

# A prosztatatarák molekuláris- és klinikai prognosztikai faktorainak összevetése

Doktori értekezés

**Dr. Bánfi Gergely**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Konzulens: Prof. Dr. Nyirády Péter, DSc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Szűcs Ákos, Ph.D., egyetemi adjunktus  
Dr. Beöthe Tamás Zsolt, Ph.D., főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Kovalszky Ilona, DSc., egyetemi tanár  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Ágoston Péter, Ph.D., részlegvezető főorvos  
Dr. Várbíró Szabolcs, Ph.D., egyetemi docens

Budapest  
2017.

# TARTALOMJEGYZÉK

<b>1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE</b>	3
<b>2. BEVEZETÉS (IRODALMI HÁTTÉR)</b>	5
2. 1. A prosztatarák incidenciája	5
2. 2. A prosztatakarcinóma etiológiája	5
2. 3. A prosztatarák stádiumbeosztása	9
2. 4. A prosztatarák terápiája	10
2. 5. A prosztatarák klinikai gyakorlatban alkalmazott kórjóslati tényezői	26
2. 5. 1. Prosztataszpecifikus antigén	30
2. 5. 2. Gleason-pontszám – a klinikai prognózis kiindulópontja	35
2. 6. A prosztatakarcinóma molekuláris prognosztikai faktorai	39
2. 6. 1. p63	41
2. 6. 2. Androgén-receptor	42
2. 6. 3. p27 és p21	45
2. 6. 4. p16	45
2. 6. 5. $\beta$ -catenin	46
2. 6. 6. HIF-1	47
2. 6. 7. Ki67	48
2. 6. 8. MCM-2	48
2. 6. 9. Geminin	49
2. 6. 10. MGMT	50
<b>3. CÉLKITŰZÉSEK</b>	51
<b>4. MÓDSZEREK</b>	53
<b>5. EREDMÉNYEK</b>	56
<b>6. MEGBESZÉLÉS</b>	63
<b>7. KÖVETKEZTETÉSEK</b>	68
<b>8. ÖSSZEFOGLALÁS</b>	70
<b>9. SUMMARY</b>	71
<b>10. IRODALOMJEGYZÉK</b>	72
<b>11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE</b>	94

11. 1. Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények	94
11. 2. Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – közlemények	94
<b>12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</b>	98

# 1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AR - androgén receptor

AS - androgén-szenzitív

ASCENT - Androgen Independent Prostate Cancer Study of Calcitriol Enhancing Taxotere

BPH - benignus prosztata hiperplázia

BSA - bovin szérum albumin

CALGB - Cancer And Leukemia Group B

CR - kasztráció-rezisztens

DAB - diamino-benzidin

DHT - dihidro-tesztoszteron

DNS – dezoxi-ribo-nukleinsav

EAU - European Association of Urology

EDTA - etilén-diamin-tetraecetsav

EZH2 - Enhancer of zeste homolog 2

FSH - folliculus-stimuláló hormon

GnRH - gonadotrop-releasing hormon

HIF - hypoxia indukálta faktor

ISUP - International Society of Urological Pathology

LH - luteinizáló hormon

MCM - mini chromosome maintenance

MGMT - O6-metilguanin-DNS-metiltranszferáz

MR - mágneses rezonancia

mRNS - messenger ribo-nukleinsav

PAK - p21-aktiválta kináz

PC - prosztata karcinóma

PSA - prosztataspecifikus antigén

RP - radikális prosztatektómia

RV - rektális digitális vizsgálat

SPARC - Satraplatin and Prednisone Against Refractory Cancer

SWOG - Southwest Oncology Group

TAB - teljes androgén bloká

TBS - tris buffered saline

TNM – tumor – nyirokcsomó - metasztázis

TRUH - transzrektális ultrahang

VEGF - Vascular endothelial growth factor

## 2. BEVEZETÉS (IRODALMI HÁTTÉR)

### 2. 1. A prosztatatarák incidenciája

A prosztatatarák (PC) a férfiakban leggyakrabban kórismézett rosszindulatú daganat. [1] Az Amerikai Egyesült Államokban évente kb. 185000, Magyarországon 6000 férfiban fedezik fel, az új esetek előfordulása mindkét országban a lakosság 0,6 ezrelékére tehető. A kardiovaszkuláris halálozás csökkenésével és az átlagéletkor emelkedésével, a diagnosztikai és terápiás eszköztár fejlődése dacára a második leggyakoribb daganatos halálok maradt. Az életkor előrehaladtával egyre nagyobb incidenciával fordul elő. Egy 50 éves férfi esélye látens (vagyis boncolás során véletlenül igazolódó, nem halálokot jelentő) prosztatatarákra 40%, ugyanakkor 9,5% a klinikailag megjelenő PC esélye és 2,9% valószínűséggel PC-ben fog meghalni. Nemzetközi epidemiológiai tanulmányok szerint a PC földrajzi megoszlása is jellegzetes: a skandináv országokban magas az incidenciája, míg Japánban alig fordul elő. Magyarország a két véglet között köztes helyet foglal el, de Közép-Európában hazánk vezet a betegség incidenciája és mortalitása tekintetében. [2]

