolonlar (50 adet)	Filtreli Toplama Tüpleri:Bakteriyel DNA'ların saflaştırılmasında kullanılabilen filtreli küçük santrifüj edilebilir tüpler. DNA izolasyonunun 5. aşamasından sonra kullanıldı.
AW1 Tamponu (19 ml x2)	Yıkama Solüsyonu:Katı yüzeye yapışan ve istenmeyen kontaminantları uzaklaştırılmasını sağlar. DNA izolasyonunun 6. aşamasında kullanıldı.
AW2 Tamponu (13 ml x2)	Yıkama Solüsyonu:Katı yüzeye yapışan ve istenmeyen kontaminantları uzaklaştırılmasını sağlar. DNA izolasyonunun 7. aşamasında kullanıldı.
AE Tamponu (15 ml x2)	Elüsyon Tamponu:Tüpteki matriks tabakasına yapışan DNA'ların ayrılmasını sağlar. DNA izolasyonunun 8. aşamasında kullanıldı.

Çalışmamızda, elde ettiğimiz DNA'lardan bakterilerin kantitasyonunu hesaplamak için üretici firma tarafından hazırlanan Microbial DNA qPCR Assay kitleri içerisinde bulunan primerleri kullandık. Kit içerisinde bulunan malzemeler ve primer/probe karışımı aşağıda belirtilmiştir.

3.4.3.2. Gerçek Zamanlı PZR İçin Mikrobiyal DNA qPCR Assay Kitleri (QIAGEN Microbial DNA qPCR Assay) İçerisinde Bulunan Malzemeler

•Mikrobiyal DNA mastermix ROX (1,35 ml x2)

•Mikrobiyal DNA pozitif kontrol (50 µl)

•Mikrobiyal DNA içermeyen su-V2 (1,35 ml x 12)

•*Bacteroides fragilis*-Katalog No:BPID00051AR (Primer/Probe Karışımı 100 µl) (Şekil 3.1).

(Aksesiyon numarası FJ367787.1) (Şekil 3.1).

FASTA: >FJ367787.1/16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GATGAACGCTAGCTACAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGGGGCATCAGGAAGAAAGCTTGCTTTCTTTGCTGGCGACCGGCGCACGGGTGAGTAACA
CGTATCCAACCTGCCCTTTACTCGGGGATAGCCTTTCGAAAGAAAGATTAATACCCGATGGCATAATGATTCCGCATGGTTTCATTATTAAAGGATT
CCGGTAAAGGATGGGGATGCGTTCCATTAGGTTGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGCCTTCGATGGATAGGGGTTCTGAGAGGAAGGTCCCCCAC
ATTGGAACTGAGACACGGTCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATGGGCGCTAGCCTGAACCAGCCAAGTAGCGTGAAGGA
TGAAGGCTCTATGGGTCGTAAACTTCTTTTATATAAGAATAAAGTGCAGTATGTATACTGTTTTGTATGTATTATATGAATAAGGATCGGCTAACTC
CGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCGAGCGTTATCCGGATTTATTGGGTTTAAAGGGAGCGTAGGTGGACTGGTAAGTCAGTTGTGAAAG
TTTGCGGCTCAACCGTAAAATTGCAGTTGATACTGTCAGTCTTGAGTACAGTAGAGGTGGGCGGAATTCGTGGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATAT
CACGAAGAACTCCGATTGCGAAGGCAGCTCACTGGACTGCAACTGACACTGATGCTCGAAAGTGTGGGTATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
CCACACAGTAAACGATGAATACTCGCTGTTTGCGATATACAGTAAGCGGCCAAGCGAAAGCATTAAGTATTCCACCTGGGGAGTACGCCGGCAACGG
TGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGAGGAACATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCCGGGCTTAAATTGCAG
TGGAATGATGTGGAAACATGTCAGTGAGCAATCACCGCTGTGAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTCGGCTTAAGTGCCA
TAACGAGCGCAACCCTTATCTTCAGTTACTAACAGGTTATGCTGAGGACTCTGGAGAGACTGCCGTCGTAAGATGTGAGGAAGGTGGGGATGACGTC
AAATCAGCACGGCCCTTACGTCCGGGGCTACACACGTGTTACAATGGGGGGTACAGAAGGCAGCTAGCGGGTGACCGTATGCTAATCCCAAAATCCT
CTCTCAGTTCGGATCGAAGTCTGCAACCCGACTTCGTGAAGCTGGATTCGCTAGTAATCGCGCATCAGCCACGGCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCC
TTGTACT

Şekil 3.1:FJ367787.1/B. fragilis 16s ribosomal rRNA gen dizisi [212].

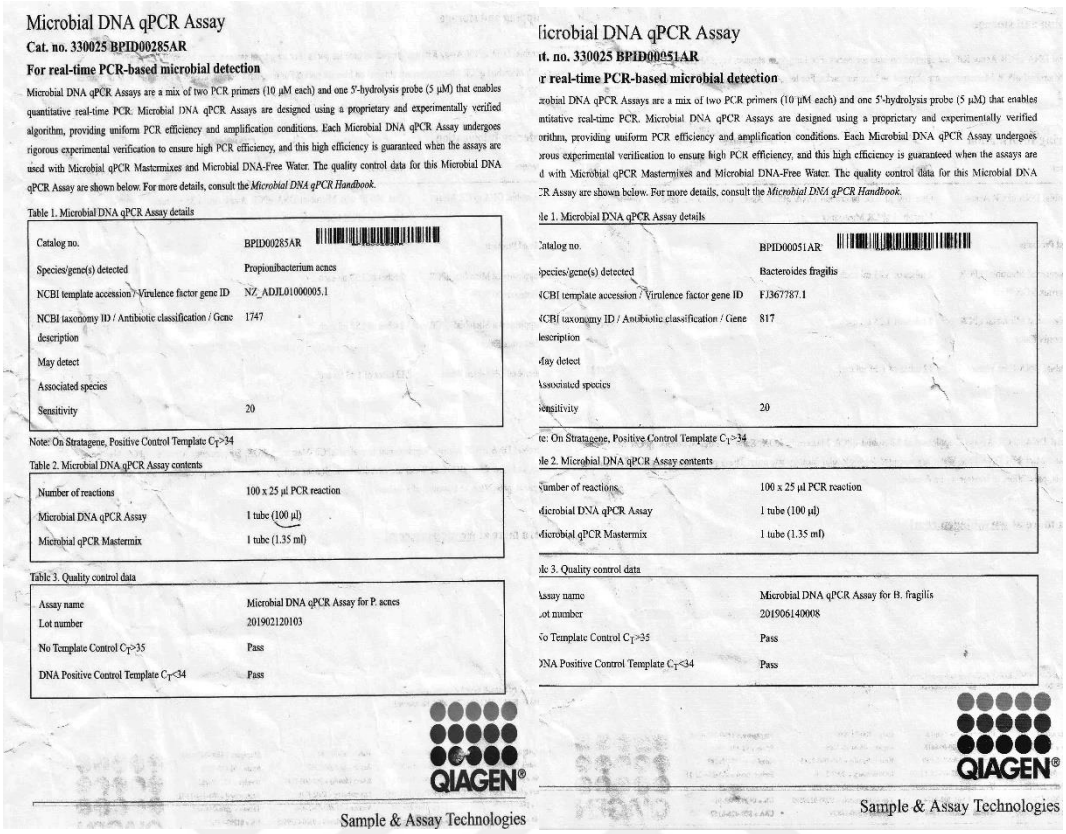
•*Cutibacterium acnes*-Katalog No:BPID00285AR (Primer/Probe Karışımı 100 µl) (Şekil 3.2).

(Aksesiyon numarası NZ_ADJL01000005.1) (Şekil 3.2).

FASTA: >NZ_ADJL01000005.1 Cutibacterium acnes J165 contig00146, whole genome shotgun sequence

CTGGTCGTAGTGCTAGCGCGCCGAGCAGTTAGTGTTGGTGTGGTGGTTTCAGTGAGTGTTAGGACACGCTAGCCATGCCTCCCACGTGGCATGGTTA
CATAATCTGGTGGTGTGGTGTCAGGCCACACTCGTATTCCCCTACACCCGGGCCTGGTTATGTCTAGCAATAATGCGACCTATAGTCTGGCTGGGGC
CTGGGCGTGTGGGTATGCGTGTGTGGGTGTATCACCCCTCCAGCCAGTCTGGCTGGAGGGGTGATACACCCACACACGCATACTCCTTCCCCCCTGG
GGGAAGGAACAGTATAAGTATTCCGGCAGCGTCTTACTCTCCCACACGATCCCTCGTGCAGTACCATCAGCGTTGGAAGGCTTAACGACCGGGTTCG
GAATGGGACCGGGTGTTTCCCTTCCACTATGGCCACCGGAAAACCTGAAAACCATACAGTAGAACACATACATTAAACGGCGCAACCCGTGAAGGGG
CTGGGAGCCGTATAGTGGATACGAGTCACGCGCACACACGCGTATGGTGTTAATGAAAGTCCTCGGTCTATTAGTACCAGTCAGCTCCACACCTTAC
GATGCGTCCACGTCTGGCCTATCAACCCGATCATCTCTCGGGGACCTTACCAGGAACACTCCTGTGGGAACCCTTATCTTGAAGCGTGCTTCCCGCT
TAGATGCTTTCAGCGGTTATCACAACCCGACGTAGCCAACCAGCCATGCTCTTGGCAGAACAACTGGCACACCAGAGGTCAGTCCGTCTCGGTCCTC
TCGTACTAAAGACAGCCCTTCTCAAGATTCCTCCGCGCGCAGCGGATAGGGACCGAACTGTCTCACGACGTTCTGAACCCAGCTCGCGTGCCGCTTT
AATGGGCGAACAGCCCAACCCTTGGGACCGACTCCAGCCCCAGGATGCGACGAGCCGACATCGAGGTGCCAAACCATGCCGTCGCTATGAGCGCTCG
GGCAAGATCAGCCTGTTATCCCCGGGGTACCTTTTATCCGTTGAGTGACGGCGCATCCACAAGCCACCGTCAGATCACTAGTCCCGACTTTCGTCCC
TGCTCGACCTGTCAGTCTCACAGTCAAGCCCCCTTGTGCACTTACACTCACCACCTGATTACCAACCAGGCTGAGGGAACCTTTGGGCGCCTCCGTT
ACCCTTTAGGAGGCGACCGCCCCAGTCAAACTACCCATCAGGCACTGTCCTTGAACCGGATCACGGTCCACAGTGAGATAACCAGAACAATCAGAGT
GGTATTTCACCAACGACTCCACCACCACTAGCGTGGCCGCATCAACGTCTCCCACCTATCCTACACAAACCGTCCCAATCACCAATACCAAACTATA
GTAAAGGTCCCGGGGTCTTTCCGTCCTGCTGCGCGTAACGAGCATCTTTACTCGTAATGCAATTTCACCGAGTTCATGGTGGAGACAGTAGGGAAAT
CGTTACTCCATTCGTGCAGGTCGGAACTTACCCGACAAGGAATTTCGCTACCTTAGGATGGTTATAGTTACCACCGCCGTTTACTGGGGCTTAAGTT
CACCGCTACGCATACACTCACAGTTCCCCTTAACCTTCCAGCACCGGGCAGGAGTCAGTCCGTATACATCGTCTTACGACTTCGCACGGACCTGTGT
TTTTGGTAAACAGTCGTTTCCCCCTGGACTCTGCGCCCCTCACCGCCACCACACCGCACGGGTGCACGACAGCTCAGGTCCCCCTTATCCCAAAGTT
ACGGGGGCATTTTGCCGAGTTCCTTCACCACGATTCACTCGATCGCCTCGGTATACTCTACCTATCCACCAGTGTCGGTTTAGGGTACGGGCGGACC
CGCCACCTCGCTCACGAAGCTTTTCTCGACAGTACAGGATCACTCACTCACCCACAACCATGGGCTCCCCATCATG

Şekil 3.2:NZ_ADJL01000005.1 Cutibacterium acnes 16s ribosomal rRNA gen dizisi [213].



Microbial DNA qPCR Assay

Cat. no. 330025 BPID00285AR

For real-time PCR-based microbial detection

Microbial DNA qPCR Assays are a mix of two PCR primers (10 µM each) and one 5'-hydrolysis probe (5 µM) that enables quantitative real-time PCR. Microbial DNA qPCR Assays are designed using a proprietary and experimentally verified algorithm, providing uniform PCR efficiency and amplification conditions. Each Microbial DNA qPCR Assay undergoes rigorous experimental verification to ensure high PCR efficiency, and this high efficiency is guaranteed when the assays are used with Microbial qPCR Mastermixes and Microbial DNA-Free Water. The quality control data for this Microbial DNA qPCR Assay are shown below. For more details, consult the *Microbial DNA qPCR Handbook*.

Table 1. Microbial DNA qPCR Assay details

Catalog no.	BPID00285AR
Species/gene(s) detected	Propionibacterium acnes
NCBI template accession / Virulence factor gene ID	NZ_ADJL01000005.1
NCBI taxonomy ID / Antibiotic classification / Gene description	1747
May detect	
Associated species	
Sensitivity	20

Note: On Stratagene, Positive Control Template C_T>34

Table 2. Microbial DNA qPCR Assay contents

Number of reactions	100 x 25 µl PCR reaction
Microbial DNA qPCR Assay	1 tube (100 µl)
Microbial qPCR Mastermix	1 tube (1.35 ml)

Table 3. Quality control data

Assay name	Microbial DNA qPCR Assay for P. acnes
Lot number	201902120103
No Template Control C_T>35	Pass
DNA Positive Control Template C_T<34	Pass

QIAGEN®

Sample & Assay Technologies

licrobial DNA qPCR Assay

t. no. 330025 BPID00051AR

r real-time PCR-based microbial detection

robial DNA qPCR Assays are a mix of two PCR primers (10 µM each) and one 5'-hydrolysis probe (5 µM) that enables ntitative real-time PCR. Microbial DNA qPCR Assays are designed using a proprietary and experimentally verified orithm, providing uniform PCR efficiency and amplification conditions. Each Microbial DNA qPCR Assay undergoes rous experimental verification to ensure high PCR efficiency, and this high efficiency is guaranteed when the assays are d with Microbial qPCR Mastermixes and Microbial DNA-Free Water. The quality control data for this Microbial DNA CR Assay are shown below. For more details, consult the *Microbial DNA qPCR Handbook*.

le 1. Microbial DNA qPCR Assay details

Catalog no.	BPID00051AR
pecies/gene(s) detected	Bacteroides fragilis
CBI template accession / Virulence factor gene ID	FJ367787.1
CBI taxonomy ID / Antibiotic classification / Gene escription	817
lay detect	
ssociated species	
ensitivity	20

te: On Stratagene, Positive Control Template C_T>34

le 2. Microbial DNA qPCR Assay contents

umber of reactions	100 x 25 µl PCR reaction
icrobial DNA qPCR Assay	1 tube (100 µl)
icrobial qPCR Mastermix	1 tube (1.35 ml)

le 3. Quality control data

ssay name	Microbial DNA qPCR Assay for B. fragilis
ot number	201906140008
o Template Control C_T>35	Pass
NA Positive Control Template C_T<34	Pass

QIAGEN®

Sample & Assay Technologies

Şekil 3.3:Mikrobiyal DNA qPCR Assay primer/probe katolog numaraları ve NCBI veri bankasında yer alan referans numaraları

3.5. Yöntemler

Biyopsi örneklerinin toplanmasından deneylere ait sonuçların elde edilmesine kadar aşağıda yazılan yöntemler kullanılmıştır:

1. Hazırladığımız formlara hasta ve kontrollere ilişkin bilgilerin doldurulması

2. Biyopsi örneklerinin laboratuvara taşınması ve -20°C'de saklanması

3. Hastalara ve kontrollere ait örneklerden bakteri DNA'larının izolasyonu

4. Gerçek zamanlı PZR (qPZR) ile elde edilen DNA'lardan *C. acnes* ve *B. fragilis*'in kantitasyonunun yapılması

3.5.1. Hasta ve Kontrollere İlişkili Bilgilerin Toplanması

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji A.B.D'na TRU eşliğinde prostat biyopsisi alınacak bireylerin biyopsi örnekleri alınmadan önce çalışma için hazırladığımız formlar dolduruldu. Bu formlarda bireylere yaşları, meslekleri, daha önce yapılan PSA sonuçları,beslenme alışkanlıkları,sigara ve alkol tüketim sıklıkları,asitli içecek tüketim sıklıkları,tanımlanmış kronik bir hastalıklarının olup olmadığı,antibakteriyel bir tedavi alıp almadıkları,daha

önce tanı aldıkları önemli hastalıkları olup olmadığı,daha önce herhangi bir kanser tanısı alıp almadıkları,ailesel herhangi bir kanser ve prostat kanseri öyküsüne sahip olup olmadıkları sorulmuştur.

