

DIJAGNOSTIČKI, PROGNOСТИČKI I PREDIKTIVNI PARAMETRI U KARCINOMU PROSTATE

CORRESPONDENT

Milica Mijović
Medicinski fakultet
Kosovska Mitrovica
milicavancetovic@yahoo.com

AUTORI

Milica Mijović¹, Vladica Nedeljković¹, Danica Vukićević¹, Nebojša B. Mitić¹, Branislav Đerković¹, Julijana Rašić², Vesna Premović³

¹ Institut za patologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Prištini - Kosovska Mitrovica, Srbija

² Institut za farmakologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Prištini - Kosovska Mitrovica, Srbija

³ Zdravstveni centar Kosovska Mitrovica, Kosovska Mitrovica, Srbija

SAŽETAK

Karcinom prostate je najčešći malignitet kod muškaraca u Americi, dok se u Evropi nalazi na drugom mestu po učestalosti. Odgovoran je za oko 10% smrti od karcinoma u istoj populaciji. Klinički se manifestuje različitim formama, od spororastućeg do agresivnih oblika sa izraženim metastatskim potencijalom. Dijagnoza se postavlja dobro definisanim algoritmom, koji počinje određivanjem vrednosti serumskog prostata specifičnog antigena, a završava se biopsijom prostate kao "zlatnim standardom". Patohistološki dijagnostički kriterijumi su zasnovani na arhitekturnim, citoplazmatskim, jedarnim i karakteristikama intraluminalnih struktura, a od nesumnjivog značaja su i periacinarne pukotine kao pomoćni dijagnostički kriterijumi. Prognoistički i prediktivni parametri svrstani su u tri kategorije. Neki od njih predstavljaju sastavni deo rutinskog patohistološkog izveštaja, dok se ostali razmatraju kako proces dijagnostike odmiče. Savremena saznanja uvode biomarkere u svakodnevnu praksu personalizovane medicine, naročito kada je lečenje obolelih od karcinoma prostate u pitanju.

Ključne reči: karcinom prostate, prognoza, predikcija, biomarkeri.

ENGLISH

DIAGNOSTIC, PROGNOSTIC AND PREDICTIVE PARAMETERS IN PROSTATE CANCER

Milica Mijović¹, Vladica Nedeljković¹, Danica Vukićević¹, Nebojša B. Mitić¹, Branislav Đerković¹, Julijana Rašić², Vesna Premović³

¹ Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University in Priština - Kosovska Mitrovica, Serbia

² Institute of Pharmacology, Faculty of Medicine, University in Priština - Kosovska Mitrovica, Serbia

³ Health Center Kosovska Mitrovica, Kosovska Mitrovica, Serbia

SUMMARY

Prostate cancer (CP) is the most common malignancy in men in America, while it is the second most common in Europe. It is responsible for about 10% of cancer deaths in the same population. It is clinically manifested in various forms, from slow-growing to aggressive forms with pronounced metastatic potential. Diagnosis is made by a well-defined algorithm, which begins with the determination of serum prostate specific antigen values and ends with prostate biopsy as the "gold standard". Pathohistological diagnostic criterias are based on architectural, cytoplasmic, nuclear and characteristics of intraluminal structures, as well as periacinar cleftings, which are deffined as helpfull diagnostic criteria of undoubted importance. Prognostic and predictive parameters are classified into three categories. Some of them are an integral part of routine pathohistologicat report, while others are considered as the diagnostic process progresses. Modern knowledge introduces biomarkers into the everyday practice of personalized medicine, especially when is necessary to treat prostate cancer patients.

Key words: prostate cancer, prognosis, prediction, biomarkers.

Current Karcinom prostate (KP) je najčešći malignitet kod muškaraca u Americi, dok se u Evropi nalazi na drugom mestu po učestalosti [54]. Odgovoran je za oko 10% smrti od karcinoma u istoj populaciji. U Srbiji je karcinom prostate oko 30% češći nego prethodnih deset godina i posle karcinoma pluća i kolona, nalazi se na trećem mestu po učestalosti. U našoj zemlji od ovog maligniteta godišnje oboli oko 2800, a umre oko 900 muškaraca [27]. Njegova incidenca raste sa starošću, pri čemu u najvećem broju slučajeva ima dugogodišnji indolentni tok, a samo mali procenat pokazuje veliku kliničku agresivnost i lošu prognozu [45]. To je malignitet muškaraca pretežno starijih od 50 godina. Oko 75% karcinoma prostate dijagnostikuje se od 60-80. godine života. Svega 1% karcinoma prostate dijagnostikuje se kod muškaraca mlađih od 50 godina, ali se može javiti i kod mladih osoba, čak u dece i adolescenata [16]. Smatra se da u oko 10% ispitivanih muškaraca u SAD-u oko 50. godine, već počinje da se razvija klinički evidentan karcinom prostate. Istraživanja ukazuju na činjenicu da se može naći u više od 80% muškaraca starijih od 80 godina. Visoka incidenca beleži se, osim u SAD-u, i u Australiji i Skandinaviji, što se pripisuje organizovanom skriningu [12]. Karcinom prostate veoma retko se javlja kod Azijata i u severnoj Africi. Rasna distribucija karcinoma prostate najizraženija je u SAD-u, u kojima je incidenca među Crncima čak oko 70% veća nego u Belaca i Azijata.