Noha a PC klinikai előfordulása a világon igen eltérő, a látens és az incidentális rák (együtt ún. preklínikai rák) incidenciája hasonló. A boncolási leletekben észlelt PC előfordulása hasonlóképpen kiegyenlítődik az életkor növekedésével: a 80 év feletti férfiaknál a patológiai adatok a tumor 70-90%-os jelenlétét írják le, tekintet nélkül a földrajzi eredetre: vagyis a betegség prevalenciája világszerte hasonló.

### 2. 2. A prosztatatakarcinóma etiológiája

A prosztatatarák etiológiája a legtöbb tanulmány szerint multifaktoriális, és abban minden szerző egyetért, hogy ez a kérdés további tisztázásra szorul; ezért manapság is intenzív kutatás tárgya. Környezeti- és genetikai tényezők szerepe egyaránt felvetődött a kórforma kialakulásával kapcsolatban. A nemzetközi epidemiológiai kutatások megállapították, hogy azon bevándorlók, akik alacsony tumorgyakoriságú területről kerülnek olyan környezetbe, ahol a betegség gyakoribb, ezen tumorféleségben közepes gyakorisággal betegszenek meg. Az életkorhoz kötött halálozási arány a japán férfiak körében 3,5%, az Amerikai Egyesült Államokban ugyanez a mutató 15,7%. Azoknál a

bevándorolt japán férfiaknál, akik az Egyesült Államokban telepedtek le, magasabb halálozási arány mutatható ki, értéke megközelíti az amerikai férfiaknál regisztrált adatokat.

A világszerte gyűjtött boncolási adatokból kiderül, hogy néhány ritka esetben a prosztatatarákot először a 30 év körüliek szövettani anyagán mutatták ki, majd az átlagéletkor növekedésével a betegség előfordulása egyre gyakoribb. [3] A nemzeti eredettől függetlenül a 80-90 éves férfiaknál a boncolás szövettanilag 70-90%-ban daganatot mutat ki, bár ezen elváltozások többsége mikroszkópikus méretű és ezért legtöbbször klinikailag felismerhetetlen marad. Az életkor előrehaladtával az újonnan diagnosztizált PC előfordulása (incidenciája) és a kórforma gyakorisága (prevalenciája) is szinte exponenciálisan növekszik. A 65 év alattiak esetén az incidencia 20,5/100000 fő, 65 éves kor felett ez a szám eléri a 0,819%-ot, a 75 évnél idősebbeknél pedig már 1%-ban diagnosztizálnak prosztatatarákot. A korszpecifikus, PC okozta halálozás gyakorisága (letalitás) az elmúlt 30 évben folyamatosan emelkedett, a betegség jelenleg az 50 éves korú férfiak 2,9%-ában lesz a halál oka. A PC az életkorról minden más malignus kórképben tapasztaltaknál szorosabb összefüggést mutat: az idősebbek számának növekedésével, a várható átlagéletkor meghosszabbodásával feltételezhető, hogy a kórforma egyre nagyobb problémát jelent majd a jövőben.

Vizsgálatok bizonyították, hogy a PC előfordulása halmozódik a betegségben szenvedő férfiak rokonságában, tehát a kórformának örökletes összetevője is van. [4] A dűlmirigy rákja esetén az első fokú rokonság 2,4-szeres kockázatot jelent. [5] Azoknál a férfiaknál, akiknek apja vagy fiútestvére prosztatatarákban szenvedett, 15%-ban diagnosztizálták a betegséget, negatív családi anamnézis esetén viszont csak 8%-ban. A rák kockázata a megbetegedett rokonok számával arányosan növekszik.

Nemzetközi epidemiológiai vizsgálatok igazolták, hogy a PC előfordulása és mortalitása legalacsonyabb a távol-keleten élő férfiak, magas a skandináv országokban élők, és legmagasabb az Amerikai Egyesült Államokban élő fekete férfiak körében (az amerikai feketebőrű férfiak között a PC a leggyakoribb malignus kórforma). A különbségeért genetikai és környezeti okok egyaránt felelősnek látszanak. Noha a környezeti tényezők szerepét bizonyítják a bevándoroltak vizsgálatai, e betegségre vonatkoztatva az amerikai feketebőrűek incidenciája 50%-kal, mortalitása 85%-kal magasabb, mint az azonos földrajzi környezetben élő fehérbőrűeké. [6, 7] Miután a

preklinikai rák prevalenciája a különböző etnikai csoportokban hasonló, úgy tűnik, bizonyos csoportok fogékonyabbak az esetleges kiváltó tényezőkre, talán jobban ki vannak téve a különböző karcinogének káros hatásainak.