3.5.2. Biyopsilerin Laboratuvara Taşınması ve Saklanması

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilen TRU eşliğinde steril şartlar altında alınan biyopsiler şeffaf numune saklama ve dondurma tüpleri içine konularak en kısa zamanda laboratuvara transfer edildi. DNA izolasyonu yapılana kadar -20°C'de saklandı.

3.5.3. Biyopsilerden Bakteri DNA'sının İzolasyonu

Çalışmamızda DNA izolasyonunu QIAamp DNA Mini Kiti ile gerçekleştirdik (QIAGEN GmBH,Hilden,Almanya). Yöntem kit prospektüsüne göre aşağıdaki sıraya göre uygulanmıştır.

1)Biyopsi örnekleri -20°C'deki derin dondurucudan çıkarıldı ve 15-25°C ortam sıcaklığında tutularak çözünmesi beklendi.

2)Çalkalamalı ısıtıcı önceden ısıtılarak sırasıyla 56°C'ye ve 70°C'ye ayarlandı.

3)DNA izolasyon talimatının 8.adımında elüsyon için kullanılacak olan tampon AE oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi.

4)Aşamalar gerçekleştirilmeden önce AL,AW1 ve AW2 tamponları hazır hale getirildi.

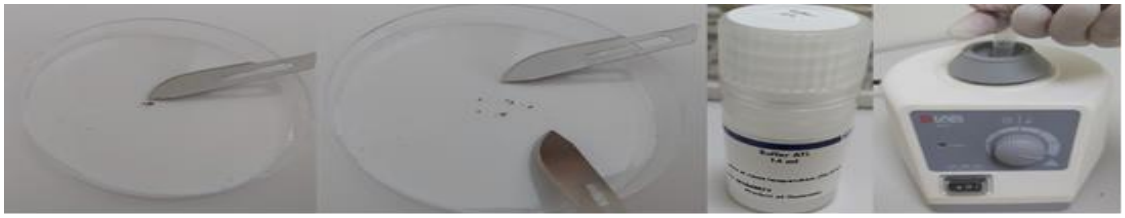
4.a)Tampon AL kullanıma kadar 15–25°C'de saklandı ve kullanmadan önce iyice çalkalanarak karıştırıldı.

4.b)Tampon AW1 kullanıma kadar 15–25°C'de saklandı ve kullanılmadan önce şişe üzerinde belirtilen miktarda %96-100 oranında etanol ilave edilerek kullanıma hazır hale getirildi.

4.c)Tampon AW2 kullanıma kadar 15–25°C'de saklandı ve kullanılmadan önce şişe üzerinde belirtilen miktarda %96-100 oranında etanol ilave edilerek kullanıma hazır hale getirildi.

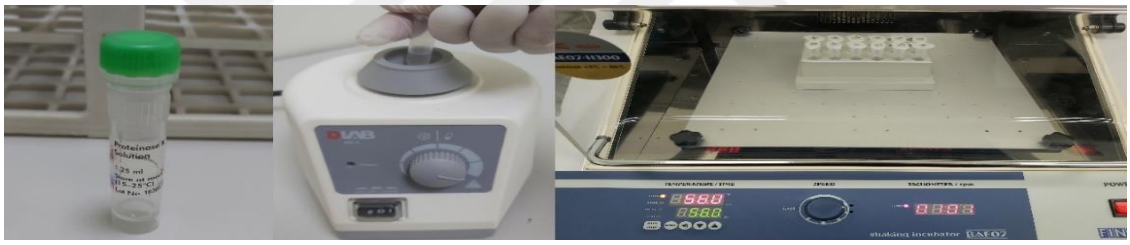
3.5.3.1. DNA İzolasyonu

1.Her bir biyopsi örneği steril petriler içerisinde steril bisturiler yardımıyla iyice ufalanıncaya kadar küçültüldü ve 2 ml'lik steril edilmiş ependorf tüpleri içerisine aktarılıp 180 µl Doku Lizis Tamponu (ATL) eklenerek 15-20 saniye boyunca vortekslendi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4:Dokuların mekanik olarak parçalanmasının ardından tüplere ATL tamponu eklenerek tüplerin vortekslenmesi

2.Ardından vortekslenmiş tüplere 20 µl Proteinaz K eklendi ve yeniden 15-20 saniye boyunca vortekslendikten sonra üretici firmanın direktifleri doğrultusunda çalkalamalı ısıtıcıda 56°C'de 1-3 saat boyunca inkübe edildi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5:Doku lizis tamponu (ATL) ile vortekslenen tüplere enzim ilavesi ardından 56°C'de 1-3 saat boyunca dokuların inkübasyon bırakılması

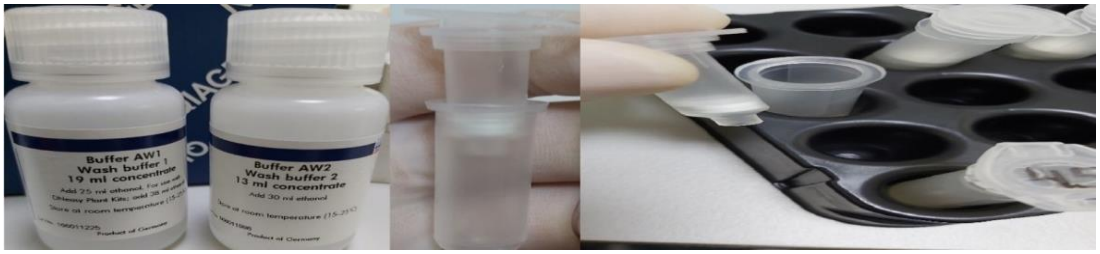
3.İnkübasyonun ardından tüplere 200 µl Lizis Tamponu (AL) tamponu eklendikten sonra 15-20 saniye boyunca vortekslendi ve 70°C'de 10 dakika boyunca çalkalamalı ısıtıcıda tekrar inkübe edildi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6:İnkübasyon sonrası dokulara lizis tamponu (AL) ilave edilip vortekslenen tüplerin 70°C 'de 10 dakika boyunca dokuların inkübasyona bırakılması

4.Örneklere 200 µl etanol (%96-100) eklendi ve 15-20 saniye boyunca vortekslenerek homojenize edildi.

5.Ependorflar içerisinde bulunan etanol ilave edilmiş örnekler, filtresi zedelenmeden ve kenarları ıslatılmadan 2 ml'lik steril bir toplama tüpü içerisinde bulunan QIAamp mini spin kolonuna (filtre) aktarıldı ve ardından 8000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj işleminin ardından QIAamp mini spin kolonu yeni bir toplama tüpü içerisine yerleştirildi ve süzüntü içeren toplama tüpü atıldı (Şekil 3.7).



Şekil 3.7:Yıkama solüsyonu 1 ile 2 (AW1 ve AW2) ve QIAamp mini spin kolon ve toplama tüpleri

6.QIAamp mini spin kolonuna aktarılan her bir örneğe 500 µl AW1 tamponu eklendi ve 8000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Ardından QIAamp mini spin kolonu 2 ml'lik temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi ve süzüntü içeren toplama tüpü atıldı (Şekil 3.8).



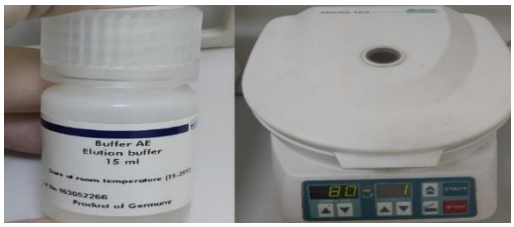
Şekil 3.8:Dokulardan yıkama solüsyonu (AW1) ile 8000 rpm'de 1 dakika boyunca yabancı maddelerin santrifüj edilerek uzaklaştırılması

7.QIAamp mini spin kolonuna AW1 tamponu eklenmiş her bir örneğe 500 µl AW2 tamponu eklendi ve 14.000 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüj edildi. Süzüntüyü içeren toplama tüpü boşaltılıp tekrar yerine takıldıktan sonra 14.000 rpm'de 1 dakika boyunca tekrar santrifüj edildi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9:Dokulardan yıkama solüsyonu (AW2) ile 14.000 rpm'de 3 dakika boyunca ve 1 dakika boyunca yabancı maddelerin santrifüj edilerek uzaklaştırılması

8.Santrifüjlenen her bir biyopsi örneğinin süzüntü içeren toplama tüpleri atıldıktan sonra filtreler 2 ml'lik steril edilmiş temiz ependorflara yerleştirildi. Ardından 100 µl Elüsyon tamponu (AE) eklendikten sonra oda sıcaklığında 5 dakika boyunca inkübe edildi ve 8000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj edilerek bakteriyel DNA'lar izole edildi (Şekil 3.10).



Şekil 3.10:Dokuların Elüsyon tamponu (AE) ile 8000 rpm'de 1 dakika boyunca santrifüj edilmesi ve bakteriyel DNA'ların elde edilmesi

9.Dokulardan elde edilen DNA'lar NanoDrop One spektrofotometre (ThermoFisher Scientific,Waltham,MA,USA) cihazıyla 260/280 nm'deki ng/µl cinsindeki derişimleri ve saflıkları ölçüldü (Şekil 3.11).



Şekil 3.11:Elde edilen Bakteriyel DNA'ların ThermoScientific NanoDrop One cihazı ile derişim ve saflıklarının ölçülmesi

10.Elde edilen DNA'lar qPZR işlemine dek 2 ml'lik steril ependorf tüpleri içerisinde -20°C'de saklandı.

3.6. *C. acnes* ve *B. fragilis*'in qPZR İle Kantitasyonun Yapılması

Genomik DNA'lar ve Mikrobiyal qPCR Mastermix ROX buz üzerinde (4°C'de) çözündürüldü ve ardından vortekslendi.

1)DNA örnekleri ile *C. acnes ve B. fragilis* mastermiks+genomik DNA hazırlandı.

2)Gerçek zamanlı PZR uygulandı.

3)Elde edilen veriler değerlendirildi.

3.6.1. DNA Örnekleriyle *C. acnes ve B. fragilis* Mastermiks+Genomik DNA Hazırlama İşlemi

Her grup için çalışılacak olan 2 primere uygun olarak ayrı mastermiks+genomik DNA hazırlama protokolü uygulandı (Tablo 3.3 ve 3.4).



Şekil 3.12:Mastermiks+genomik DNA hazırlanmasında kullanılan malzemeler

Üretici firmanın direktifleri doğrultusunda aşağıdaki basamaklar gerçekleştirildi:

Tablo 3.3:*C. acnes* mastermiks+genomik DNA hazırlama protokolü

Malzeme	**Örnek Başına Hacim Miktarı**
Mikrobiyal qPCR Mastermix ROX	12.5 µl
C. acnes primer/probe karışımı	1 µl
Genomik DNA	5 µl
Mikrobiyal DNA-İçermeyen Su	6.5 µl
Toplam Hacim	25 µl

Tablo 3.4:*B. fragilis* mastermix+genomik DNA hazırlama protokolü

Malzeme	**Örnek Başına Hacim Miktarı**
Mikrobiyal qPCR Mastermix ROX	12.5 µl
B. fragilis primer/probe karışımı	1 µl
Genomik DNA	5 µl
Mikrobiyal DNA-İçermeyen Su	6.5 µl
Toplam Hacim	25 µl

3.6.2. Mikrobiyal DNA Pozitif Kontrol

Her çalışmada en az bir pozitif kontrol kullanılmıştır. Pozitif kontrolün doğru çalışması hedef patojen gen için primer ve probların doğru çalıştığını gösterir. Pozitif kontrolün negatif sonuç vermesi test sonuçlarının geçersiz olduğunu ve testin tekrarlanması gerektiğini gösterir. Diğer kit bileşenlerinin pozitif kontrol tarafından kontamine edilmemesi için diğer tüm örnekler ve negatif kontrol pipetlendikten sonra pozitif kontrol tüpü hazırlanmıştır. *C. acnes* ve *B. fragilis* için ayrı hazırlanan pozitif kontrol reaksiyonları içerisine 12,5 µl Mastermix ROX,11,5 µl Mikrobiyal DNA Pozitif Kontrol ve 1 µl *C. acnes*/*B. fragilis* primeri eklenerek total hacim 25 µl olacak şekilde hazırlandı.

3.6.3. Mikrobiyal DNA Negatif Kontrol

Çalışmada kontaminasyon olmadığını göstermek için kit her kullanıldığında negatif kontrol kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak DNAz içermeyen su kullanılmıştır. Negatif kontrolün pozitif sonuç vermesi halinde çalışma tekrarlanmalı ve olası kontaminasyon kaynakları araştırılarak ortamdan uzaklaştırılmalıdır. *C. acnes* ve *B. fragilis* için ayrı ayrı hazırlanan negatif kontrol reaksiyonları içerisine 12,5 µl Mastermix ROX,genomik DNA yerine 11,5 µl Mikrobiyal DNA içermeyen su ve 1 µl *C. acnes*/*B. fragilis* primeri eklenerek total hacim 25 µl olacak şekilde hazırlandı.

3.6.4. Mikrobiyal DNA Standart Kontroller

16S rRNA'ya karşı dizayn edilmiş olan içeriğinde kopya sayısı belli standartlar (1E+01 ile 1E+06 kopya konsantrasyonlarındaki) kantitasyon işlemleri için çalışmamızda kullanılmıştır. Her çalışmada en az bir standart kullanılarak sistem tarafından başlangıçta oluşturulan standart eğrinin çağırılması ve kantitasyonların otomatik alınması sağlandı.

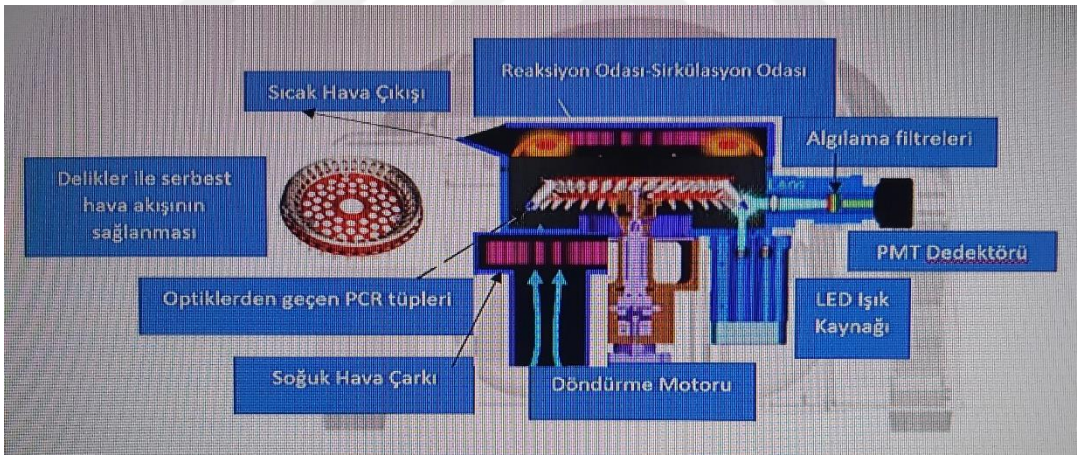
3.6.5. Gerçek Zamanlı PZR Uygulanması

3.6.5.1. Rotor-Gene Q 5plex HRM Sistemi

Sistem, 6 adet uyarıcı kaynak ile detektör kaynağının sabitleştirilmiş optik bir yoldan geçirilmesi sayesinde kalibrasyona ihtiyaç duyulmadan çoklu çalışmalarda kullanılabilmektedir. Örneklerin uyarılması diyotlar aracılığıyla döndürme motorunun yanında yer alan LED ışık kaynakları bölümünden yapılmaktadır. Reaksiyonların gerçekleşebilmesi için gereken enerji rotorun

altında yer alan döndürme motorundan iletilir. Yayılan floresanlar rotorun yanında bulunan algılama filtrelerine geçerek buradaki foton çoğaltıcı detektörler tarafından toplanmaktadır. Rotor çalıştırılmaya başlamadan önce sabitleştirilmesi ve dönme esnasında örneklerin sabitleştirilmiş optik bir yoldan uyarılması sayesinde ROX gibi pasif internal referans boyalara gerek kalmamaktadır.