Etiopatogeneza karcinoma prostate

Uzrok pojave karcinoma prostate je nepoznat. Saznanja o incidenci, epidemiološkim karakteristikama, faktorima rizika za nastanak neoplazme, kao i o patogenetskim karakteristikama ili patološkim promenama u neoplastičnoj prostati, često su kontradiktorna i zasnovana na empirijskim opažanjima. Zato se kao faktori rizika navode: životno doba, familijarna predispozicija, hormoni, uticaj sredine, ali i duga sedenja, duga seksualna apstinencija i prekomerno konzumiranje alkohola, kao i ishrana pretežno na bazi crvenog mesa. Novija istraživanja navode da je u celokupnoj populaciji rizik za nastanak karcinoma prostate veći za 25% u muškaraca sa višim vrednostima insulinlike growth factor-I (IGF-I) i za 18% veći kod onih sa višim vrednostima "slobodnog" testosterona [42]. Značajno mesto zauzima i gen 3 za karcinom prostate (PCA3), novi genski test koji se izvodi na uzorku urina [55]. PCA3 je vrlo specifičan za postavljanje dijagnoze karcinoma prostate i može pružiti dodatne informacije uz PSA test i tako pomoći pri odlučivanju za biopsiju prostate. Kao potencijalni faktor rizik u poslednje vreme se navodi i inflamatorna bolest debelog creva (eng. inflammatory bowel disease - IBD), jer je utvrđeno da muškarci sa IBD imaju 4 do 5 puta veći rizik za nastanak ovog maligniteta [28].

Virusi kao etiološki činioci razmatrani su u mnogim studijama, kao i u etiologiji drugih tumora. Bez pouzdanog kauzaliteta, nađeni su partikuli citomegalovirusa u humanoj prostati, kao i povišen titar antitela za herpes simpleks virus i citomegalovirus. Danas se jedino pouzdano zna da infekcija humanim papilomavirusom tip 33 povećava rizik za nastanak karcinoma prostate [1]. Genetski faktori imaju veoma važnu ulogu i njima se objašnjavaju rasne razlike u pojavi ovog maligniteta, kao i povećan rizik u muškaraca sa pozitivnom porodičnom anamnezom. Muškarci kod kojih najmanje dva ili više najbližih srodnika ima dijagnostikovani karcinom prostate, imaju 5 do 11 puta povećan rizik za nastanak istog. Na-

dene su i abnormalnosti na hromozomima 8p22, gubitak supresor gena i delecija na hromozomu 13q, što dodatno objašnjava familijarni rizik [9].

Potpuno je jasno da je rast i razvoj, kao i funkcija prostate pod dejstvom testosterona. Testosteron difuzno prožima prostatu i u njoj se pretvara u metabolički aktivnu formu: dihidrotestosteron (DHT) pod dejstvom enzima steroid 5-alfa reduktaza tip II (eng.-SRD5A2). Dihidrotestosteron (DHT) i testosteron vezuju se za androgen receptore (eng.-AR) i tako stvoren receptor/ligand kompleks premešta se u jedro, gde učestvuje u DNK sintezi i transaktivaciji gena, uključujući i one koje kontrolišu ćelijski rast. Kao najverovatniji uzrok nastanka pominje se uticaj polnih hormona (testosterona). Imajući u vidu hormonsku zavisnost prostate u embrionalnom periodu, ali i u kasnijem razvoju u detinjstvu, pubertetu, adultnom dobu i senijumu, jasno je da promene u hormonskom statusu mogu imati značajnije reperkusije na prostatu. Najjasniji uticaj se zapaža kod evnuha ili kastriranih prepuberteta. Ove osobe ne dobijaju karcinom prostate, jer ona praktično ne postoji, te nema ni glandularnih elemenata iz kojih bi nastao karcinom. Kastracija učinjena posle puberteta, kada je prostata već formirana, ne daje apsolutnu atrofiju prostate, pa je i nastanak karcinoma prostate moguć.

U brojnim istraživanjima naročita pažnja bila je posvećena ulozi polimorfizma u genskoj regulaciji ovog procesa, kao i mogućnostima da se polimorfizmom objasni interetnička varijacija [48]. Polimorfizam steroid 5-alfa reduktaza tip II (eng.-SRD5A2) gena delimično objašnjava navedene razlike [50], mada se veća pažnja poklanja androgen receptor (eng.-androgen receptor AR) genu, koji se nalazi na dugom kraku X hromozoma. Androgen receptor (eng. androgen receptor-AR) gen poseduje značajni polimorfizam u ponavljanju CAG (citozin-adenin-guanin) regije. Rezultati nekoliko studija pokazali su da muškarci sa manjim brojem CAG ponavljanja imaju povećan rizik za nastanak karcinoma prostate [15]. Crnci u SAD-u imaju manje CAG ponavljanja od Belaca, čime se delimično objašnjava veća incidenca u toj rasnoj populaciji [44, 48]. Drugi genetski mehanizmi moguće povezani sa povećanim rizikom za nastanak karcinoma prostate su polimorfizam vitamin D receptor gena [25, 26]. Međutim, navedeni faktori eventualnog rizika nisu značajno različiti u interetničkim grupacijama.

Dijagnoza karcinoma prostate

Sa patohistološkog aspekta dijagnoza karcinoma prostate postavlja se na osnovu dobro definisanih i preciznih kompleksnih kriterijuma koji su utemeljeni u arhitekturnim, citoplazmatskim, jedarnim i karakteristikama intraluminalnih struktura. Veoma često, naročito kada u prostati postoji atrofija, diferencijalno dijagnostičke dileme mogu biti rešene jedino ako su prisutna tri sigurna znaka maligniteta (perineuralna invazija, glomerulacija i mucinozna fibroplazija u vidu kolagenoznih mikronodula), koja se nikada ne mogu videti u benignim bolestima prostate. U tim slučajevima od nesumnjive pomoći su periacinarne retrakcione pukotine (eng. periacinar retraction cleftings), koje su definisane kao nesigurne maligne, ali karakteristike koje mogu biti od velike pomoći kada je potrebno razlikovati karcinom od atrofije prostate [37, 38].