FAM kanalı (LightCyclerGreen) mikroorganizmaya spesifik hazırlanan primer/probe reaksiyonunu tespit eder. Reaksiyon Taqman prensibi ile çalışmaktadır. Amplifikasyon aşamasında forward ve reverse primerler mikroorganizmaya spesifik olan DNA ile hibridize olur. Reaksiyon karışımı, her biri 10 µm uzunluğunda olan 2 PZR primeri ile 5' ucuna bir floresans ışımayı engelleyici bir maddeyle işaretlenmiş bir hidroliz probundan oluşmaktadır. Amplifikasyonu sırasında prob bölünür ve raportör boya ile hidroliz probu ayrılmaktadır. Her döngü sonunda floresansta ortaya çıkan artış, bir dizi qPZR platformunda tespit edilebilmektedir.



Şekil 3.13:Rotor-Gene Q 5plex HRM Sistemi (Qiagen)

3.6.6. Amplifikasyon Protokolü

Reaksiyon için hazırlanan PZR tüpleri rotora yerleştirilip kilitleme halkası ile Rotor Gene Q cihazına sabitleştirmenin ardından üretici firma tarafından belirtilen qPZR çalışma protokolü başlatıldı (Tablo 3.5).

Tablo 3.5:*C. acnes* ve *B. fragilis* için uygulanan qPZR çalışma protokolü

Aşamalar	Süre	Sıcaklık	Döngü sayısı
1.Preinkübasyon	600 saniye	95°C	1
2.Denatürasyon	15 saniye	95°C	40
3.Uzama/Ölçüm-Real Time	120 saniye	60°C	40
4.Bağlanma	15 saniye	95°C	40

DNA örnekleri gruplanarak önce *B. fragilis* hasta ve kontrol grubu ardından *C. acnes* hasta ve kontrol grubu olacak şekilde 2 grup halinde çalışıldı.

3.6.7. Negatif Örneklerin Değerlendirilmesi

Bir örneğin negatif olarak değerlendirebilmek için, PZR eğrisinin eşik çizgisini kesmemiş olması, bir başka deyişle, pozitiflik sınırının altında kalmış olması gerekmektedir. Ancak bir örneğin PZR eğrisinin, eşik çizgisini kesmemiş olması, o örneğin gerçekten negatif olarak değerlendirilmesi için yeterli değildir. Olası bir inhibisyon,kimyasal reaksiyon,tüp kirlilikleri, pipetleme hataları gibi aksaklıklardan kaynaklanabilen yanlış negatiflikten şüphelenildiğinde sorun giderilebiliyorsa negatifliğin çözülmesi giderilemiyorsa PZR'nun yeni örneklerle yeniden tekrarı önerilmektedir.

3.6.8. Pozitif Örneklerin Değerlendirilmesi

Bir örneği pozitif olarak değerlendirebilmek için, PZR eğrisinin, eşik çizgisini kesmiş olması, bir başka deyişle, pozitiflik sınırının üzerine çıkmış olması gerekmektedir. PZR sırasında pozitif kontrol zayıf veya hiç sinyal vermemişse kitin tarihinin geçip geçmediğine ve kitin gerektiği protokol koşullarının karşılanıp karşılanmadığını,karşılanmamışsa PZR'nun yeniden tekrar edilerek pozitif kontrolün yeniden kontrol edilmesi önerilmektedir. Üretici firmanın direktifleri doğrultusunda taban çizgileri ve eşik değerler manuel olarak ayarlandı ve yazılım ile her hasta ve kontrol örnekleri için üretici firma tarafından eşik ve temel ayarlar için Rotor-Gene önerilen

değerlerine göre ayarlanarak her kuyucuğun eşik döngüsü(ΔCt) değerleri elde edildi. Sybr Green boyası yapısından dolayı herhangi bir çift zincirli DNA ile karşılaşmasının ardından bağlanıp ışıma yapabilmesinden dolayı çoğalma eğrileri(amplifikasyon eğrileri), sistem tarafından otomatik olarak oluşturulan değerleri bilinen standart eğriler ve sistem yazılımı tarafından oluşturulan otomatik sonuçlar eşik ve temel ayarlar için önerilen değerler ile karşılaştırılarak elde edilen değerlerin spesifik olup olmadığı kontrol edilerek doğrulandı.

3.6.9. DNA'lardan Bakteri Kantitasyonu İçin Yapılan İşlemler

Bakterilerin gerçek zamanlı PZR (qPZR) işlemlerinde yukarıdaki yöntemler takip edildi. Konsantrasyonları bilinen plazmid standartların verdikleri Ct değerleri kullanılarak sistem tarafından otomatik oluşturulan standart eğrisi üzerine, numunelerin verdikleri Ct değerleri sistem tarafından aktarılarak bakterilere ait kantitasyonlar hesaplandı. Bu sonuçlar kontrol grubu ve hasta grupları ile karşılaştırıldı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda istatistik programı olarak IBM SPSS versiyon 21 (Statistical Package for the Social Sciences,IBM Analytics,Armonk,New York,USA) kullanıldı. Kategorik veriler sıklık ve yüzdeler sürekli veriler ise ortalama ve standart hata değerleriyle tanımlandı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu vizüel (histogram,boxplot) ve analitik yöntemler (Shapiro Wilk Testi) ile belirlendi. Sürekli değişkenlerin normal dağılım göstermediği durumlarda, iki kategorili niteliksel grupların (*B. fragilis* ve *C. acnes* varlığı/yokluğu gibi) sürekli değişkenler bakımından karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Kategorik verilerin birbirleri ile karşılaştırılmasında Ki-kare testi uygulandı. $P<0,05$ istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Prostat kanseri tanısı almış 60 hastanın tümörlü bölgesine ait biyopsi örneklerinde ve kanser ve başka bir patoloji saptanmamış 60 bireyin prostat dokusundan alınan biyopsi örneklerinde araştırdığımız *C. acnes* ve *B. fragilis* varlığı ve miktarı hakkındaki bulgularımız aşağıda açıklanmıştır.

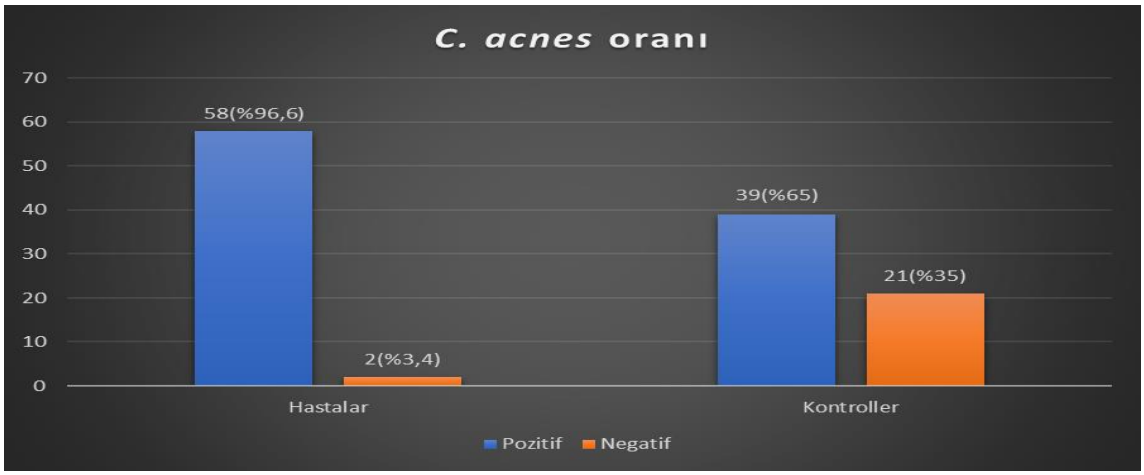
Tablo 4.1:Prostat Kanseri tanısı almış hastalarda ve kontrol grubundaki bireylerde *C. acnes* varlığının s (%) ve miktarlarının (log10bakteri/25mg) karşılaştırılması

Bakteriler		Hasta (s=60)		Kontrol(s=60)		p
		(+)	(-)	(+)	(-)	
C. acnes	s (%)	58 (96,6)	2 (3,4)	39 (65)	21 (35)	<0,001*****
	Miktar	6,14 ± 1,02		4,53 ± 2,63		0,161******

*Pearson Ki-Kare Testi **Mann-Whitney U Testi

C. acnes varlığı değerlendirildiğinde tanısı almış 60 hastanın 58'inde (%96,6) kontrol grubunda ise 60 bireyin 39'unda (%65) *C. acnes* saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu *C. acnes* varlığı yönünden karşılaştırıldığında hasta grubunda *C. acnes* varlığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak, ileri derecede anlamlı fark gösterdiği belirlenmiştir (p<0,001). (Tablo 4.1).

PK tanısı almış 60 hastanın 2'sinde (%3,4) kontrol grubunda ise 60 bireyin 21'inde (%35) *C. acnes* saptanmamıştır (Tablo 4.1).



Şekil 4.1:Hastalarda ve kontrollerde *C. acnes* saptanma oranları

C. acnes miktarı değerlendirildiğinde**,** PK tanısı almış hastalarda ortalama miktar 6,14 ± 1,02 olarak kontrol grubunda ise 4,53 ± 2,63 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu *C. acnes* miktarı yönünden karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,161). (Tablo 4.1).

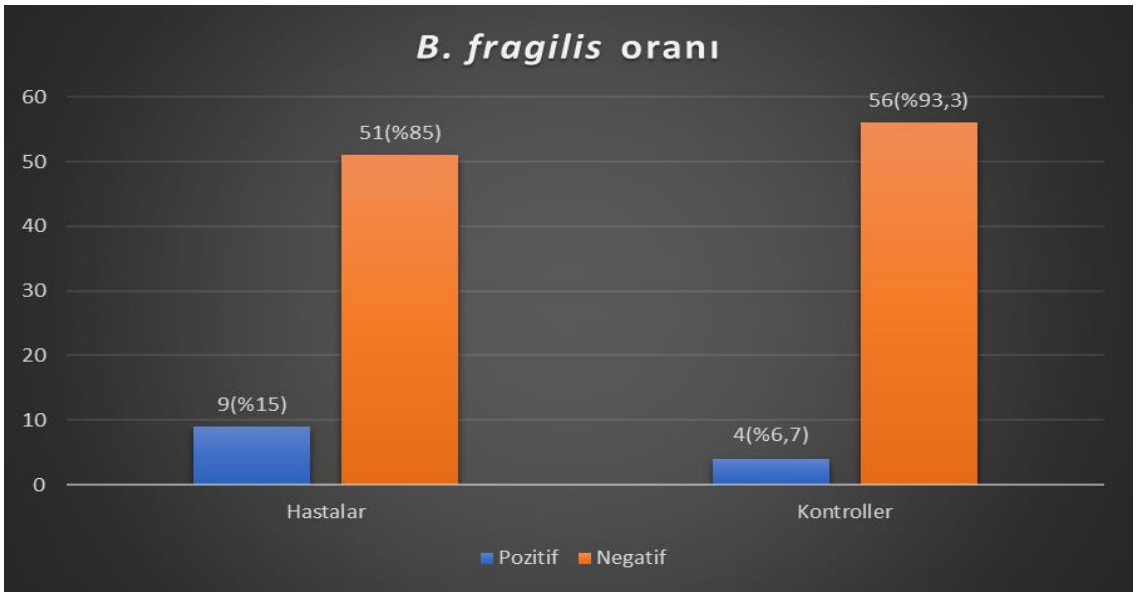
Tablo 4.2:Prostat Kanseri tanısı almış hastalarda ve kontrol grubundaki bireylerde *B. fragilis* varlığının s (%) ve miktarlarının (log10 bakteri/25mg) karşılaştırılması

Bakteriler		Hasta (s=60)		Kontrol (s=60)		p
		(+)	(-)	(+)	(-)	
B. fragilis	s (%)	9 (15)	51 (85)	4 (6,7)	56 (93,3)	0,142*
	Miktar	2,18 ± 0,22		1,79 ± 0,15		0,211**

*Pearson Ki-Kare Testi **Mann-Whitney U Testi

B. fragilis varlığı değerlendirildiğinde, PK tanısı almış 60 hastanın 9'unda (%15),kontrol grubunda ise 60 bireyin 4'ünde (%6,7) *B. fragilis* saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu *B. fragilis* varlığı yönünden karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,142). (Tablo 4.2).

PK tanısı almış 60 hastanın 51'inde (%85) kontrol grubunda ise 60 bireyin 56'sında (%93,3) *B. fragilis* saptanmamıştır (Tablo 4.2).



Şekil 4.2:Hastalarda ve kontrollerde *B. fragilis* saptanma oranları

B. fragilis miktarı değerlendirildiğinde, PK tanısı almış hastalarda ortalama miktar 2,18 ± 0,22 olarak kontrol grubunda ise 1,79 ± 0,15 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu *B. fragilis* miktarı yönünden karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,211). (Tablo 4.2).

Çalışmamızda ayrıca *C. acnes* ve *B. fragilis* varlığı ve miktarı PK tanısı alan hastaların ve kontrol grubundaki bireylerin yaşları dikkate alınarak da değerlendirilmiştir. 55-65 ve 66-75 yaş gruplarında bu bakterilerin varlığı ve miktarı incelenerek bulgular karşılaştırılmıştır (Tablo 4.3 ve Tablo 4.4).

Tablo 4.3:*C. acnes* varlığının ve miktarlarının (log10 bakteri/25mg) hasta ve kontrol grubunda yaş gruplarına göre karşılaştırılması

Bakteri	Yaş Grupları	Hasta Grubu		Kontrol Grubu		p
		S (%)	Miktar	S (%)	Miktar	
C. acnes	**55-65**	31 Pozitif:31 (100) Negatif:0 (0)	6,38 ± 0,07	31 Pozitif:18 (58,1) Negatif:13 (41,9)	3,92 ± 2,59	0,002** <0,001*
	66-75	29 Pozitif:27 (93,1) Negatif:2 (6,9)	5,88 ± 0,25	29 Pozitif:21 (72,4) Negatif:8 (27,6)	5,19 ± 0,47	0,271** 0.315*
	Tüm Yaşlar	60 Pozitif:58 (96,6) Negatif:2 (3,4)	6,14 ± 1,02	60 Pozitif:39 (65) Negatif:21 (35)	4,53 ± 2,63	0,161** <0,001*

**Mann-Whitney U Testi *C. acnes* miktarı için, *Pearson Ki-Kare Testi *C. acnes* varlığı için uygulanmıştır.

C. acnes varlığı ve miktarı hastalar ve kontrollerde yaş gruplarına göre incelendiğinde:

C. acnes 55-65 yaş grubunda bulunan hastaların 31'inde (%100) pozitif bulunup negatif hasta bulunmazken aynı yaş grubundaki kontrollerin 18'inde (%58,1) pozitif 13'ünde (%41,9) negatif bulunmuştur. *C. acnes* varlığı bakımında gruplar arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bir fark saptanmıştır (p<0,001). (Tablo 4.3).

55-65 yaş aralığında yer alan hastalarda *C. acnes* miktarı 6,38 ± 0,07 olarak kontrol grubunda ise 3,92 ± 2,59 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu *C. acnes* miktarı açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında

istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark saptanmıştır (p=0,002). (Tablo 4.3).

C. acnes 66-75 yaş grubunda bulunan hastaların 27'sinde (%93,1) pozitif bulunup 2'sinde (%6,9) negatif bulunurken aynı yaş grubundaki kontrollerin 21'inde (%72,4) pozitif 8'inde (%27,6) negatif bulunmuştur. *C. acnes* varlığı bakımında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,315). (Tablo 4.3).

66-75 yaş aralığında yer alan hastalarda *C. acnes* miktarı 5,88 ± 0,25 olarak kontrol grubunda ise 5,19 ± 0,47 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu *C. acnes* ortalama miktarı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,271). (Tablo 4.3).

Tüm yaş grupları birlikte değerlendirildiğinde hastalar ile kontroller arasında *C. acnes* varlığı açısından istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark saptanırken,miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla p<0,001,p=0,161). (Tablo 4.3).