Bez obzira na sve konvencionalne i dobro poznate činjenice, kao i najnovija saznanja, biologija karcinoma prostate je i danas slabo razumljiva. Njegov nastanak je sagledan kao višestepeni proces, a obuhvata progresivne promene od nor-

malnog epitela, preko hiperplazije, prostatične intraepitelne neoplazije, in situ karcinoma, do invazivnog karcinoma i metastaziranja. Suštinski, transformacija normalne u malignu ćeliju je rezultat brojnih genetskih alteracija. U stvaranju malignog fenotipa učestvuju alteracije velikog broja gena, one se među sobom kombinuju, što ima za posledicu različito kliničko ponašanje morfološki identičnih karcinoma prostate. U centru ovog procesa su takozvane onkogene mutacije ili kancer-uzrokujuće mutacije na kritičnim genima, koji imaju vodeću ulogu u pokretanju i održavanju proliferacionog ciklusa, signalizirajući ćelijama inhibiciju rasta ili izazivajući ćelijsku smrt. Dokazano je da jedan onkogen nije dovoljan za malignu transformaciju, dok saradnja između najmanje dve ili više različitih onkogenih mutacija može da je izazove. Latentni period od pojave prve inicijalizovane ćelije do formiranja malignog fenotipa (imortalizacija, mitogeneza, antiapoptoza, angioneogeneza, invazivnost i metastaziranje) iznosi više godina, čak i deceniju.

Upravo iz ovih razloga, proučavanje prognostičkih i prediktivnih faktora ima veliki značaj za selekciju pacijenata koji će imati najveći benefit od citotoksičnih hemioterapijskih protokola lečenja.

Prognostički i prediktivni faktori

Prognostički faktori su indikatori biološke agresivnosti tumora i mogu se koristiti za predikciju toka i ishoda bolesti. Definišu se kao bilo koje merenje dostupno u vremenu dijagnoze ili operacije koje je povezano sa generalnim ili preživljavanjem bez bolesti u odsustvu adjuvantne terapije i uključuju karakteristike pacijenta i tumora. Prediktivni faktori se definišu kao karakteristike povezane sa odgovorom ili nedostatkom odgovora na terapiju. Kod karcinoma prostate nema pravih prediktivnih faktora, kao što je to slučaj sa malignitetima nekih drugih lokalizacija. Recimo, status androgenih receptora ne predviđa odgovor na hormonsku terapiju, kao što to čini status estrogennih receptora kod karcinoma dojke koji je jedan od najsnažnijih poznatih prediktora. Zato je kod karcinoma prostate fokus u istraživanju usmeren ka prognostičkim faktorima i oni se standardno dele u tri kategorije [11]. Kategorija I obuhvata faktore preporučene za rutinski raport i čine ih vrednost inicijalnog serumskog PSA, Gleason-ov skor ili histološki gradus, stadijum bolesti i status hirurških margina. U faktore kategorije II spadaju tumorski volumen, histološki tip i DNK-ploidija. Faktori kategorije III su perineuralna invazija, neuroendokrina diferencijacija, gustina krvne mreže u tumoru, nuklearne karakteristike, proliferativni markeri i molekularni markeri kao što su onkogeni i tumor supresor geni. U drugu i treću kategoriju spadaju faktori koji se rutinski ne preporučuju zbog manje ili više insuficijentnih podataka o njihovom značaju.

Prostatični specifični antigen (PSA) je protein čiju sintezu kodira gen lociran na 19 hromozomu. Produkuju ga epitelne ćelije duktusa i acinusa prostate i direktno ga izlučuju u kanalikularni sistem. Ključni je faktor u skriningu za detekciju karcinoma prostate, a nivo PSA u serumu u trenutku postavljanja dijagnoze je važan marker koji svrstava pacijente u različite prognostičke kategorije. Vrednosti serumskog PSA do 4 ng/ml su u granicama referentnih vrednosti, bez obzira na starost pacijenta. Nije postignut konsenzus definisanja normalnih vrednosti PSA u zavisnosti od životnog doba. Najpreciznija dijagnostička granična vrednost (cut-off) za postavljanje dijagnoze ovog maligniteta je 10 ng/ml [41]. Brojna istraživanja dokazuju da je visok nivo PSA u korelaciji sa lošom prognozom i većim stepenom raširenosti tumorske

bolesti [52]. Osnovni nedostatak ovog dijagnostičkog markera je mogućnost da se uvećane vrednosti mogu sresti i kod nekih benignih stanja, prvenstveno hiperplazije i zapaljenjskih procesa u prostati, kada su u slučaju dijagnostikovanih karcinoma moguća odstupanja u korelacijama sa kliničkim parametrima.

Gleason-ov skor je drugi moćan prognostički faktor, a označava modifikovani histološki gradus. Osim prognostičkog značaja, bitan je i za predviđanje rizika nakon prostatektomije ili radioterapije [19]. Na osnovu vrednosti skora pacijenti se grupišu u zonu niskog rizika (skor od 2-4), visokog stepena rizika (skor od 8-10) i intermedijernu grupu srednjeg i ne baš potpuno predvidljivog rizika (skor 5-7) [31]. Najlošiju prognozu imaju pacijenti sa Gleason-ovim skorom od 8-10, a najbolju sa vrednošću skora od 2-4 [19]. Najznačajnije korelacije su prisutne između visokog Gleasonovog skora, ukupnog preživljavanja i stadijuma bolesti [31].

Stadijum tumorske bolesti je treći glavni prognostički faktor za karcinome prostate, a pored definisanja nodalnog statusa i prisustva tj. odsustva metastaza, ključni su momenti određivanje ekstraprostatične ekstenzije i infiltracije semenih kesica. Ekstraprostatična ekstenzija označava infiltraciju kapsule i periprostatičnog tkiva, i ako je prisutna pomena bolest u višu kategoriju, što implicira i promenu uticaja na preživljavanje.