Tablo 4.4:*B. fragilis* varlığının ve miktarlarının (log10 bakteri/25mg) hasta ve kontrol grubunda yaş gruplarına göre karşılaştırılması

Bakteri	Yaş Grupları	Hasta Grubu		Kontrol Grubu		p
		S (%)	Miktar	S (%)	Miktar	
B. fragilis	**55-65**	31 Pozitif:5 (16,1) Negatif:26 (83,9)	2,29 ± 0,33	31 Pozitif:3 (9,7) Negatif:28 (90,3)	1,85 ± 0,20	0,418** 0,378*
	66-75	29 Pozitif:4 (13,8) Negatif:25 (86,2)	2,05 ± 0,31	29 Pozitif:1 (3,4) Negatif:28 (96,6)	1,72 ± 0,21	0,313** 0,291*
	Tüm Yaşlar	60 Pozitif:9 (15) Negatif:51 (85)	2,18 ± 0,22	60 Pozitif:4 (6,7) Negatif:56 (93,3)	1,79 ± 0,15	0,211** 0,142*

**Mann-Whitney U Testi *B. fragilis* miktarı için, *Pearson Ki-Kare Testi *B. fragilis* varlığı için uygulanmıştır.

B. fragilis varlığı ve miktarı hastalar ve kontrollerde yaş gruplarına göre incelendiğinde:

B. fragilis 55-65 yaş grubunda bulunan hastaların 5'inde (%16,1) pozitif bulunup 26'sında (%83,9) negatif bulunurken aynı yaş grubundaki kontrollerin 3'ünde (%9,7) pozitif 28'inde (%90,3) negatif bulunmuştur. *B. fragilis* varlığı bakımında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,378). (Tablo 4.4).

55-65 yaş aralığında yer alan hastalar ile kontroller arasında *B. fragilis* miktarı hasta grubunda 2,29 ± 0,33 olarak kontrol grubunda ise 1,85 ± 0,20 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu arasında *B. fragilis* miktarı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,418). (Tablo 4.4).

B. fragilis 66-75 yaş grubunda bulunan hastaların 4'ünde (%13,8) pozitif bulunup 25'inde (%86,2) negatif bulunurken aynı yaş grubundaki kontrollerin 1'inde (%3,4) pozitif 28'inde (%96,6) negatif bulunmuştur. *B. fragilis* varlığı bakımında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,291). (Tablo 4.4).

66-75 yaş aralığında yer alan hastalar ile kontroller arasında *B. fragilis* miktarı değerlendirildiğinde hasta grubunda miktar 2,05 ± 0,31 olarak kontrol grubunda ise miktar 1,72 ± 0,21 olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubu arasında *B. fragilis* ortalama miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,313). (Tablo 4.4).

Tüm yaş grupları birlikte değerlendirildiğinde hastalar ile kontroller arasında *B. fragilis* varlığı *ve* ortalama miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla p=0,142,p=0,211). (Tablo 4.4).

Hasta ve kontrol gruplarında bulunan bireylere ait prostat biyopsi dokularıyla yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz veriler neticesinde:

C. acnes saptanma oranı, PK'li hastalara ait dokularda kontrollere göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark gösterirken toplam ortalama miktar açısından karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla p=<0,001,p=0,161). (Tablo 4.3).

Yaş gruplarına göre değerlendirildiğnde yanlızca 55-65 yaş aralığında *C. acnes* saptanma oranı ve ortalama miktarlarının,PK'li hastalara ait dokularda kontrollere göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark gösterdiği belirlenmiştir (sırasıyla p=<0,001,p=0,002). (Tablo 4.3).

B. fragilis saptanma oranı hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (saptanma oranı:p=0,142, p=0,378,p=0,291). (Tablo 4.4). *B. fragilis* gerek tüm yaşlarda gerekse 55-65 ve 66-75 yaş grubunda,PK'li hastalara ait dokularda kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulunmamıştır (p=0,211,p=0,418, p=0,313). (Tablo 4.4).

5. TARTIŞMA

Prostat kanseri, dünyada hem insidansı hem de mortalite oranı açısından ikinci sırada yer alan bir malignitedir [30]. Yapılan tüm çalışmalarda prostat kanserinin insidansı ve ölüm oranı artan yaşla ilişkilendirilmiş ve tanı anında ortalama yaşın 66 olduğu görülmüştür [30]. İnsidans oranları karşılaştırıldığında Afrika kökenli Amerikan bireylerin beyaz erkeklere göre daha yüksek insidans oranlarına sahip oldukları gözlemlenmiş, bu oransal farklılığın sosyal,çevresel ve genetik faktörlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. PK'nin etiyolojisi, günümüzde yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen halen tam olarak aydınlatılamamıştır [30].

Yapılan araştırmalar, PK'nin bakteriyel kolonizasyon,enfeksiyon,kronik inflamasyon ve prostat karsinogenezi arasında güçlü bir ilişki olabileceğini göstermektedir [7,214].

Escherichia coli,*Helicobacter pylori*,*Bacteroides fragilis* gibi bazı bakterilerin sırasıyla *colibactin*,*CagA* ve *bft* toksini sekresyonu yoluyla salgıladıkları onkotoksinler aracılığıyla p53 degradasyonunu indükleyerek doğrudan onkojenik potansiyele sahip oldukları bilinmektedir. Ayrıca, *Cutibacterium acnes* tarafından üretilen *propiyonik asit* gibi kısa zincirli yağ asitlerinin immün hücre infiltrasyonu sırasında T hücre popülasyonlarını etkileyerek tümör hücrelerinin bağışıklık sistem aracılı temizliğini önleyen immünsüpresif etkilere neden oldukları gösterilmiştir [214]. Bu ortamda epitel hücre yenilenmesini de uyaran inflamatuvar mikro çevrenin, hastalıklı hale gelmiş prostat epitelyum lezyonlarındaki artmış proliferasyon kapasitesi sonucunda prostatik intraepitelyal neoplazilere dönüştüğü düşünülmektedir [214].

Cutibacterium acnes'in PK ile ilişkili olabileceğini gösteren araştırmalar 2005 yılından itibaren başlamıştır [18,215].

Bu bakterinin PK etiyolojisindeki rolüne değinen çalışmalar pek çok ülkede bilim insanlarının üzerinde yoğunlaştığı bir konu olmuştur. A.B.D.'nde,Japonya'da,Avustralya'da,İsveç'te,Polonya'da ve daha birçok ülkede bu konudaki araştırmalara ağırlık verildiği görülmektedir [18,166, 216–220].

Bacteroides cinsinin PK ile ilişkili olabileceğini gösteren araştırmaların ilki ise 1999 yılında yayınlanmıştır [221]. Bundan sonra özellikle *B. fragilis*'in kolon kanseri etiyolojisindeki rolüne değinen çalışmaları takiben, bu bakterinin PK etiyolojisindeki rolüne dikkatler yoğunlaşmış ve 2018 yılından itibaren bu konuya ilgi artmıştır [222].

Ülkemizde ise PK'li hastaların tümör dokusunda *C. acnes* ve *B. fragilis* miktarını araştırarak bu bakterilerin PK etiyolojisinde rol alıp almadığını belirlemeyi hedefleyen bir araştırma henüz bulunmamaktadır.

Cutibacterium acnes ve *Bacteroides fragilis*'in PK etiyolojisindeki rolünü araştıran makaleler incelendiğinde bunlardan büyük bir bölümünün PK'li hastaların tümör dokusu ile sağlıklı dokusu arasında bu bakterilerin miktarlarındaki farklılıkları gösteren moleküler temelli çalışmalar olduğu dikkat çekmektedir. Sfanos KS ve ark. [180],Alexeyev OA ve ark. [215] ile Feng Y ve ark. [223]'nın yapmış oldukları çalışmalar benzer bir çok çalışma arasından örnek olarak verilebilir. Sfanos KS ve ark. [180] 2008 yılında A.B.D.'nde 30 hastaya ait prostat biyopsi örneklerinde *C. acnes* varlığını 16S rDNA analizi ile göstermişlerdir. 2006 yılında Alexeyev OA ve ark. [215] İsveç'te 352 prostat biyopsisi ile yaptıkları çalışmada yine 16S rDNA dizi analizi ile *C. acnes* varlığını araştırmışlardır. 2019 yılında Feng Y ve ark. [223] PK hastaların tümör dokusunda *C. acnes* ve *Bacteroides* cinsinin varlığını yeni jenerasyon PZR yöntemiyle metagenomik analiz sonucunda göstermişlerdir.

Biz de yukarıda belirttiğimiz kaynaklarla uyumlu olarak araştırmamızda PK'li hastaların tümör dokusu ile sağlıklı kişilerin dokularında *C. acnes* ve *B. fragilis* miktarını gerçek zamanlı PZR yöntemiyle kantitatif olarak kıyaslayarak gruplar arasında bir farklılık olup olmadığını saptamaya yönelik bir pilot çalışma gerçekleştirdik.

Prostat kanserinde risk faktörlerini belirlemek hedef popülasyonları oluşturarak tarama ve takip programları planlama bakımından önem arz etmektedir. PK için yaşın önemli bir risk faktörü olduğu,en yüksek insidansın yaşlı erkeklerde(>65 yaş) görülmesi ile gündeme gelmiştir [30]. Ailesinde PK olmayan Amerikan bireylerde PK riskinin 50 yaşından sonra arttığı,Afrika kökenli Amerikan bireylerde ise aile öyküsü olması farketmeksizin riskin 40 yaşından sonra arttığı gözlenmiştir. Aile öyküsünde PK olan erkekler içinse 45 yaşında sonra tarama şiddetle tavsiye edilmektedir [30].

Amerikan Kanser Araştırmaları Enstitüsü ABD'de PK tanısı alan hastaların %97'sinin 50 yaş üstü hastalar olduğunu ve ortalama yaşın 65 yaş olduğunu belirtmektedir [210]. USPSTF, 55 ila 69 yaş aralığının prostat kanseri riski bakımından en önemli yaş aralığı olduğunu belirterek özellikle bu yaş aralığındaki erkeklerin PK yönünden taranmasını önermiştir [211]. USPSTF, 70 yaş ve üstü erkeklerin rutin olarak PK yönünden taranmasını önermese de PK'inden olan ölümlerin en çok >75 yaş erkeklerde görülmesi nedeniyle ancak klinik şikayetleri olan hastalarda PK tarama testlerinin destekleyici bir test olarak kullanılabileceğini belirtmiştir [211].

Prostat kanserinin görülebildiği yaşlara ait bu bilgiler doğrultusunda biz de prostat biyopsilerinin histopatolojik incelemesi sonucunda PK tanısı alan hasta grubumuzu (60 hasta) 55-75 yaş aralığındaki hastalardan oluşturduk ve PK tanımlanmayan kontrol grubumuzu (60 kontrol) da hasta grubumuzun yaş aralığı ile eşleştirdik.

Bae Y ve ark. [168] 2014 yılında Japonya'da,PK tanısı almış hastaların prostat biyopsilerinde *C. acnes* varlığını araştırdıkları bir çalışmada olgu ve kontrol gruplarını,PK tanısı alan yaş aralıkları 50 ila 78 arasında olan hastalar ve PK tanısı almayan yaş aralıkları 50 ila 80 arasında olan kontrol grubu bireyleri ile oluşturmuşlardır. Radej S ve ark.'nın [224] 2020 yılında Polonya'da yaptıkları çalışmada yaş ortalaması 64 olan olgu ve kontrol gruplarını, PK tanısı almış ve yaş aralıkları 51 ila 78 arasında olan hastalar ile PK tanısı almayan yaş aralıkları 51 ila 78 arasında olan kontrol grubu bireyleriyle oluşturmuşlardır.

Böylece kaynaklarla uyumlu olarak biz de PK riski bakımından önem taşıyan yaş aralıklarında yaş ortalaması 64,08 ± 6,66 olan hastalar ve yaş ortalaması 61,85 ± 5,81 olan kontrol grubu bireyleri ile çalışmamızı gerçekleştirmiş olduk.

*C. acnes ve B. fragili*s'in PK etiyolojisindeki yerine değinen araştırmalar incelendiğinde genelde çalışmaların olgu ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerden oluştuğu ve gerek hasta gerekse kontrolleri oluşturan gruplarda birey sayısının sınırlı olduğu dikkat çekmektedir. Radej S ve ark. [224] 2020 yılında 54 PK tanısı almış hasta ve 34 sağlıklı bireyden oluşan olgu kontrol gruplarıyla planladıkları çalışmada prostat biyopsi örneklerinde *C. acnes*'i araştırmışlardır. 2005 yılında Cohen RJ ve ark. [18] çalışma gruplarını 34 PK'li olgunun biyopsi örneği ile,2010 yılında Fass FL ve ark. [166] çalışma gruplarını 10 PK'li olgunun biyopsi örneği ile 2017 yılında Kakegawa T ve ark. [216] Japonya'da yaptıkları çalışmalarında olgu grubunu PK tanısı almış 44 hastaya ait biyopsi örneği ile kontrol grubunu ise 36 bireyin biyopsi örneği ile oluşturmuşlardır. 2019 yılında Feng Y ve ark. [223] metagenomik analizle *Bacteroides* cinsini saptadıkları çalışmayı 22 PK hastasına ait biyopsi örneği ile gerçekleştirmişlerdir. Biz de araştırmamızı kaynaklarda kullanılan doku sayısı ile uyumlu olarak PK tanısı alan 60 hastanın tümörlü dokusundan alınan biyopsi örnekleriyle ve kontrol grubunu oluşturan 60 bireyin prostat biyopsi örnekleriyle gerçekleştirdik.

C. acnes'in PK etiyolojisinde rol alıp almadığını araştıran makaleler incelendiğinde bu bakterinin çoğunlukla PK'li doku örneklerinde sağlıklı prostat dokularına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunduğu gösterilmiştir. Ülkemizde PK'li hastaların prostat biyopsi örneklerinde *C. acnes* ve/veya *B. fragilis* varlığını ve miktarını araştıran bir olgu kontrol çalışması henüz bulunmadığından elde ettiğimiz sonuçları yalnızca yurtdışı yayınlara ait verilerle kıyaslama imkanı bulduk.

Daviddson S ve ark.'nın [169] 2016 yılında yaptıkları çalışmada, yaş ortalaması 64 olan ve PK tanısı alan 100 hastanın ve yaş ortalaması 65 olan 50 bireyin prostat biyopsilerinde *C. acnes* varlığını araştırmışlardır. Hastaların %60'ında kontrollerin ise %26'sında *C. acnes* saptayarak hasta grubunda bu bakterinin kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek

olduğunu belirtmişlerdir (p=0,01). Ugge H ve ark. [217] 2018 yılında İsveç'te yaptıkları bir çalışmada PK tanısı alan ve radikal prostatektomi geçiren 99 hastanın biyopsi örneklerini *C. acnes* varlığı yönünden incelemişler ve örneklerin %61'inde (60/99) *C. acnes* pozitifliği saptamışlardır. Dadashi M ve ark.'nın [225] 2018 yılında İran'da yaptıkları çalışmada 57 PK dokusunda ve 38 kanserli olmayan iyi huylu prostat hiperplazisi olan dokuda *C. acnes* varlığını araştırmışlar ve elde ettikleri sonuçları iki grup arasında kıyaslamışlardır. PK dokularında %41 oranında, kanserli olmayan dokularda ise daha az miktarda %23 oranında *C. acnes* varlığı saptamışlardır.

Bu verilerin aksine 2013 yılında Mak TN ve ark. [178] ABD'de yaptıkları bir çalışmada yaş aralığı 43 ila 74 arasında olan 30 hastadan alınmış prostatektomi sonrası biyopsi örneklerinin yanlızca 7'sinde (%23) *C. acnes* saptamışlardır. Bizim çalışmamızda ise *C. acnes* varlığı PK tanısı almış 60 hastanın 58 (%96,6)'inde kontrol grubunda ise 60 bireyin 39 (%65)'unda saptanmıştır. Hasta grubunda *C. acnes* bulunma oranının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0,001). Bu bulgumuz yapılan farklı araştırma sonuçlarıyla örtüşmektedir.

B. fragilis'in PK etiyolojisindeki rolünü araştıran çalışmalar oldukça sınırlıdır. Feng Y ve ark. [223] PK tanısı almış Afrika,Çin,Avrupa ve Avustralya kökenli 22 hastanın tümör dokusunda bulunan bakterileri genom analizi ile belirlemişler ve tüm dokularda en yaygın bulunan cinslerin *Escherichia*,*Cutibacterium* ve *Pseudomonas* olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar aynı çalışmada *Bacteroides* cinsini Afrikalı ve Çinli hastaların prostat biyopsi dokularında bulmuşlar ancak Avrupalı ve Avustralyalılarda bu bakteriye rastlamamışlardır. Yu H ve ark. [226] 2015 yılında yaptıkları bir araştırmada prostat kanserli hastaların ve kanserli olmayan bireylerin prostat salgısında bulunan mikrobiyomu araştırmış ve PK'li olanlarda *Bacteroidetes* filumuna ait bakterilerde artış olduğunu göstermişlerdir. PK'li hastaların prostat biyopsilerinde *B. fragilis* mevcudiyetine deyinen bir çalışmaya rastlanmamıştır ancak cins düzeyinde *Bacteroides* cinsinin varlığı gösterilmiştir [227]. Çalışmamızda *B. fragilis* saptanan örnek sayısı çok düşüktür (Hasta grubunda 9 hasta,kontrol grubunda 4 hasta). Hasta grubu ile kontrol grubu arasında hiçbir yaş grubunda *B. fragilis* saptanma oranı ve

miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Saptanan düşük *B. fragilis* oranı, PK araştırmalarında bu bakteri üzerinde fazla durulmamış olması ile ilişkilendirilebilir.

Tez çalışmamızın güçlü yönlerine değinecek olursak, bunlardan birisi çalışmaya dahil edilen hastalara ait biyopsilerin histopatolojik inceleme raporlarından elde ettiğimiz sonuçlar neticesinde hedeflediğimiz yaş aralıklarındaki bireylerden oluşturabildiğimiz hasta grubumuzda yer alan birey sayısına ve bunların yaş ortalamalarına göre, iyi bir eşleştirme yaparak kontrol grubumuzu oluşturabilmiş olmamızdır. Diğer bir güçlü yön prostat biyopsisi alındığı sırada bize verilen biyopsinin prostatın hangi bölgesinden alınmış olduğunun (sağ apeks ve lateral,sağ median ve lateral,sağ bazis ve lateral,sol apeks ve lateral,sol median ve lateral,sol bazis ve lateral,sağ transizyonel zon,sol transizyonel zon) kayıt altına alınmış olması ve histopatoloji raporuna göre özellikle elimizdeki biyopsinin alındığı bölgede adenokarsinom tanısı belirtilmişse, bu biyopsiyi hasta grubuna dahil etmiş olmamızdır. Ayrıca prostat dokularında *C. acnes* ve *B. fragilis*'i PZR ile var /yok şeklinde saptamakla kalmayıp gerçek zamanlı PZR ile miktar tayinine gitmiş olmamız çalışmamızın sonuçlarının güvenirliliğini arttırmıştır. Tez çalışmamızın sınırlamalarına değinecek olursak bunlardan birisi çalışmamızın ülkemizde ilk defa yapılmış bir çalışma olması nedeniyle bulgularımızı ulusal kaynaklara ait verilerle tartışamamış olmamızdır. Ayrıca, çalışmamıza yer alan *B. fragilis* için prostat kanserli olgulara ait yeterince uluslararası kaynak bulamamış olmamızdır. Diğer bir sınırlama ise çalışmamıza *bft* geni taşıyan ETBF türlerini araştıramamış olmamızdır.

Sonuç olarak;

Çalışmamız kapsamında yaş dikkate alınmadığında *C. acnes* varlığı PK tanısı almış 60 hastanın 58'inde (%96,6) kontrol grubunda ise 60 bireyin 39'unda (%65) saptanmıştır. Hasta ve kontrol grupları *C. acnes*'in saptanma oranı bakımından karşılaştırıldığında hasta grubunda *C. acnes* bulunma oranının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Buna karşın PK tanısı alan hastalarda saptadığımız *C. acnes* ortalama miktarı (6,14 ± 1,02) kontrol grubunda

saptanan ortalama miktarla (4,53 ± 2,63) karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,161).

Amerikan Kanser Araştırmaları Enstitüsü ABD'de PK tanısı alan hastaların %97'sinin 50 yaş üstü hastalar olduğunu ve ortalama yaşın 65 yaş olduğunu belirtmektedir [210]. USPSTF, 55 ila 69 yaş aralığının prostat kanseri riski bakımından en önemli yaş aralığı olduğunu belirterek özellikle bu yaş aralığındaki erkeklerin PK yönünden taranmasını önermiştir [211]. Çalışmamız sonucunda, 55-65 yaş grubunda *C. acnes* saptanma oranı bakımında gruplar arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark saptanmış (p<0,001) ve yine bu yaş aralığında, PK tanısı almış hastalara ait biyopsi örneklerinde saptamış olduğumuz *C. acnes* ortalama miktarının (6,38 ± 0,07) kontrol grubu bireylerinde saptanan ortalama miktara (3,92 ± 2,59) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (p=0,002). Buna karşın diğer bir yaş grubunu oluşturan 66-75 yaş aralığındaki PK tanısı almış bireylerde saptamış olduğumuz *C. acnes* ortalama miktarını (5,88 ± 0,25) aynı yaş aralığındaki kontrol grubu bireylerinde saptamış olduğumuz ortalama miktarla (5,19 ± 0,47) karşılaştırdığımızda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı belirlenmiştir (p=0,271).

Çalışmamız kapsamında yaş dikkate alınmadığında *B. fragilis*'in hastalara ait biyopsi örneklerinde saptanma oranı ve miktarını (%15, 2,18 ± 0,22) kontrol grubu biyopsi örneklerinde saptanan oran ve miktarla (%6,7, 1,79 ± 0,15) karşılaştırdığımızda gruplar arasında hem saptanma oranı hem de miktar bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı belirlenmiştir (sırasıyla p=0,142, p=0,211).

Yaş grupları dikkate alındığında yine benzer sonuçla karşılaşılmış ve gerek 55-65 yaş grubunda gerekse 66-75 yaş grubunda hastalara ait biyopsi örneklerinde saptanan *B. fragilis* ortalama miktarı ile kontrol grubuna ait biyopsi örneklerinde saptanan *B. fragilis* ortalama miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı belirlenmiştir (sırasıyla p=0,418, p=0,313).

Bulgularımız *C. acnes*'in özellikle 55-65 yaş aralığındaki hastalarda PK etiyolojisinde rol oynayan bir bakteri olabileceğini *B. fragilis'in* ise PK etiyolojisinde yer almadığını düşündürmüştür.

Ülkemizde ilk defa bu pilot çalışma ile elde ettiğimiz sonuçların gelecekte daha kapsamlı olgu kontrol gruplarıyla yapılacak araştırmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. **Coussens LM,Werb Z**. Inflammation and cancer. *Nature* 2002;420:860–867.

2. **Shacter E,Weitzman SA**. Chronic inflammation and cancer. *Oncology (Williston Park, NY)* 2002;16:217–26, 229; discussion 230-2.

3. **Fox JG,Wang TC**. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. *Journal of Clinical Investigation* 2007;117:60–69.

4. **Hussain SP,Hofseth LJ,Harris CC**. Radical causes of cancer. *Nature Reviews Cancer* 2003;3:276–285.

5. **Yasmin R,Siraj S,Hassan A,Khan AR,Abbasi R *ve ark.*** Epigenetic regulation of inflammatory cytokines and associated genes in human malignancies. *Mediators of inflammation* 2015;2015:201703.

6. **Chang AH,Parsonnet J**. Role of bacteria in oncogenesis. *Clinical Microbiology Reviews* 2010;23:837–857.

7. **De Marzo AM,Platz EA,Sutcliffe S,Xu J,Grönberg H *ve ark.*** Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nature Reviews Cancer* 2007;7:256–269.

8. **Nelson WG,De Marzo AM,Deweese TL,Isaacs WB**. The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *Journal of Urology* 2004;172:6–12.

9. **Balkwill F,Mantovani A**. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet (London, England)* 2001;357:539–45.

10. **Dvorak HF**. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *The New England journal of medicine* 1986;315:1650–9.

11. **Dranoff G**. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* 2004;4:11–22.

12. **Maeda H,Akaike T**. Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation, and cancer. *Biochemistry Biokhimiia* 1998;63:854–65.

13. **De Visser KE,Eichten A,Coussens LM**. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nature reviews Cancer* 2006;6:24–37.

14. **Aggarwal BB,Shishodia S,Sandur SK,Pandey MK,Sethi G**. Inflammation and cancer: How hot is the link? *Biochemical Pharmacology* 2006;72:1605–1621.

15. **Medzhitov R**. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell* 2010;140:771–776.

16. **Blumenfeld W,Tucci S,Narayan P**. Incidental Lymphocytic Prostatitis: Selective Involvement with Nonmalignant Glands. *The American Journal of Surgical Pathology*;16. https://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/1992/10000/Incidental_Lymphocytic_Prostatitis__Selective.8.aspx (1992).

17. **Davidsson S,Fiorentino M,Andrén O,Fang,Mucci LA *ve ark.*** Inflammation, focal atrophic lesions, and prostatic intraepithelial neoplasia with respect to risk of lethal prostate cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2011;20:2280–2287.

18. **Cohen RJ,Shannon BA,mcneal JE,Shannon T,Garrett KL**. Propionibacterium acnes associated with inflammation in radical prostatectomy specimens: A possible link to cancer evolution? *Journal of Urology* 2005;173:1969–1974.

19. **Chung L,Thiele Orberg E,Geis AL,Chan JL,Fu K *ve ark.*** Bacteroides fragilis Toxin Coordinates a Pro-carcinogenic Inflammatory Cascade via Targeting of Colonic Epithelial Cells. *Cell Host & Microbe* 2018;23:203-214.e5.

20. **SHELLEY HS**. The Enlarged Prostate A Brief History of its Treatment. *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences* 1969;XXIV:452–473.

21. **Herr HW**. The enlarged prostate: a brief history of its surgical treatment. *BJU international* 2006;98:947–952.

22. **Josef Marx F, Karenberg A**. History of the term prostate. *The Prostate* 2009;69:208–213.

23. **Ghabili K, Tosoian JJ, Schaeffer EM, Pavlovich CP, Golzari SEJ ve ark.** The History of Prostate Cancer From Antiquity: Review of Paleopathological Studies. *Urology* 2016;97:8–12.

24. **Mcaninch JW, Lue TF, Smith DR**. Smith & Tanagho's general urology. Https://accesssurgery.mhmedical.com/book.aspx?Bookid=508 (2013).

25. **POLAT Ö**. Prostat Anatomisi Fizyolojisi Ameliyat Türleri. *Www.uroturk.org.tr*. Https://www.uroturk.org.tr/urolojihemsireligi/pdf/kars/p_a.pdf (2009).

26. **Mcneal JE**. The zonal anatomy of the prostate. *The Prostate* 1981;2:35–49.

27. **SEÇKİN İ, KOYUTÜRK M, MEYDANLI EG**. *Genitoüriner Sistem Histolojisi Ve Embriyolojisi Ders Kitabı*. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları Yayın No:300. ,İstanbul; 2016.

28. **Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA ve ark.** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians* 2018;68:394–424.

29. **Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM ve ark.** Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International journal of cancer* 2019;144:1941–1953.

30. **Rawla P**. Epidemiology of Prostate Cancer. *World Journal of Oncology* 2019;10:63–89.

31. **Noone AM, Howlader N, Tatalovich Z, Krapcho M, Miller D ve ark.** SEER Cancer Statistics Review,1975-2015. *National Cancer Institute. Bethesda, MD,*. Https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/ (2018).

32. **Kheirandish P, Chinegwundoh F**. Ethnic differences in prostate cancer. *British Journal of Cancer* 2011;105:481–485.

33. **Grossman DC, Curry SJ, Owens DK, Bibbins-Domingo K, Caughey AB ve ark.** Screening for prostate cancer uspreventive servicestaskforcerecommendation statement. *JAMA - Journal of the American Medical Association* 2018;319:1901–1913.

34. **Taitt HE**. Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. *American Journal of Men's Health* 2018;12:1807–1823.

35. **Jemal A, Fedewa SA, Ma J, Siegel R, Lin CC ve ark.** Prostate cancer incidence and psa testing patterns in relation to uspstf screening recommendations. *JAMA - Journal of the American Medical Association* 2015;314:2054–2061.

36. **Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, Briers E, Cumberbatch MG ve ark.** EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *European urology* 2017;71:618–629.

37. **Crocetti E**. Epidemiology of prostate cancer in Europe. *Centre for Parliamentary Studies*;25. Http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC101382 (2016).

38. **De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P ve ark.** Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EUROCARE--5-a population-based study. *The Lancet Oncology* 2014;15:23–34.

39. **Bostwick DG, Burke HB, Djakiew D, Euling S, Ho S ve ark.** Human prostate cancer risk factors. *Cancer* 2004;101:2371–2490.

40. **Dagnelie PC, Schuurman AG, Goldbohm RA, van den Brandt PA**. Diet, anthropometric measures and prostate cancer risk: a review of prospective cohort and intervention studies. *BJU International* 2004;93:1139–1150.

41. **Pienta KJ**. Risk Factors for Prostate Cancer. *Annals of Internal Medicine* 1993;118:793.

42. **Kolonel LN, Altshuler D, Henderson BE**. The multiethnic cohort study: Exploring genes, lifestyle and cancer risk. *Nature Reviews Cancer* 2004;4:519–527.

43. **Kolonel LN**. Fat, meat, and prostate cancer. *Epidemiologic Reviews* 2001;23:72–81.

44. **Wolk A**. Diet, lifestyle and risk of prostate cancer. *Acta Oncologica* 2005;44:277–281.

45. **Wilson KM, Giovannucci EL, Mucci LA**. Lifestyle and dietary factors in the prevention of lethal prostate cancer. *Asian Journal of Andrology* 2012;14:365–374.

46. **Markozannes G, Tzoulaki I, Karli D, Evangelou E, Ntzani E ve ark.** Diet, body size, physical activity and risk of prostate cancer: An umbrella review of the evidence. *European Journal of Cancer* 2016;69:61–69.

47. **Gallagher RP, Fleshner N**. Prostate cancer: 3. Individual risk factors. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* 1998;159:807–13.

48. **Ferrís-I-Tortajada J, García-I-Castell J, Berbel-Tornero O, Ortega-García JA**. Constitutional risk factors in prostate cancer. *Actas Urologicas Espanolas* 2011;35:282–288.

49. **Chen H, Griffin AR, Wu YQ, Tomsho LP, Zuhlke KA ve ark.** RNASEL mutations in hereditary prostate cancer. *Journal of medical genetics* 2003;40:1–4.

50. **Malathi K, Dong B, Gale M, Silverman RH**. Small self-RNA generated by rnase L amplifies antiviral innate immunity. *Nature* 2007;448:816–9.

51. **Zhou A**. Interferon action and apoptosis are defective in mice devoid of 2',5'-oligoadenylate-dependent rnase L. *The EMBO Journal* 1997;16:6355–6363.

52. **Camp NJ, Tavtigian S V.** Meta-Analysis of Associations of the Ser217Leu and Ala541Thr Variants in ELAC2 (HPC2) and Prostate Cancer. *The American Journal of Human Genetics* 2002;71:1475–1478.

53. **Noda D, Itoh S, Watanabe Y, Inamitsu M, Dennler S ve ark.** ELAC2, a putative prostate cancer susceptibility gene product, potentiates TGF-β/Smad-induced growth arrest of prostate cells. *Oncogene* 2006;25:5591–5600.

54. **Maier C, Vesovic Z, Bachmann N, Herkommer K, Braun AK ve ark.** Germline mutations of themsr1 gene in prostate cancer families from Germany. *Human Mutation* 2006;27:98–102.

55. **Wang L, mcdonnell SK, Cunningham JM, Hebbring S, Jacobsen SJ ve ark.** No association of germline alteration of MSR1 with prostate cancer risk. *Nature Genetics* 2003;35:128–129.

56. **Xu J, Zheng SL, Komiya A, Mychaleckyj JC, Isaacs SD ve ark.** Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nature Genetics* 2002;32:321–325.

57. **Erkko H, Xia B, Nikkilä J, Schleutker J, Syrjäkoski K ve ark.** A recurrent mutation in PALB2 in Finnish cancer families. *Nature* 2007;446:316–319.