Generalno, stadijum bolesti je veliki prediktor prognoze. Pacijenti u T3 stadijumu nisu kandidati za radikalnu prostatektomiju i obično se tretiraju radio, hormono ili hemioterapijom. Među njima, 50-60% u vreme dijagnoze ima metastaze u limfnim čvorovima. Više od polovine pacijenata razvija metastaze unutar 5 godina, a oko 75% umire unutar 10 godina. Kod pacijenata sa startno dijagnostikovano metastatskom bolešću trogodišnji mortalitet iznosi oko 15%, petogodišnji 80%, što prvenstveno zavisi od odgovora na prvu liniju hormonoterapije. Nasuprot ovome, kod pacijenata u T1a stadijumu rizik za progresiju bolesti unutar 4 godine je vrlo nizak i iznosi oko 2%. Ako se ne leče, progresija se beleži od 16 do 25% a klinički tok je indolentan i dugogodišnji (8-10 godina) [45]. T1b stadijum je mnogo heterogeniji u gradusu, lokalizaciji i volumenu od T2 karcinoma. Češće su nižeg gradusa, većeg volumena i češće lokalizovani u prelaznoj zoni, u poređenju sa palpabilnim karcinomima, koji su manjeg volumena, ali lokalizovani periferno, što omogućava relativno bržu ekstenziju u periprostatično tkivo [22].

Perineuralna invazija je jedan od najčešće opisanih prognostičkih faktora treće grupe značajnosti. Prisutna je u čak 75-84% prostatektomija, zbog čega se i njen prognostički značaj gubi u analizama. Samo jedna studija opisuje da dijametar perineuralne invazije kao nezavistan parametar statistički značajno utiče na vreme do pojave prvog relapsa [33]. Brojne studije su proučavale i značaj prisustva perineuralne invazije u bioptičkom materijalu. Osim čvrstih dokaza o korelaciji sa ekstraprostatičnom ekstenzijom i povećanom incidencom progresije bolesti nakon prostatektomije, svi ostali podaci su oprečni [5]. Ipak, bez obzira na publikovane rezultate, preporuka je da se perineuralna invazija i njena opsežnost uvek notiraju u patohistološkim raportima.

Upravo iz ovih razloga i najveći broj prognostičkih faktora karcinoma prostate drugog i trećeg reda važnosti su rezultat molekularnih istraživanja. To su status androgenih receptora, definisanje neuroendokrine diferencijacije, proliferacioni i apoptotski markeri, DNK-ploidija i mikrovaskularna gustina kao najpodesnija mera angiogeneze.

Angiogeneza je proces formiranja novih krvnih sudova koji obezbeđuju nutritivne faktore neophodne za tumorski

rast i eliminišu produkte metabolizma tumorskih ćelija. Novostvoreni, tumorski krvni sudovi su aberantni, fenestrirani kapilari sa tanjom bazalnom membranom u odnosu na normalne [32]. Ove osobine uslovljavaju povećanje permeabilnosti i olakšavanje ulaska malignih ćelija u cirkulaciju, čime se pokreće proces metastaziranja [18]. Angiogeneza može biti aktivirana u različitim stadijumima tumorske progresije. Folkman je davno pokazao da su rast, invazivnost i metastaziranje zavisni od angiogeneze, i da je zahteva svaki rast tumora od jednog kubnog milimetra [21]. Neki autori pokazuju da je njeno aktiviranje moguće u preinvazivnoj, pa čak i u displastičnoj fazi tumorogeneze [51]. Kontrolišu je brojni angiogenetski faktori koje uglavnom sekretuju tumorske ćelije. Kvantifikacija vaskulature u humanim tumorima datira od davne 1991. godine kada su krvni sudovi počeli da se imunohistohemijski obeležavaju antitelima. Angiogeneza predstavlja još uvek samo obećavajući prognostički faktor, jer su rezultati brojnih istraživanja kod različitih tumora nekozistentni.

Brojna istraživanja su proučavala i značaj neoangiogeneze u karcinomima prostate [7, 10, 49]. Neke od tih studija ukazuju na povezanost stadijuma bolesti i Gleason-ovog skora sa angiogenezom, pri čemu je vaskularna gustina određivana korišćenjem pan-endotelijalnih markera, kao što su von Willebrand-ov faktor (factor VIII-related antigen), VEGF, CD31 ili CD34 [7, 49]. Međutim, rezultati istraživanja na tumorskom tkivu drugih lokalizacija ukazuju da nijedan od ovih pan-endotelijalnih markera nije idealan za proučavanje tumorske neo-angiogeneze jer ne obeležavaju samo novoformirane krvne strukture i nisu specifični samo za endotelne ćelije [20, 23].

Veći broj sprovedenih istraživanja ukazuje da je mikrovaskularna gustina (MVG) značajno veća u primarnim tumorima kod pacijenata sa metastatskom bolešću nego kod onih bez metastaza [47]. Takođe, rezultati ukazuju i na vezu između Gleason skora i mikrovaskularne gustine, a vrednosti oba parametra u bioptičkom materijalu su u pozitivnoj korelaciji sa ekstraprostatičnom ekstenzijom i mogu biti snažni prediktori operabilnosti [23]. Dobijeni rezultati zavise od vrste markera kojim se obeležavaju vaskularne strukture; korišćenjem CD31, Rubin i saradnici su našli statistički značajnu povezanost između MVG i stadijuma bolesti ili Gleason-ovog skora, dok recimo korišćenjem faktora VIII, Barth i neki drugi autori ne pronalaze ovu povezanost [4]. Wikstrom sa saradnicima je pokazao da je MVG u karcinomima prostate definisana korišćenjem endoglina nalazi u značajnoj korelaciji sa preživljavanjem, postojanjem udaljenih i nodalnih metastaza, stadijumom bolesti i Gleason-ovim skorom [57].

Suštinski, većina autora se slaže da su dva ključna problema razlog za dobijanje ne konzistentnih rezultata. Prvi je selektovana populacija, a drugi je vrsta markera angiogeneze koji se koristi u istraživanju i način očitavanja mikrovaskularne gustine. Na primer, u nekim studijama su uključeni pacijenti samo sa Gleason skorom od 5 do 7, u drugim samo pacijenti u T2 stadijumu bolesti ili samo sa metastatskom bolešću, a analiza se često ograničavala samo na bioptičkom ili samo na operativnom materijalu.

Rast malignog tumora i njegov metastatski potencijal prvenstveno zavise od indukcije angiogeneze, koja je posredovana brojnim angiogenetskim faktorima rasta. Jedan od najmoćnijih među njima je vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) [23]. VEGF je visoko specifičan i selektivan mitogen za vaskularni endotel. Indukuje proliferaciju i migraciju endotelnih ćelija in vitro, uz inhibiranje apoptoze. In vivo VEGF promovise angiogenezu povećavajući permeabilnost

krvnih sudova, a njegova over ekspresija je uvek povezana sa izraženom neoangiogenezom. U eksperimentalnim uslovima, terapijska blokada VEGF-a inhibira rast primarnog i metastatskog tumora. I na modelu tumora prostate dokazana je veza između ekspresije VEGF i metastatskog kapaciteta. Pokazano je da inhibicija VEGF-a suprimira rast i metastatsku diseminaciju karcinoma prostate [36]. Takođe, serumska koncentracija VEGF-a je značajno veća kod pacijenata sa metastatskom bolešću nego kod onih sa lokalizovanim procesom [2, 23].

Ekspresiju VEGF-a mogu indukovati različiti faktori: hipoksija, oštećenja tumor-supresorskih gena (mutacija p53), citokini (interleukin 1 i interleukin 6), onkogeni (v-Raf i v-Src), faktori rasta (transormišući factor beta i insulinski faktor rasta), hormone (progestini), itd.

VEGF i MVG izmerena preko ekspresije endoglina su obećavajući prognostički markeri za karcinome prostate, i verovatno će u budućnosti postati standard za selekciju pacijenata visokog stepena rizika za razvoj metastatske bolesti. U isto vreme nađene snažne korelacije sa preživljavanjem i drugim prognostičkim parametrima, prvenstveno Gleason-ovim skorom i stadijumom bolesti, impliciraju neophodnost daljih istraživanja, prvenstveno u smeru mogućnosti da se u okviru randomizovanih trajala definišu mogućnosti upotrebe ovih rezultata u otkrivanju novih modaliteta antiangiogenezne terapije.

Međutim, bez obzira na pokušaj da se upotrebom vaskularnih biomarkera olakša ne samo dijagnoza, već i lečenje, jasno je da je u ovaj kompleksan sistem neophodno uključiti i parametre neuroendokrine diferencijacije. Endokrinoparokrine ćelije prostate (poznate i kao APUD ili neuroendokrine ćelije) čine oko trećinu ćelijske populacije visoko specijalizovanih epitelnih ćelija žlezda prostate. Ove ćelije sadrže i sekretuju pretežno serotonin i kalcitonin, kao i mnoge druge peptide [8]. O ulozi ovih ćelija se još uvek malo zna, ali se pretpostavlja da imaju parakrinu ili lokalnu regulacionu ulogu [17].

Prostatične neuroendokrine ćelije, kako benigne, tako i maligne, ne pokazuju ekspresiju androgen receptora, za razliku od neneuroendokrinih ćelija, koje su uglavnom pozitivne na androgen [8]. Fokalna neuroendokrina diferencijacija (NED) nalazi se u gotovo svim adenokarcinomima [56], ali je značajno prisutna u oko 5-10% svih njih. Može se javiti u pojedinačnim ili zgomilanim tumorskim ćelijama. Najveći broj ćelija je pozitivan na hromogranin A [14], dok je manji broj ćelija pozitivan na serotonin. Subpopulacija tumorskih ćelija može pokazivati imunoreaktivnost i imunosenzitivnost i na neuron-specifičnu enolazu, sinaptofizin, bombesin i VEGF (vaskularni endotelni faktor rasta; eng. vascular endothelial growth factor) [56] i druge članove kalcitonin gen familije, kao što su calcitonin-gene-related peptide, katalcain, thyroid-stimulating-like peptide, somatostatin i parathyroid hormone-related protein (PTHrP) [6, 30, 43]. Značaj prisustva svih drugih neuroendokrinih elemenata, osim hromogranina A i serotonina, još uvek čeka na svoj definitivan stav.

Novija istraživanja pokazuju da su neuroendokrine ćelije postmitotičke i neproliferativne. One, takođe, izbegavaju apoptozu, ali pokazuju ekspresiju potentnih antiapoptotičnih proteina [59].

Prognostički značaj fokalne NED u primarnim netretiranim karcinomima prostate je kontroverzne prirode. Neki autori smatraju da ona ima negativan efekat na prognozu bolesti [3, 53, 58], dok pojedini autori navode da ne nalaze vezu između fokalne NED i prognoze bolesti [39]. Pojedini

autori se u svojim istraživanjima decidirano ne izjašnjavaju o prognostičkoj ulozi fokalne NED i ostavljaju otvorena vrata za dalja proučavanja. Podaci iz opsežne meta analize pokazuju da u jedanaest studija nije nađena značajna korelacija između fokalne NED i parametara od značaja, dok je ona nađena u pet studija istog istraživanja [35]. I drugi podaci iz literature ne nalaze povezanost između fokalne NED i loše prognoze [39]. Međutim, fokalna NED se češće nalazi u KP sa gorom prognozom (Gleason skor 7 (4+3) vs. 7 (3+4)) i smanjenom pozitivnošću na androgen [40].