58. **Gallagher DJ, Gaudet MM, Pal P, Kirchhoff T, Balistreri L ve ark.** Germline BRCA mutations denote a clinicopathologic subset of prostate cancer. *Clinical Cancer Research* 2010;16:2115–2121.

59. **Xu J, Meyers D, Freije D, Isaacs S, Wiley K ve ark.** Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on the X chromosome. *Nature Genetics* 1998;20:175–179.

60. **Bergthorsson J, Johannesdottir G, Arason A, Benediktsdottir K, Agnarsson B ve ark.** Analysis of HPC1, HPCX, and pcap in Icelandic hereditary prostate cancer. *Human Genetics* 2000;107:372–375.

61. **Stanford JL, fitzgerald LM, mcdonnell SK, Carlson EE, mcintosh LM ve ark.** Dense genome-wide SNP linkage scan in 301 hereditary prostate cancer families identifies multiple regions with suggestive evidence for linkage. *Human Molecular Genetics* 2009;18:1839–1848.

62. **Fujita K, Nonomura N**. Urinary biomarkers of prostate cancer. *International Journal of Urology* 2018;25:770–779.

63. **Şahin H, Çetinkaya M, Deliktaş H**. Prostat Kanserinde; Üriner, Serum ve Doku Biyomarkerlerinde Yeni Gelişmeler Nelerdir? *Üroonkoloji Bülteni* 2017;16:95–100.

64. **Tosoian JJ, Ross AE, Sokoll LJ, Partin AW, Pavlovich CP**. Urinary Biomarkers for Prostate Cancer. *Urologic Clinics of North America* 2016;43:17–38.

65. **Krieger JN, Nyberg L, Nickel JC**. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA* 1999;282:236–7.

66. **Dikov D, Bachurska S, Staikov D, Sarafian V**. Intraepithelial lymphocytes in relation to NIH category IV prostatitis in autopsy prostate. *The Prostate* 2015;75:1074–1084.

67. **Brede CM, Shoskes DA**. The etiology and management of acute prostatitis. *Nature Reviews Urology* 2011;8:207–212.

68. **Collins MMN, Meigs JB, Barry MJ, Corkery EW, Giovannucci E ve ark.** Prevalence and correlates of prostatitis in the health professionals follow-up study cohort. *Journal of Urology* 2002;167:1363–1366.

69. **Sfanos KS, De Marzo AM**. Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology* 2012;60:199–215.

70. **Stimac G, Reljic A, Spajic B, Dimanovski J, Ruzic B ve ark.** Aggressiveness of inflammation in histological prostatitis--correlation with total and free prostate specific antigen levels in men with biochemical criteria for prostate biopsy. *Scottish medical journal* 2009;54:8–12.

71. **Gui-Zhong L, Libo M, Guanglin H, Jianwei W**. The correlation of extent and grade of inflammation with serum PSA levels in patients with IV prostatitis. *International urology and nephrology* 2011;43:295–301.

72. **Ugurlu O, Yaris M, Oztekin CV, Kosan TM, Adsan O ve ark.** Impacts of antibiotic and anti-inflammatory therapies on serum prostate-specific antigen levels in the presence of prostatic inflammation: A prospective randomized controlled trial. *Urologia Internationalis* 2010;84:185–190.

73. **Fujita K, Hosomi M, Tanigawa G, Okumi M, Fushimi H ve ark.** Prostatic inflammation detected in initial biopsy specimens and urinary pyuria are predictors of negative repeat prostate biopsy. *The Journal of urology* 2011;185:1722–1727.

74. **Delongchamps NB, de la Roza G, Chandan V, Jones R, Sunheimer R ve ark.** Evaluation of prostatitis in autopsied prostates--is chronic inflammation more associated with benign prostatic hyperplasia or cancer? *The Journal of urology* 2008;179:1736–1740.

75. **Nickel JC, Downey J, Young I, Boag S**. Asymptomatic inflammation and/or infection in benign prostatic hyperplasia. *BJU international* 1999;84:976–981.

76. **Nickel JC, Roehrborn CG, O'Leary MP, Bostwick DG, Somerville MC ve ark.** The Relationship between Prostate Inflammation and Lower Urinary Tract Symptoms: Examination of Baseline Data from the REDUCE Trial. *European Urology* 2008;54:1379–1384.

77. **Medzhitov R**. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008;454:428–435.

78. **Ho DR**. Prostate inflammation: A brief review. *Urological Science* 2017;28:113–118.

79. **Janeway CA**. Pillars article: approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. Cold spring harb symp quant biol. 1989. 54: 1-13. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* 2013;191:4475–87.

80. **Amarante-Mendes GP, Adjemian S, Branco LM, Zanetti LC, Weinlich R ve ark.** Pattern Recognition Receptors and the Host Cell Death Molecular Machinery. *Frontiers in immunology* 2018;9:2379.

81. **Medzhitov R, Janeway CA**. Innate immunity: Impact on the adaptive immune response. *Current Opinion in Immunology* 1997;9:4–9.

82. **Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CAJ**. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997;388:394–397.

83. **Bortoluci KR, Medzhitov R**. Control of infection by pyroptosis and autophagy: role of TLR and NLR. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 2010;67:1643–1651.

84. **Matzinger P**. Tolerance, Danger, and the Extended Family. *Annual Review of Immunology* 1994;12:991–1045.

85. **Ghaemi-Oskouie F, Shi Y**. The role of uric acid as an endogenous danger signal in immunity and inflammation. *Current Rheumatology Reports* 2011;13:160–166.

86. **Lamkanfi M, Dixit VM**. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell* 2014;157:1013–1022.

87. **Sutterwala FS, Haasken S, Cassel SL**. Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2014;1319:82–95.

88. **Wen H, Miao EA, Ting JPY**. Mechanisms of NOD-like receptor-associated inflammasome activation. *Immunity* 2013;39:432–441.

89. **Fak TIP, Cilt M**. P2x purinoseptörler : moleküler biyolojik , farmakolojik ve elektrofizyolojik. 2001;163–170.

90. **He WT, Wan H, Hu L, Chen P, Wang X ve ark.** Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1β secretion. *Cell Research* 2015;25:1285–1298.

91. **Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, O'Rourke K, Anderson K ve ark.** Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature* 2015;526:666–671.

92. **Krieger JN, Riley DE**. Prostatitis: what is the role of infection. *International journal of antimicrobial agents* 2002;19:475–479.

93. **Wang YY, Liu XL, Zhao R**. Induction of pyroptosis and its implications in cancer management. *Frontiers in Oncology* 2019;9:1–10.

94. **Zychlinsky A, Prevost MC, Sansonetti PJ**. Shigella flexneri induces apoptosis in infected macrophages. *Nature* 1992;358:167–169.

95. **Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT**. Pyroptosis: host cell death. *Nat Rev Microbiol* 2009;7:99–109.

96. **Suzuki T, Núñez G**. A role for Nod-like receptors in autophagy induced by Shigella infection. *Autophagy* 2008;4:73–75.

97. **Fink SL, Bergsbaken T, Cookson BT**. Anthrax lethal toxin and Salmonella elicit the common cell death pathway of caspase-1-dependent pyroptosis via distinct mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008;105:4312–4317.

98. **Case CL, Shin S, Roy CR**. Asc and Ipaf inflammasomes direct distinct pathways for caspase-1 activation in response to Legionella pneumophila. *Infection and Immunity* 2009;77:1981–1991.

99. **Schroder K, Tschopp J**. The Inflammasomes. *Cell* 2010;140:821–832.

100. **Roberts JAS, Yilmaz Özlem**. Dangerous liaisons: Caspase-11 and reactive oxygen species crosstalk in pathogen elimination. *International Journal of Molecular Sciences* 2015;16:23337–23354.

101. **Guo H, Callaway JB, Ting JP-Y**. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nature Medicine* 2015;21:677–687.

102. **Fernández DJ, Lamkanfi M**. Inflammatory caspases: Key regulators of inflammation and cell death. *Biological Chemistry* 2015;396:193–203.

103. **Maclennan GT, Eisenberg R, Fleshman RL, Taylor JM, Fu P ve ark.** The Influence of Chronic Inflammation in Prostatic Carcinogenesis: A 5-Year Followup Study. *Journal of Urology* 2006;176:1012–1016.

104. **Dennis LK, Lynch CF, Torner JC**. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. *Urology* 2002;60:78–83.

105. **Da Silva APB, Alluri LSC, Bissada NF, Gupta S**. Association between oral pathogens and prostate cancer: building the relationship. *American journal of clinical and experimental urology* 2019;7:1–10.

106. **Elkahwaji JE, Hauke RJ, Brawner CM**. Chronic bacterial inflammation induces prostatic intraepithelial neoplasia in mouse prostate. *British Journal of Cancer* 2009;101:1740–1748.

107. **De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG**. Proliferative Inflammatory Atrophy of the Prostate Implications for Prostatic Carcinogenesis. *The American Journal of Pathology* 1999;155:1985–1992.

108. **Putzi MJ, De Marzo AM**. Inflammatory Atrophy and High-Grade Prostatic. *Urology* 2000;4295:7–11.

109. **VRAL A, MAGRI V, MONTANARI E, GAZZANO G, GOURVAS V ve ark.** Topographic and quantitative relationship between prostate inflammation, proliferative inflammatory atrophy and low-grade prostate intraepithelial neoplasia: A biopsy study in chronic prostatitis patients. *International Journal of Oncology* 2012;41:1950–1958.

110. **Perletti**. Inflammation, prostatitis, proliferative inflammatory atrophy: 'Fertile ground' for prostate cancer development? *Molecular Medicine Reports* 2009;3:667–671.

111. **Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI**. Histology and Cellular Kinetics of Prostatic Atrophy. *The American Journal of Surgical Pathology* 1998;22:1073–1077.

112. **Putzi MJ, De Marzo AM**. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology* 2000;56:828–832.

113. **De Marzo AM, Platz EA, Epstein JI, Ali T, Billis A ve ark.** A working group classification of focal prostate atrophy lesions. *The American journal of surgical pathology* 2006;30:1281–1291.

114. **Franks LM**. Atrophy and hyperplasia in the prostate proper. *The Journal of Pathology and Bacteriology* 1954;68:617–622.

115. **Liavåg I**. ATROPHY AND REGENERATION IN THE PATHOGENESIS OF PROSTATIC CARCINOMA. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica* 1968;73:338–350.

116. **Mcneal JE**. Normal Histology of the Prostate. *The American Journal of Surgical Pathology*;12. Https://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/1988/08000/Normal_Histology_of_the_Prostate.3.aspx (1988).

117. **Nakai Y, Nonomura N**. Inflammation and prostate carcinogenesis. *International Journal of Urology* 2013;20:150–160.

118. **Bethel CR, Faith D, Li X, Guan B, Hicks JL ve ark.** Decreased NKX3.1 protein expression in focal prostatic atrophy, prostatic intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma: association with gleason score and chromosome 8p deletion. *Cancer research* 2006;66:10683–10690.

119. **Van Leenders GJLH, Gage WR, Hicks JL, Van Balken B, Aalders TW ve ark.** Intermediate cells in human prostate epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. *American Journal of Pathology* 2003;162:1529–1537.

120. **De Marzo AM, Meeker AK, Epstein JI, Coffey DS**. Prostate stem cell compartments: Expression of the cell cycle inhibitor p27(Kip1) in normal, hyperplastic, and neoplastic cells. *American Journal of Pathology* 1998;153:911–919.

121. **Guo Y, Sklar GN, Borkowski A, Kyprianou N**. Loss of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) protein in human prostate cancer correlates with tumor grade. *Clinical Cancer Research* 1997;3:2269 LP – 2274.

122. **Yang RM, Naitoh J, Murphy M, Wang HJ, Phillipson J ve ark.** Low p27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. *The Journal of urology* 1998;159:941–945.

123. **Ouyang X, deweese TL, Nelson WG, Abate-Shen C**. Loss-of-function of Nkx3.1 promotes increased oxidative damage in prostate carcinogenesis. *Cancer research* 2005;65:6773–6779.

124. **Shen MM, Abate-Shen C**. Roles of the Nkx3.1 homeobox gene in prostate organogenesis and carcinogenesis. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 2003;228:767–778.

125. **Parsons JK, Nelson CP, Gage WR, Nelson WG, Kensler TW ve ark.** GSTA1 expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human prostate tissue. *The Prostate* 2001;49:30–37.

126. **Zha S, Gage WR, Sauvageot J, Saria EA, Putzi MJ ve ark.** Cyclooxygenase-2 is up-regulated in proliferative inflammatory atrophy of the prostate, but not in prostate carcinoma. *Cancer research* 2001;61:8617–8623.

127. **Knudsen BS, Lucas JM, Fazli L, Hawley S, Falcon S ve ark.** Regulation of hepatocyte activator inhibitor-1 expression by androgen and oncogenic transformation in the prostate. *The American journal of pathology* 2005;167:255–266.

128. **Lee WH, Morton RA, Epstein JI, Brooks JD, Campbell PA ve ark.** Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi-class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994;91:11733–11737.

129. **Gupta S, Srivastava M, Ahmad N, Bostwick DG, Mukhtar H**. Over-expression of cyclooxygenase-2 in human prostate adenocarcinoma. *The Prostate* 2000;42:73–78.

130. **Kirschenbaum A, Klausner AP, Lee R, Unger P, Yao S ve ark.** Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human prostate. *Urology* 2000;56:671–676.

131. **Licastro F, Bertaccini A, Porcellini E, Chiappelli M, Pernetti R ve ark.** Alpha 1 antichymotrypsin genotype is associated with increased risk of prostate carcinoma and PSA levels. *Anticancer Research* 2008;28:395–399.

132. **Whiteside SA, Razvi H, Dave S, Reid G, Burton JP**. The microbiome of the urinary tract - A role beyond infection. *Nature Reviews Urology* 2015;12:81–90.

133. **Fouts DE, Pieper R, Szpakowski S, Pohl H, Knoblach S ve ark.** Integrated next-generation sequencing of 16S rdna and metaproteomics differentiate the healthy urine microbiome from asymptomatic bacteriuria in neuropathic bladder associated with spinal cord injury. *Journal of Translational Medicine* 2012;10:174.

134. **Shrestha E, White JR, Yu S-HH, Kulac I, Ertunc O ve ark.** Profiling the Urinary Microbiome in Men with Positive versus Negative Biopsies for Prostate Cancer. *Journal of Urology* 2018;199:161–171.

135. **Sfanos KS, Yegnasubramanian S, Nelson WG, De Marzo AM**. The inflammatory microenvironment and microbiome in prostate cancer development. *Nature Reviews Urology* 2018;15:11–24.

136. **Lewis DA, Brown R, Williams J, White P, Jacobson SK ve ark.** The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 2013;3:41.

137. **Gottschick C, Deng ZL, Vital M, Masur C, Abels C ve ark.** The urinary microbiota of men and women and its changes in women during bacterial vaginosis and antibiotic treatment. *Microbiome* 2017;5:99.

138. **Porter CM, Shrestha E, Peiffer LB, Sfanos KS**. The microbiome in prostate inflammation and prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 2018;21:345–354.

139. **Nelson DE, Dong Q, Van Der Pol B, Toh E, Fan B ve ark.** Bacterial Communities of the Coronal Sulcus and Distal Urethra of Adolescent Males. *PLOS ONE* 2012;7:e36298.

140. **Nickel JC, Xiang J**. Clinical Significance of Nontraditional Bacterial Uropathogens in the Management of Chronic Prostatitis. *Journal of Urology* 2008;179:1391–1395.

141. **Mändar R, Punab M, Korrovits P, Türk S, Ausmees K ve ark.** Seminal microbiome in men with and without prostatitis. *International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association* 2017;24:211–216.

142. **Shoskes DA, Altemus J, Polackwich AS, Tucky B, Wang H ve ark.** The Urinary Microbiome Differs Significantly Between Patients With Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome and Controls as Well as Between Patients With Different Clinical Phenotypes. *Urology* 2016;92:26–32.

143. **Masood U, Sharma A, Lowe D, Khan R, Manocha D**. Colorectal Cancer Associated with Streptococcus anginosus Bacteremia and Liver Abscesses. *Case reports in gastroenterology* 2016;10:769–774.

144. **Sasaki M, Yamaura C, Ohara-Nemoto Y, Tajika S, Kodama Y ve ark.** Streptococcus anginosus infection in oral cancer and its infection route. *Oral diseases* 2005;11:151–156.