Uloga biomarkera u savremenoj dijagnostici i terapiji karcinoma prostate

U svetlu savremenih istraživanja koja prate razvoj karcinoma prostate u literaturi se nalaze podaci o potencijalno značajnim biomarkerima koji se svakako ne koriste u rutinskoj praksi, već su rezervisani kao biomarkeri tzv. personalizovane medicine i koji omogućavaju adekvatno target lečenje pacijenta kao pojedinca. Među njima najznačajnije mesto pripada survivinu, remodelirajućem i spacing faktoru 1 (RSF1), prostata stem ćelijskom antigenu (PSCA) i phosphatase 1 nuclear-targeting subunit (PNUTS).

Survivin je inhibitor apoptoze. Značajna ekspresija se nalazi u malignim tumorima i obično je povezana sa nepovoljnim ishodom bolesti. Redukovana ekspresija survivina udružena je sa agresivnijim oblicima i gorom prognozom u karcinomu prostate [13].

Remodelirajući i spacing faktor 1 (RSF1) je uključen u regulaciju hromatinskog remodelovanja i predstavlja potencijalnu terapijsku metu. Visoka ekspresija RSF1 povezana je sa uznapredovalim malignitetima, mada njegova uloga u biologiji karcinoma prostate još uvek nije u potpunosti poznata. Smatra se da ima naročito veliku ulogu u tzv. ERG (Erythroblast transformation specific) Related Gene) negativnim slučajevima. Fuzija TMPRSS2 (transmembrane protease, serine 2) gena i ERG gena je najznačajnija rana genska promena u karcinomu prostate u Evropi, sa značajno manjom učestalošću u Afrikanaca i Azijata. Genomske karakteristike i mehanizmi za pacijente sa insuficijentnom fuzijom su i dalje nedovoljno jasni [24].

Prostata stem cell antigen (PSCA), je pretežno prostata specifični marker, čija se snažna ekspresija očekuje u većini

karcinoma prostate i u direktnoj pozitivnoj je korelaciji sa androgen nezavisnim tumorima. Zato ima potencijalno važnu ulogu u eventualnom lečenju tzv. kastraciono rezistentnih karcinoma prostate (eng. castration-resistant prostate cancer (CRPC)) kao genska target terapija. Novija istraživanja pokazuju da PSCA u kombinaciji sa neuroendokrinom neuron specifičnom enolazom visoko pozitivno koreliraju sa tumorskim stadijumom, Gleason skorom i prisustvom metastaza, odnosno sa gorom prognozom. Takođe, smatra se da PSCA može imati važnu ulogu u progresiji neuroendokrinog karcinoma prostate [46].

Još jedan važan prognostički i prediktivni biomarker je protein phosphatase 1 nuclear-targeting subunit (PNUTS) koji u sadejstvu sa phosphatase and tensin homolog (PTEN) genom and protein fosfatazom 1 (PP1) kontrološe svoju aktivnost. Uloga prekomerne ekspresije PNUTS u karcinomima se još uvek ispituje. Rezultat jedne nove studije pokazuje da su visoki nivoi PNUTS proteina prediktori gore prognoze karcinomske bolesti i da su u direktnoj vezi sa visokim vrednostima genske nestabilnosti, koji su bilo pojedinačno, bilo udruženo uključeni u razvoj karcinoma prostate [34].

U skladu sa trenutnom pandemijom izazvanom COVID 19 virusom posebna pažnja posvećena je TMPRSS2 genu za koga je nesumnjivo pokazano da ima važnu ulogu u nastanku i evoluciji karcinoma prostate, ali je istovremeno i ko-receptor za ulazak SARS-CoV-2 u ćeliju. Posebno su ispitivani pacijenti obočeci od karcinoma prostate koji se nalaze na androgen deprivacionoj terapiji (ADT). Uz hipotezu da ADT, suprimira TMPRSS2, ona bi istovremeno mogla i da zaštiti obolele od karcinoma prostate koji su na toj terapiji od infekcije COVID-om. Međutim, ADT se nije pokazao kao protektivni faktor u najnovijoj studiji [29].

ZAKLJUČAK

Svi dijagnostički, prognostički i prediktivni parametri do sada dobro poznati predstavljaju u svetlu novih saznanja samo dobru osnovu za pronalaženje novih specifičnih biomarkera ne samo u navedene svrhe, već i one koji bi bili potencijalna meta za adekvatno lečenje karcinoma prostate.

LITERATURA

1. Adami HO, Kuper H, Andersson SO, Bergstrom R, Dillner J: Prostate cancer risk and serologic evidence of human papilloma virus infection: a population-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12:87-5.
2. AJCC Cancer Staging Manual, Seventh Edition (2010) published by Springer Science and Business Media LLC, www.springerlink.com.
3. Amin M, Boccon-Gibod L, Egevard L, Epstein JI, Humphrey PA, Mikuz G, et al. Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens. *Scand. J Urol Nephrol Suppl.* 2005; 216: 20-33.
4. Barth PJ, Weingartner K, Kohler HH, et al. Assessment of vascularization in prostatic carcinoma: a morphometric investigation. *Hum Pathol*, 1996;27:1306-1310.
5. Bastacky SI, Walsh PC, Epstein JI. Relationship between perineural tumor invasion on needle biopsy and radical prostatectomy capsular penetration in clinical stage B adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol*, 1993; 17: 336-341.
6. Berman-Booty LD, Knudsen KE. Models of neuroendocrine prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2015; 22(1): 33-49.
7. Bettencourt MC, Bauer JJ, Sesterhenn IA, et al. CD34 immunohistochemical assessment of angiogenesis as a prognostic marker for prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Urol*, 1998;160:459-465.