145. **Shiga K, Tateda M, Saijo S, Hori T, Sato I ve ark.** Presence of Streptococcus infection in extra-oropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma and its implication in carcinogenesis. *Oncology reports* 2001;8:245–248.

146. **Domann E, Hong G, Imirzalioglu C, Turschner S, Kühle J ve ark.** Culture-independent identification of pathogenic bacteria and polymicrobial infections in the genitourinary tract of renal transplant recipients. *Journal of clinical microbiology* 2003;41:5500–5510.

147. **Williams GD**. Two Cases of Urinary Tract Infection Caused by Propionimicrobium lymphophilum. *Journal of clinical microbiology* 2015;53:3077–3080.

148. **Roberts RO, Bergstralh EJ, Bass SE, Lieber MM, Jacobsen SJ**. Prostatitis as a Risk Factor for Prostate Cancer. *Epidemiology* 2004;15:93–99.

149. **Cai T, Mazzoli S, Meacci F, Boddi V, Mondaini N ve ark.** Epidemiological features and resistance pattern in uropathogens isolated from chronic bacterial prostatitis. *The Journal of Microbiology* 2011;49:448–454.

150. **Elsland D, Neefjes J**. Bacterial infections and cancer. *EMBO reports* 2018;19:1–11.

151. **Rosadi F, Fiorentini C, Fabbri A**. Bacterial protein toxins in human cancers. *Pathogens and Disease*;74. Epub ahead of print 19 Kasım 2015. DOI: 10.1093/femspd/ftv105.

152. **Grice EA, Segre JA**. The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology* 2011;9:244–253.

153. **Findley K, Grice EA**. The Skin Microbiome: A Focus on Pathogens and Their Association with Skin Disease. *Plos Pathogens* 2014;10:e1004436.

154. **Funke G, Renaud FNR, Freney J, Riegel P**. Multicenter evaluation of the updated and extended API (RAPID) coryne database 2.0. *Journal of Clinical Microbiology* 1997;35:3122–3126.

155. **Leheste JR, Ruvolo KE, Chrostowski JE, Rivera K, Husko C ve ark.** P. Acnes-Driven Disease Pathology: Current Knowledge and Future Directions. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2017;7:1–9.

156. **Scholz CFP, Kilian M**. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus Propionibacterium to the proposed novel genera Acidipropionibacterium gen. Nov., Cutibacterium gen. Nov. And Pseudopropionibacterium gen. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2016;66:4422–4432.

157. **Cogen AL, Nizet V, Gallo RL**. Skin microbiota: a source of disease or defence? *The British journal of dermatology* 2008;158:442–55.

158. **Scharschmidt TC, Vasquez KS, Truong H-A, Gearty S V, Pauli ML ve ark.** A Wave of Regulatory T Cells into Neonatal Skin Mediates Tolerance to Commensal Microbes. *Immunity* 2015;43:1011–1021.

159. **Bojar RA, Holland KT**. Acne and propionibacterium acnes. *Clinics in Dermatology* 2004;22:375–379.

160. **Kurokawa I, Danby FW, Ju Q, Wang X, Xiang LF ve ark.** New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. *Experimental Dermatology* 2009;18:821–832.

161. **Barnard E, Liu J, Yankova E, Cavalcanti SM, Magalhães M ve ark.** Strains of the Propionibacterium acnes type III lineage are associated with the skin condition progressive macular hypomelanosis. *Scientific Reports* 2016;6:1–9.

162. **Perry A, Lambert P**. Propionibacterium acnes : infection beyond the skin. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2011;9:1149–1156.

163. **Portillo ME, Corvec S, Borens O, Trampuz A**. Propionibacterium acnes : An Underestimated Pathogen in Implant-Associated Infections. *Biomed Research International* 2013;2013:1–10.

164. **Tanabe T, Ishige I, Suzuki Y, Aita Y, Furukawa A ve ark.** Sarcoidosis and NOD1 variation with impaired recognition of intracellular Propionibacterium acnes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2006;1762:794–801.

165. **Alexeyev OA, Marklund I, Shannon B, Golovleva I, Olsson J ve ark.** Direct Visualization of Propionibacterium acnes in Prostate Tissue by Multicolor Fluorescent In Situ Hybridization Assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2007;45:3721–3728.

166. **Fassi Fehri L, Mak TN, Laube B, Brinkmann V, Ogilvie LA ve ark.** Prevalence of Propionibacterium acnes in diseased prostates and its inflammatory and transforming activity on prostate epithelial cells. *International Journal of Medical Microbiology* 2011;301:69–78.

167. **Mak TN, Fischer N, Laube B, Brinkmann V, Metruccio MME ve ark.** Propionibacterium acnes host cell tropism contributes to vimentin-mediated invasion and induction of inflammation. *Cellular Microbiology* 2012;14:1720–1733.

168. **Bae Y, Ito T, Iida T, Uchida K, Sekine M ve ark.** Intracellular Propionibacterium acnes Infection in Glandular Epithelium and Stromal Macrophages of the Prostate with or without Cancer. *Plos ONE* 2014;9:e90324.

169. **Davidsson S, Mölling P, Rider JR, Unemo M, Karlsson MG ve ark.** Frequency and typing of Propionibacterium acnes in prostate tissue obtained from men with and without prostate cancer. *Infectious Agents and Cancer* 2016;11:1–10.

170. **Mcdowell A, Barnard E, Nagy I, Gao A, Tomida S ve ark.** An Expanded Multilocus Sequence Typing Scheme for Propionibacterium acnes: Investigation of 'Pathogenic', 'Commensal' and Antibiotic Resistant Strains. *Plos ONE* 2012;7:e41480.

171. **Dekio I, Culak R, Misra R, Gaulton T, Fang M ve ark.** Dissecting the taxonomic heterogeneity within Propionibacterium acnes: proposal for Propionibacterium acnes subsp. Acnes subsp. Nov. And Propionibacterium acnes subsp. Elongatum subsp. Nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 2015;65:4776–87.

172. **Mcdowell A, Barnard E, Liu J, Li H, Patrick S**. Proposal to reclassify Propionibacterium acnes type I as Propionibacterium acnes subsp. Acnes subsp. Nov. And Propionibacterium acnes type II as Propionibacterium acnes subsp. Defendens subsp. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2016;66:5358–5365.

173. **Corvec S, Luchetta J, Aubin GG**. Is hemolysis a clinical marker of Propionibacterium acnes orthopedic infection or a phylogenetic marker? *American journal of orthopedics (Belle Mead, NJ)* 2015;44:E61-2.

174. **Corvec S**. Clinical and Biological Features of Cutibacterium (Formerly Propionibacterium) avidum, an Underrecognized Microorganism. *Clinical microbiology reviews* 2018;31:e00064-17.

175. **Sfanos KS, Isaacs WB, De Marzo AM**. Infections and inflammation in prostate cancer. *American journal of clinical and experimental urology* 2013;1:3–11.

176. **Olsson J, Drott JB, Laurantzon L, Laurantzon O, Bergh A ve ark.** Chronic Prostatic Infection and Inflammation by Propionibacterium acnes in a Rat Prostate Infection Model. *Plos ONE* 2012;7:e51434.

177. **Shinohara DB, Vaghasia AM, Yu SH, Mak TN, Brüggemann H ve ark.** A mouse model of chronic prostatic inflammation using a human prostate cancer-derived isolate of Propionibacterium acnes. *Prostate* 2013;73:1007–1015.

178. **Mak TN, Yu S-H, De Marzo AM, Brüggemann H, Sfanos KS**. Multilocus sequence typing (MLST) analysis of Propionibacterium acnes isolates from radical prostatectomy specimens. *The Prostate* 2013;73:770–777.

179. **Hochreiter WW, Nadler RB, Koch AE, Campbell PL, Ludwig M ve ark.** Evaluation of the cytokines interleukin 8 and epithelial neutrophil activating peptide 78 as indicators of inflammation in prostatic secretions. *Urology* 2000;56:1025–1029.

180. **Sfanos KS, Sauvageot J, Fedor HL, Dick JD, De Marzo AM ve ark.** A molecular analysis of prokaryotic and viral DNA sequences in prostate tissue from patients with prostate cancer indicates the presence of multiple and diverse microorganisms. *The Prostate* 2008;68:306–320.

181. **Eishi YEE-Y**. Propionibacterium acnes as a Cause of Sarcoidosis. Rijeka: intechopen. S. Ch. 1.

182. **Eishi Y**. Etiologic link between sarcoidosis and Propionibacterium acnes. *Respiratory investigation* 2013;51:56–68.

183. **Drott JB, Alexeyev O, Bergström P, Elgh F, Olsson J**. Propionibacterium acnes infection induces upregulation of inflammatory genes and cytokine secretion in prostate epithelial cells. *BMC microbiology* 2010;10:126.

184. **Tsai H, Lee W, Wang P, Cheng K, Chen Y ve ark.** Propionibacterium acnes-induced inos and COX-2 protein expression via ROS-dependent NF-κb and AP-1 activation in macrophages. *Journal of Dermatological Science* 2013;69:122–131.

185. **Wexler HM**. Bacteroides: The good, the bad, and the nitty-gritty. *Clinical Microbiology Reviews* 2007;20:593–621.

186. **Sakamoto M, Benno Y**. Reclassification of Bacteroides distasonis, Bacteroides goldsteinii and Bacteroides merdae as Parabacteroides distasonis gen. Nov., comb. Nov., Parabacteroides goldsteinii comb. Nov and Parabacteroides merdae comb. Nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2006;56:1599–1605.

187. **Elsaghir H, Reddivari AKR**. *Bacteroides Fragilis*. Https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31971708/ (2020).

188. **Brook I**. Urinary tract and genito-urinary suppurative infections due to anaerobic bacteria. *International Journal of Urology* 2004;11:133–141.

189. **Kumazawa J, Kiyoara H, Narahashi K, Hidaka M, Momose S**. Significance of anaerobic bacteria isolated from the urinary tract. I. Clinical studies. *Journal of Urology* 1974;112:257–260.

190. **Bartlett JG, Gorbach SL**. Anaerobic bacteria in suppurative infections of the male genitourinary system. *The Journal of urology* 1981;125:376–378.

191. **Mazuecos J, Aznar J, Rodriguez-Pichardo A, Marmesat F, Borobio M V ve ark.** Anaerobic bacteria in men with urethritis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV* 1998;10:237–242.

192. **Chambers C V, Shafer MA, Adger H, Ohm-Smith M, Millstein SG ve ark.** Microflora of the urethra in adolescent boys: relationships to sexual activity and nongonococcal urethritis. *The Journal of pediatrics* 1987;110:314–321.

193. **Sears CL, Geis AL, Housseau F**. Bacteroides fragilis subverts mucosal biology: From symbiont to colon carcinogenesis. *Journal of Clinical Investigation* 2014;124:4166–4172.

194. **Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, Badani R, Stein EM ve ark.** The bacteroides fragilis toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. *Clinical Infectious Diseases* 2015;60:208–215.

195. **Moncrief JS, Obiso R, Barroso LA, Kling JJ, Wright RL ve ark.** The enterotoxin of Bacteroides fragilis is a metalloprotease. *Infection and Immunity* 1995;63:175–181.

196. **Obiso RJ, Azghani AO, Wilkins TD**. The Bacteroides fragilis toxin fragilysin disrupts the paracellular barrier of epithelial cells. *Infection and Immunity* 1997;65:1431–1439.

197. **Chung GT, Franco AA, Wu S, Rhie GE, Cheng R ve ark.** Identification of a third metalloprotease toxin gene in extraintestinal isolates of Bacteroides fragilis. *Infection and Immunity* 1999;67:4945–4949.

198. **Wu S, Dreyfus LA, Tzianabos AO, Hayashi C, Sears CL**. Diversity of the Metalloprotease Toxin Produced by Enterotoxigenic Bacteroides fragilis Diversity of the Metalloprotease Toxin Produced by Enterotoxigenic Bacteroides fragilis. 2002;70:2463–2471.

199. **Sears CL**. Enterotoxigenic Bacteroides fragilis: A rogue among symbiotes. *Clinical Microbiology Reviews* 2009;22:349–369.

200. **Kim JM, Jung HY, Lee JY, Youn J, Lee CH ve ark.** Mitogen-activated protein kinase and activator protein-1 dependent signals are essential for Bacteroides fragilis enterotoxin-induced enteritis. *European Journal of Immunology* 2005;35:2648–2657.

201. **Kim JM, Cho SJ, Oh YK, Jung HY, Kim YJ ve ark.** Nuclear factor-kappa B activation pathway in intestinal epithelial cells is a major regulator of chemokine gene expression and neutrophil migration induced by Bacteroides fragilis enterotoxin. *Clinical and Experimental Immunology* 2002;130:59–66.

202. **Wu S, Powell J, Mathioudakis N, Kane S, Fernandez E ve ark.** Bacteroides fragilis enterotoxin induces intestinal epithelial cell secretion of interleukin-8 through mitogen-activated protein kinases and a tyrosine kinase-regulated nuclear factor-κb pathway. *Infection and Immunity* 2004;72:5832–5839.

203. **Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S, Huso DL, Wu XQ ve ark.** Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic Bacteroides fragilis-induced colon tumorigenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011;108:15354–15359.

204. **Kim JM, Lee JY, Kim YJ**. Inhibition of apoptosis in Bacteroides fragilis enterotoxin-stimulated intestinal epithelial cells through the induction of c-IAP-2. *European Journal of Immunology* 2008;38:2190–2199.

205. **Ben-Neriah Y, Karin M**. Inflammation meets cancer, with NF-κb as the matchmaker. *Nature Immunology* 2011;12:715–723.

206. **Hiergeist A, Gläsner J, Reischl U, Gessner A**. Analyses of intestinal microbiota: Culture versus sequencing. *ILAR Journal* 2015;56:228–240.

207. **Sarangi AN, Goel A, Aggarwal R**. Methods for Studying Gut Microbiota: A Primer for Physicians. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology* 2019;9:62–73.

208. **Waters DLE, Shapter FM**. The polymerase chain reaction (PCR): general methods. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)* 2014;1099:65–75.

209. **Thornton B, Basu C**. Rapid and Simple Method of qpcr Primer Design. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)* 2015;1275:173–179.

210. **CDC**. Should I Get Screened for Prostate Cancer? *18.08*. Https://www.cdc.gov/cancer/prostate/basic_info/get-screened.htm (2020).

211. **U.S Preventive Services Task Force**. Prostate Cancer: Screening. *08.05*. Https://www.uspreventiveservicestaskforce.org/uspstf/recommendation/prostate-cancer-screening#bootstrap-panel--12 (2018).

212. **NCBI**. National Center for Biotechnology Information (US). Https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FJ367787.1#sequence_FJ367787.1 (2009, erişim 27 Aralık 2020).

213. **NCBI**. National Center for Biotechnology Information (US). Https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_ADJL01000005.1 (2010, erişim 27 Aralık 2020).

214. **Brüggemann H, Al-Zeer MA**. Bacterial signatures and their inflammatory potentials associated with prostate cancer. *APMIS*;n/a. Epub ahead of print 28 Ocak 2020. DOI: 10.1111/apm.13021.

215. **Alexeyev O, Bergh J, Marklund I, Thellenberg-Karlsson C, Wiklund F ve ark.** Association between the presence of bacterial 16S RNA in prostate specimens taken during transurethral resection of prostate and subsequent risk of prostate cancer (Sweden). *Cancer causes & control : CCC* 2006;17:1127–1133.

216. **Kakegawa T, Bae Y, Ito T, Uchida K, Sekine M ve ark.** Frequency of Propionibacterium acnes Infection in Prostate Glands with Negative Biopsy Results Is an Independent Risk Factor for Prostate Cancer in Patients with Increased Serum PSA Titers. *Plos one* 2017;12:e0169984.

217. **Ugge H, Carlsson J, Söderquist B, Fall K, Andén O ve ark.** The influence of prostatic Cutibacterium acnes infection on serum levels of IL6 and CXCL8 in prostate cancer patients. *Infectious agents and cancer* 2018;13:34.

218. **Olender A, Radej S, Płaza P, Bar K, Maciejewski R**. Propionibacterium acnes infection associated with cancerous prostate hypertrophy. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej* 2016;126:697–699.