8. Bonkhoff H: Neuroendocrine differentiation in human prostate cancer. Morphogenesis, proliferation and androgen receptor status. *Ann Oncol* 2001, 12 Suppl 2: S141- S144.
9. Bono AV: The global state of prostate cancer: epidemiology and screening on the second millenium, *BJU International* 2004, 94 (3):1-4.
10. Bostwick DG, Wheeler TM, Blute M, et al. Optimized microvessel density analysis improves prediction of cancer stage from prostate needle biopsies. *Urology*, 1996; 48:47-57.
11. Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond EH, et al. Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*, 2000;124:995-1000.
12. Brawley OW: Prostate carcinoma incidence and patient mortality: the effects of screening and early detection. *Cancer* 1997, 80: 1857-1863.
13. Büscheck F, Sulimankhil M, Melling N, et al. Loss of cytoplasmic survivin expression is an independent predictor of poor prognosis in radically operated prostate cancer patients. *Cancer Med*. 2019;9:1-10. <https://doi.org/10.1002/cam4.2773>.
14. Cerović S, Brajušković G, Maletić-Vukotić V, Mičić S. Neuroendocrine differentiation in prostate cancer. *Vojnosanitetski pregled* 2004; 61 (5), 513-518.
15. Chan JM, Stampfer MJ, Giovannucci EL: What causes prostate cancer? A brief summary of the epidemiology. *Semin Cancer Biol* 1998, 8: 263-273.
16. Cook PJ, Doll R, Fellingham SA: A mathematical model for the age distribution of cancer in man. *Int J Cancer* 1969, 4:93-112.
17. di Sant'Agnese PA: Divergent neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Semin Diagn Pathol* 2000, 17(2): 149-61.
18. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol*, 1995;146:1029-1039.
19. Egevad L, Granfors T, Karlberg L, Bergh A, Stattin P. Prognostic value of the Gleason score in prostate cancer. *BJU Int*, 2002; 89: 538-542.
20. Fanelli M, Locopo N, Gattuso D, et al. Assessment of tumor vascularization: immunohistochemical and non-invasive methods. *Int J Biol Markers*, 1999;14:218-231.
21. Folkman J. *Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis.* *N Engl J Med*, 1995; 333:1757-1763.
22. Greene DR, Wheeler TM, Egawa S, Dunn JK, Scardino PT. A comparison of the morphological features of cancer arising in the transition zone and in the peripheral zone of the prostate. *J Urol*, 2001; 146: 1069-1076.
23. Haggstrom S, Bergh A, Damber JE. Vascular endothelial growth factor content in metastasizing and nonmetastasizing Dunning prostatic adenocarcinoma. *Prostate*, 2000; 45:42-50.
24. Höflmayer D et al (2020) High RSF1 protein expression is an independent prognostic feature in prostate cancer, *Acta Oncologica*, 59:3, 268-273, DOI: 10.1080/0284186X.2019.1686537.
25. Ingles SA, Ross RK, Yu MC, Irvine RA, La Pera G, Haile RW, Coetzee GA: Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. *J Natl Cancer Inst* 1997, 89: 166-170.
26. Ingles SA, Coetzee GA, Ross RK, Henderson BE, Kolonel LN, Crocitto L, Wang W, Haile RW: Association of prostate cancer with vitamin D receptor haplotypes in African-Americans. *Cancer Res* 1998, 58: 1620-1623.
27. Institut za javno zdravlje Srbije "Dr Milan Jovanović Batut": Incidencija i mortalitet od raka u Centralnoj Srbiji 2012, Registar za rak u Centralnoj Srbiji izveštaj br. 14 Beograd, 2014.
28. Jacob A. Burns, Adam B. Weiner, William J. Catalona, Eric V. Li, Edward M. Schaeffer, Stephen B. Hanauer, Scott Strong, James Burns, Maha H.A. Hussain, Shilajit D. Kundu. Inflammatory Bowel Disease and the Risk of Prostate Cancer. *European Urology*, 2018; DOI: 10.1016/j.eururo.2018.11.039.
29. Klein EA, Li J, Milinovich A, Schold JD, Sharifi N, Kattan MW, and Jehi L, Androgen Deprivation Therapy in Men with Prostate Cancer does not Affect Risk of Infection with SARS-CoV-2, *The Journal of Urology®* (2019), doi: 10.1097/JU.0000000000001338.
30. Kretschmer A, Wittekind C, Stief CG, Gratzke C. Neuroendocrine prostate cancer. *Urologe A*. 2015; 54(12): 1779-83.
31. Lau WK, Bergstralh EJ, Blute ML, Slezak JM, Zincke H. Radical prostatectomy for pathological Gleason 8 or greater prostate cancer: influence of concomitant pathological variables. *J Urol*, 2002; 167: 117-122.
32. Mahadevan V, Hart IR. Metastasis and angiogenesis. *Acta Oncol*, 1990; 29:97-102.
33. Maru N, Ohori M, Kattan MW, Scardino PT, Wheeler TM. Prognostic significance of the diameter of perineural invasion in radical prostatectomy specimens. *Hum Pathol*, 2001; 32: 828-833.
34. Marx et al. Upregulation of Phosphatase 1 Nuclear-Targeting Subunit (PNUTS) Is an Independent Predictor of Poor Prognosis in Prostate Cancer. *Hindawi Disease Markers Volume 2020, Article ID 7050146, 10 pages* <https://doi.org/10.1155/2020/7050146>.
35. Mehdi Kardoust Parizi, Takehiro Iwata, Shoji Kimura, Florian Janisch, Mohammad Abufaraj, Pierre I. Karakiewicz, Dmitry Enikeev, Leonid M. Rapoport, Georg Hutterer, and Shahrokh F. Shariat. Focal Neuroendocrine Differentiation of Conventional Prostate Adenocarcinoma as a Prognostic Factor after Radical Prostatectomy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2019 Mar; 20(6): 1374. Published online 2019 Mar 19. doi: 10.3390/ijms20061374.
36. Melnyk O, Zimmerman M, Kim KJ, et al. Neutralizing anti-vascular endothelial growth factor antibody inhibits further growth of established prostate cancer and metastases in a preclinical model. *J Urol*, 1999;161:960-963.
37. Mijović M, Vukićević D, Mitić N, Knežević M, Đerković B: Periacinarne pukotine u adenokarcinomu prostate, prostaticnoj intraepitelnoj neoplaziji i benignoj hiperplaziji prostate. *Praxis Medica* 2010; 38 (3-4), 1-7.