219. **Mcintosh FM, Maison N, Holtrop G, Young P, Stevens VJ ve ark.** Phylogenetic distribution of genes encoding β-glucuronidase activity in human colonic bacteria and the impact of diet on faecal glycosidase activities. *Environmental Microbiology* 2012;14:1876–1887.

220. **Nelson DE, van der Pol B, Dong Q, Revanna K V., Fan B ve ark.** Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *Plos ONE* 2010;5:e14116.

221. **Keay S, Zhang CO, Baldwin BR, Alexander RB**. Polymerase chain reaction amplification of bacterial 16s rrna genes in prostate biopsies from men without chronic prostatitis. *Urology* 1999;53:487–491.

222. **Alanee S, El-Zawahry A, Dynda D, Dabaja A, mcvary K ve ark.** A prospective study to examine the association of the urinary and fecal microbiota with prostate cancer diagnosis after transrectal biopsy of the prostate using 16srna gene analysis. *Prostate* 2019;79:81–87.

223. **Feng Y, Ramnarine VR, Bell R, Volik S, Davicioni E ve ark.** Metagenomic and metatranscriptomic analysis of human prostate microbiota from patients with prostate cancer. *BMC Genomics* 2019;20:146.

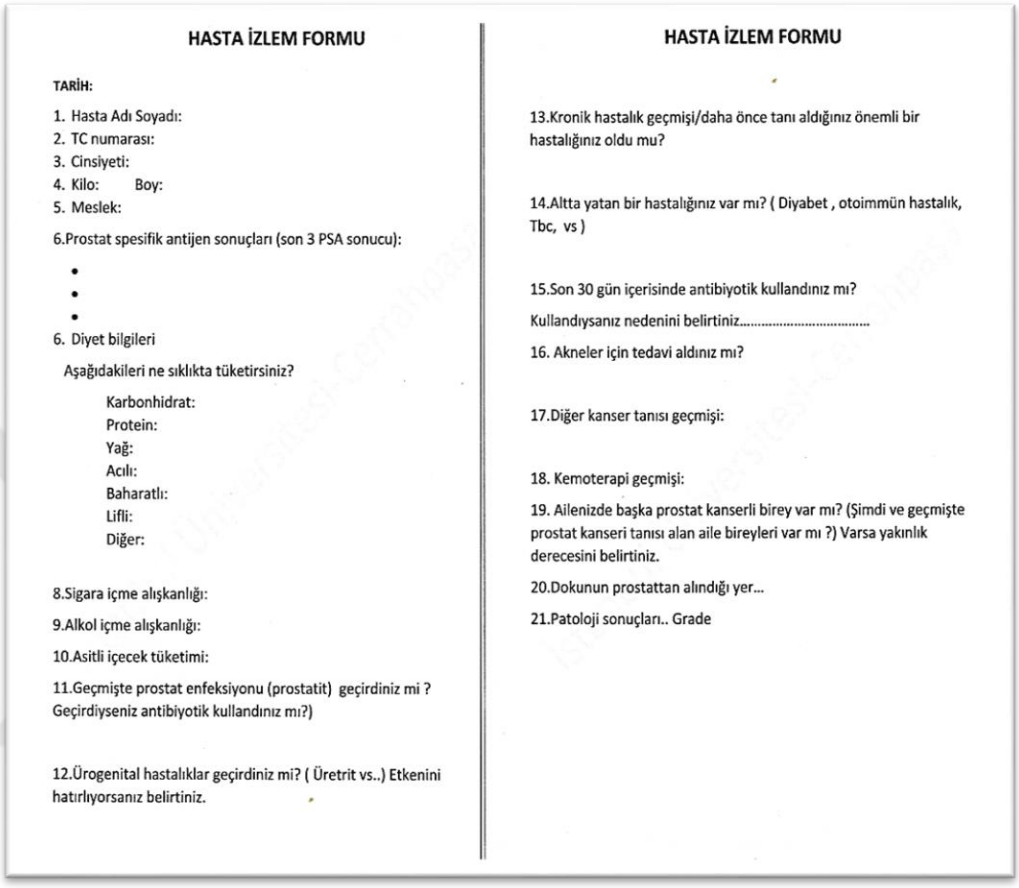
224. **Radej S, Płaza P, Olender A, Szewc M, Bar K ve ark.** Infiltrating Treg and Th17 Cells of the Prostate Hypertrophy Gland Associated with Propionibacterium Acnes Infection. *Research and Reports in Urology* 2020;Volume 12:593–597.

225. **Dadashi M, Eslami G, Taghavi A, Goudarzi H, Hajikhani B ve ark.** Is propionibacterium acnes a causative agent in benign prostate hyperplasia and prostate cancer? *Archives of Clinical Infectious Diseases*;13. Epub ahead of print 2018. DOI: 10.5812/archcid.58947.

226. **Yu H, Meng H, Zhou F, Ni X, Shen S ve ark.** Urinary microbiota in patients with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Archives of Medical Science* 2015;2:385–394.

227. **Feng Y, Jaratlerdsiri W, Patrick SM, Lyons RJ, Haynes A-M *ve ark.*** Metagenomic analysis reveals a rich bacterial content in high-risk prostate tumors from African men. *The Prostate* 2019;79:1731–1738.

FORMLAR



HASTA İZLEM FORMU

TARİH:

1. Hasta Adı Soyadı:
2. TC numarası:
3. Cinsiyeti:
4. Kilo: Boy:
5. Meslek:

6.Prostat spesifik antijen sonuçları (son 3 PSA sonucu):

-
-
-

6. Diyet bilgileri

Aşağıdakileri ne sıklıkta tüketirsiniz?

Karbonhidrat:
Protein:
Yağ:
Acılı:
Baharatlı:
Lifli:
Diğer:

8.Sigara içme alışkanlığı:

9.Alkol içme alışkanlığı:

10.Asitli içecek tüketimi:

11.Geçmişte prostat enfeksiyonu (prostatit) geçirdiniz mi ? Geçirdiyseniz antibiyotik kullandınız mı?)

12.Ürogenital hastalıklar geçirdiniz mi? (Üretrit vs..) Etkenini hatırlıyorsanız belirtiniz.

HASTA İZLEM FORMU

13.Kronik hastalık geçmişi/daha önce tanı aldığınız önemli bir hastalığınız oldu mu?

14.Altta yatan bir hastalığınız var mı? (Diyabet , otoimmün hastalık, Tbc, vs)

15.Son 30 gün içerisinde antibiyotik kullandınız mı?

Kullandıysanız nedenini belirtiniz.....

16. Akneler için tedavi aldınız mı?

17.Diğer kanser tanısı geçmişi:

18. Kemoterapi geçmişi:

19. Ailenizde başka prostat kanserli birey var mı? (Şimdi ve geçmişte prostat kanseri tanısı alan aile bireyleri var mı ?) Varsa yakınlık derecesini belirtiniz.

20.Dokunun prostattan alındığı yer...

21.Patoloji sonuçları.. Grade

	ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ	**Doküman Adı:** KADB-F.23-R.00 **Yayın Tarihi:** 18.04.2013 **Sayfa No:** 1/2 **Onaylayan:** Daire Başkanı

1.Bu çalışma bir araştırma konusudur.

2.Araştırmamızda sizden alınacak olan prostat doku örneklerinizde başta *Bacteroides fragilis* ve *Cutibacterium acnes* olmak üzere çeşitli bakterilerin varlığını araştırmak istiyoruz.

3.Araştırmamız kapsamında, araştırma sürecinde size aldığımız tedavi dışında herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.

4.Zaten rahatsızlığınızdan dolayı başvurmuş, kesin tanı alabilmeniz için gerekli olan rutin işlemler sırasında sizden alınan doku örneklerinden patolojik değerlendirmeniz yapılıp tanınız konulduktan sonra, şayet artarsa, örneğinizin artan kısmını çalışma için araştırmamızda kullanmak üzere talep ediyoruz.

6. Araştırmamızda, doku örneğinizin alımı için aseptik kurallara uygun şekilde hekiminiz tarafından küçük steril tüplere artan örneğiniz konacaktır. Bunun sonucunda oluşabilecek bir komplikasyon beklenmemektedir.

7. Araştırmamızda, doku örneğinizi, Bacteroides *fragilis* ve *Cutibacterium acnes* isimli bakterilerin varlığını moleküler mikrobiyolojik yöntemler ile saptamak için kullanacağız

8. Araştırma için sizden hiçbir ücret talep edilmeyecektir. Size de herhangi bir ücret ödenmeyecektir. Bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kurumundan (SGK'dan) herhangi bir ücret alınmayacaktır.

9.Araştırmaya katılmanız tamamen sizin isteğinize bağlıdır ve istediğiniz zaman herhangi bir cezaya ya da yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkınızı kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilirsiniz.

10. Araştırmaya katılmanız halinde İzleyiciler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer sağlık otoriteleri size ait orjinal tıbbi kayıtlara doğrudan erişebilecektir, Bununla birlikte kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır, araştırmaya katılıp bu formu imzalamanız durumunda siz ya da yasal temsilciniz söz konusu erişime izin vermiş olacaksınız.

11. Kimliğinizi ortaya çıkarıcak tüm kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacak ve araştırma sonuçlarının yayınlanması durumunda dahi kimliğiniz gizli tutulacaktır.

12. Araştırma konusu kapsamında araştırmaya katılmaya devam isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde size ya da yasal temsilcinize en kısa sürede-zamanında bilgi verilecek ve çalışmadan çıkabileceksiniz.

13. Araştırma hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir advers olay hakkında daha ayrıntılı bilgi edinebilmeniz için araştırmacı Yüksek Lisans Öğrencisi Eılip Tokuç'a ait 0539 720 24 36 numaralı telefonlardan gün ün 24 saatinde erişebileceksiniz.

14. Araştırmaya katılmamız durumunda sizden tedaviniz dışında gerekli olacak bir ek süre talebimiz yoktur.

15. Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı 120 olarak belirlenmiştir.

16. Sizden edinilecek biyolojik materyal (doku) araştırma konumuz olan *Bacteroides fragilis* ve *Cutibacterium acnes* bakterilerinin miktarlarını belirlemek üzere ve ileri çalışmalarda başka bakterilerin varlığını belirlemek üzere de kullanılabilecektir.

17. Sizden aldığımız biyolojik materyalin (Doku) analizi İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı bünyesinde çalışılacak ve yurtdışında herhangi bir çalışma yapılmayacaktır.

	ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ	**Doküman Adı:** KADB-F.23-R.00 **Yayın Tarihi:** 18.04.2013 **Sayfa No:** 2/2 **Onaylayan:** Daire Başkanı

18. "Kanserli olan ve kanser saptanmayan prostat dokularında *Cutibacterium acnes* ve *Bacteroides fragilis* sıklığının karşılaştırılması " adlı araştırmamızda kullanılacak biyolojik örneklerimin;

Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.

Yukarıda bahsi geçen araştırmada ve ileride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

19. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki bütün açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve açıklaması verilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen araştırıcı tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum.

Evet

Hayır

20.Söz konusu araştırmaya hiçbir baskı olmaksızın kendi arzumla katıldığımı beyan ederim.

Evet

Hayır

21. Çalışmaya katılan kişinin:

Adı-soyadı ve imzası:

Tarih:

Telefon numarası:

22.Gönüllünün yasal temsilcisinin:

Adı-soyadı ve imzası:

Tarih:

Telefon numarası:

23. Araştırma ekibindeki araştırmacının;

Adı-soyadı ve imzası: Yüksek Lisans Öğrencisi Eılip TOKUÇ

Tarih:

Telefon numarası: 0539 720 24 36

ETİK KURUL KARARI

İÜC Tarih ve Sayı: 05/04/2019-54138

BENDEDYS7

T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Yüksek Lisans Öğrencisi Edip Tokuç'un etik kurul kararı A-33

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :11.03.2019 tarih, 64414572-604.01.01-39841 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Hrisi Bahar TOKMAN'ın** danışmanlığında **Yüksek Lisans Öğrencisi Edip Tokuç'un** yürütücülüğünde **Prof.Dr.İclal Gürses ve Prof.Dr.Nur Ahmet ERÖZENCİ'nin** yardımcılıklarında **"Kanserli Olan ve Kanser Saptanmayan Prostat Dokularında Cutibacterium Acnes ve Bacteroides Fragilis Sıklığının Karşılaştırılması"** başlıklı Yüksek Lisans Tezi (ARAŞTIRMA FONU) hakkında ilgi yazınız ve ekleri **02 Nisan 2019** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

NOT: Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak İçin:http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BENDEDYS7

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL
Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33
e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

KANSERLİ OLAN VE KANSER SAPTANMAYAN PROSTAT DOKULARINDA CUTIBACTERIUM ACNES VE BACTEROIDES FRAGILIS SIKLIĞININ KARŞILAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%6	%5	%2	%3
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	%1
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
4	Submitted to Fatih University Öğrenci Ödevi	<%1
5	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
6	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
7	issuu.com İnternet Kaynağı	<%1
8	samsunism.saglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Edip	**Soyadı**	Tokuç
Doğ.Yeri	Şişli/İstanbul	**Doğ.Tar.**	1995
Uyruğu	T.C	**TC Kimlik No:**	51760489314
Email	ediptokuc@gmail.com	**Tel:**	5397202436

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mez. Yılı**
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa,Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	2020
Lisans	İstanbul Üniversitesi-Biyoloji	2017
Lise	İntaş Lisesi	2013

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma ***	**Yazma***	**KPDS/ÜDS Puanı**	**YÖKDİL**
İngilizce	İyi	İyi	İyi	-	70,00

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	65,87	65,16	60,95

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Microsoft Word	İyi
Microsoft PowerPoint	İyi
Microsoft Excel	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

1.Konuşkan ŞS*,Egeli B,**Tokuç E**,Taner Z,Öztürk Bakar Y,Bahar Tokman H.Klinik Örneklerden Üretilen *Cutibacterium acnes* izolatlarının antimikrobiyal direnç durumu.MaSCo 2019.Marmara Student Congress, Marmara Üniversitesi,Tıp Fakültesi Öğrenci Kongresi, 3-5 Mayıs 2019(Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti-Anaerop Çalışma Grubu İş birliği ile) HP:207

2.Tokman HB, Kurt M,Kocazeybek B, Ozdemir S, Ozturk Bakar Y, Taner Z, Sadunoglu Guler M,Hussain N,Kaya S,**Tokuc E**. Prevalence of Bacterial Pathogens Causing Ocular Infections: A Five Years Epidemiologic Study. 26 th International Medical Sciences Student Congress. May 4-6, 2018. Abstract number:PF17

3.Öz GE,**Tokuc E**,Taner Z,Ozturk Bakar Y,Hussain N,Tutan H,Ozdemir S,Can K,Özbey D,Tokman HB.Deri Ve Yumuşak Doku Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Streptococcus agalactiae* 'nin Prevalansı Ve Antimikrobiklere Duyarlılığı.38 th International Turkish Microbiology Congress. Nov 4-8,2018. Abstract number:PS-067

4.Taner Z,Ozturk Bakar Y,**Tokuc E**,Ozdemir S,Kurt A,Akkuş S,Sadunoglu Guler M,Tutan H,Öz GE,Hussain N,Cihan M,Başaran E,Tokman HB. Deri ve Yumuşak Doku Örneklerinden Üretilen *Actinomyces* Türlerinin Dağılımı: Üç Yıllık Retrospektif Bir Çalışma XX.Türk Klinik Mikrobiyoloji Ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi 13-16 Mart-2019 Abstract number:P-056 sayfa:226

5. Sezer Toprak,Kübra Can,Reyhan Çalışkan,Gönül Şengöz, Zafer Habip,**Edip Tokuç**,Mehmet Demirci,Zeynep Taner, Müzeyyen Mamal Torun,Bekir Sami Kocazeybek,Hrisi Bahar Tokman. Menenjit Tanısı Almış Hastalarda,Bakteriyel Menenjit Etkenlerinin Kültür ve PZR ile Belirlenmesi Türk Mikrobiyoloji Cem Derg 2019;49(4):191-196 doi:10.5222/TMCD.2019.191

6. Tansu Şahin,**Edip Tokuç**,Yeşim Öztürk Bakar,Cezmi Doğan,Burak Mergen,Şerife Ceran,Merve Cihan,Noor Hussain,Sinem Özdemir,Kübra Can,Hrisi Bahar Tokman. Endoftalmili olguların korneasından alınan örneklerde bakterilerin dağılımı ve antimikrobiyal duyarlılıkları:Üç yıllık retrospektif bir çalışma