38. Mijović M, Vukićević D, Đerković B, Nedeljković V, Vitković L: Značaj periacinusnih pukotina kao pomoćnog dijagnostičkog kriterijuma u dijagnozi adenokarcinoma prostate Gleason score-a 7 (3+4) i Gleason score-a 7 (4+3) i njihov odnos prema parametrima od prediktivnog značaja. *Praxis Medica* 2014; 43 (4), 59-69.
39. Mijović Milica, Čorac Aleksandar, Smiljić Sonja, Savić Slađana, Mandić Predrag, Vitković Leonida, Leštarević Snežana, Janičijević Hudomal Snežana: Correlation of focal neuroendocrine differentiation in prostate cancer with parameters of predictive value. *Vojnosanit Pregl* 2019; 76(11): 1115-1126. <https://doi.org/10.2298/VSP170930019M>.
40. Mijović M, Vukićević D, Đerković B, Nedeljković V, Vitković L: Prognostički značaj Gleason score-a 7 (3+4) i Gleason score-a 7 (4+3) u adenokarcinomu prostate u odnosu na klinički stadijum, tkivni androgen status i stepen neuroendokrine diferencijacije. *Praxis Medica* 2014; 43 (1), 1-12.
41. Mijović M, Vukićević D, Đerković B, Savić S, Vitković L, Nedeljković V: Specifičnost i senzitivnost preoperativnih vrednosti ukupnog serumskog prostata specifičnog antigena u dijagnostici najčešćih patohistoloških promena prostate. *Praxis Medica*, 2017; 46 (1-2), 7-19.
42. National Cancer Research Institute. "High levels of two hormones in the blood raise prostate cancer risk." *ScienceDaily*. ScienceDaily, 31 October 2019. www.sciencedaily.com/releases/2019/10/191031204628.
43. Parker C, Gillissen S, Heidenreich A, Horwich A. ESMO Guidelines Committee. Cancer of the prostate: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015; 26 (5): 69-77.
44. Platz EA, Rimm EB, Willett WC, Kantoff PW, Giovannucci E: Racial variation in prostate cancer incidence and in hormonal system markers among male health professionals. *J Natl Cancer Inst* 2000, 92: 2009-2017.
45. Punglia RS, D'Amico AV, Catalona WJ. et al. Impact of age, benign prostate hyperplasia and cancer on PSA level. *Cancer*, 2006;106:1507-1513.
46. Qian Xiang, Zhiguo Zhu, Lianmin Luo, Jiamin Wang, Yangzhou Liu, Yihan Deng, Mingda Zhou, and Zhigang Zha. The Correlation between PSCA Expression and Neuroendocrine Differentiation in Prostate Cancer. *Hindawi BioMed Research International* Volume 2020, Article ID 5395312, 9 pages <https://doi.org/10.1155/2020/5395312>.
47. Rogatsch H, Hittmair A, Reissigl A, et al. Microvessel density in core biopsies of prostatic adenocarcinoma: a stage predictor? *J Pathol*. 1997;182:205-210.
48. Ross RK, Pike MC, Coetzee GA, Reichardt JK, Yu MC, Feigelson H, Stanczyk FZ, Kolonel LN, Henderson BE: Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility. *Cancer Res* 1998, 58: 4497-4504.
49. Rubin MA, Buyyounouski M, Bagiella E, et al. Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade, pathologic stage and clinical outcome. *Urology*, 1999;53:542-547.
50. Shibata A, Whittemore AS: Genetic predisposition to prostate cancer: possible explanations for ethnic differences in risk. *Prostate* 1997, 32: 65-72.
51. Smith-McCune K, Zhu Y-H, Hanahan D, Arbeit J. Cross-species Comparison of Angiogenesis during the Premalignant Stages of Squamous Carcinogenesis in the Human Cervix and K14-HPV16 Transgenic Mice. *Cancer Res*. 1997;57:1294-300.
52. Stamey TA, Johnstone IM, McNeal JE, Lu AY, Yemoto CM. Preoperative serum prostate specific antigen levels between 2 and 22 ng/ml correlate poorly with post-radical prostatectomy cancer morphology: prostate specific antigen cure rates appear constant between 2 and 9 ng/ml. *J Urol*, 2002; 167: 103-111.
53. Tamas EF, Epstein JI. Prognostic significance of Paneth cell-like neuroendocrine differentiation in adenocarcinoma of prostate. *Am J Surg Pathol*. 2006; 30: 980-985.
54. Tangen CM, Faulkner JR, Crawford ED. Ten-year survival in patients with metastatic prostate cancer. *Clin Prostate Cancer*, 2003;2:41-45
55. The National Comprehensive Cancer Network guidelines: Prostate cancer early detection. Version 2.2018. Available at: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate_detection.pdf.
56. Wang W, Epstein JI. Small cell carcinoma of the prostate. A morphologic and immunohistochemical study of 95 cases. *Am J Surg Pathol*. 2008; 32: 65-71.
57. Wikstrom P, Lissbrant IF, Stattin P, et al. Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer. *Prostate*, 2002;51:268-275.
58. Yamada Y, Nakamura K, Aoki S, Taki T, Naruse K, Matsubara H, et al. An immunohistochemical study of chromogranin A and human epidermal growth factor-2 expression using initial prostate biopsy specimens from patients with bone metastatic prostate cancer. *BJU Int*. 2007; 99: 189-95.
59. Yuan L, He Qun C, Min Feng C, Huai Zheng L, Yuan Qing D, Hui L, Xiong Bing Z and Lin Q: Neuroendocrine differentiation is involved in chemoresistance induced by EGF in prostate cancer cells. *Life Sciences* Volume 84, Issues 25-26, 19 June 2009, pages 882-887.