Egyes tanulmányok szerint a PC is azon daganatok közé tartozik, amelyek a szociális helyzet romlásának arányában halmozottan fordulnak elő. [8] Az egészségügyi ellátáshoz való hozzájutás eltérő lehetőségei, az elérhető ellátás típusában rejlő különbségek és az egészség kérdéséhez való viszonyulás adott társadalmi rétegre jellemző eltérései azonban nehezen vizsgálhatóvá teszik ezt a kérdést. Több tanulmány vizsgálja a PC összefüggéseit a korai nemi étellel, a szexuális partnerek számával, a nemi betegségekkel, a gyermekek számával kifejezhető termékenységgel, vagy a házasságnőtlenység helyzetével, de ellentmondásosak az eredmények. [9] Feltételezik, hogy a bakteriális prosztatitisz a PC magasabb kockázatát jelenti. A daganatos sejtekből számos vírusfajtát izoláltak: humán papilloma-vírust, citomegalo-vírust, herpesz-vírust, de ezek kóroki szerepét ezideig nem sikerült igazolni. A téma jelentőségét az adja, hogy e vírusok nagy populációkban vannak jelen, és lehetséges, hogy a különböző földrajzi területeken eltérő altípusok fordulnak elő, eltérő karcinogén tulajdonságokkal: ez okozhatja a PC epidemiológiájában fentebb vázolt földrajzi eltéréseket.

Mára közismert tényé vált, hogy a PC-k többsége hormondependens: androgénfüggő. A betegség nem alakul ki azokban, akiket a nemi érés előtt kasztráltak. Az intenzív kutatások ellenére sem sikerült azonban a szteroid-anyagcsere olyan rendellenességét kimutatni, amely a daganatos folyamattal kapcsolatban lenne. Más hormonok, mint az ösztrogén és a prolaktin, ugyancsak hatással vannak a dűlmirigy növekedésére, közvetlenül és indirekt módon (negatív feed-back gátlás révén) egyaránt. A májcirózisos betegekben a PC prevalenciája alacsonyabb, ami a keringő ösztrogének magasabb koncentrációjával, és a tesztoszteron-szint csökkenésével függhet össze. [10] A hormonhatások tisztázására számos vizsgálatban hasonlították össze a prosztatákban szenvedő férfiak szérum tesztoszteron-szintjét hasonló korú kontrollcsoportéval, de egyértelmű ok-okozati következtetés levonására alkalmas adatok nem születtek.

Szintúgy tisztázatlan, hogyan viszonyul a plazma androgénszintje a dűlmirigy szövetében mért mennyiségéhez: egyesek szerint a dűlmirigyi tesztoszteron-szint magasabb, az 5-alfa-reduktáz enzim hatására belőle képződő aktív metabolit, a dihidrotesztoszteron (DHT) szintje pedig alacsonyabb PC esetén, mint benignus prosztatata



hiperpláziában (BPH), [11] mások ennek a fordítottját kapták. [12] Viszont a fenti felmérések egyöntetűen megállapították, hogy a szérumszintű tesztoszteron mindkét fenti vizsgálati csoportban ugyanakkora. Több tanulmány szerint a nemi hormont kötő globulin szintje és a tesztoszteron-DHT átalakulás aránya magasabb a prosztatatarákos betegekben, mint a kontrollcsoport tagjaiban. [13]

Sok vizsgálat történt a keleti, fehér- és feketebőrű népcsoportok között tapasztalható PC-prevalencia különbségei esetleges hormonális okainak feltárása érdekében. Az Egyesült Államokban élő feketebőrűek korszpecifikus szérumszintű tesztoszteron-szintje átlag 15%-kal magasabb, mint a hasonló fehérbőrűeké. Feltételezések szerint ez (is) magyarázhatja az előzőekben említett tapasztalati ténytet, mely szerint a sötétebőrűekben a PC kialakulásának a kockázata emelkedett. [14] Ezzel szemben a japán férfiakban alacsonyabb nemi hormont kötő globulin-értéket, alacsonyabb 5- $\alpha$ -reduktáz aktivitást és következményes kisebb DHT-szintet találtak, mint az amerikai férfiakban. [15] Az Afrikában élő egészséges színesbőrűek vizelet tesztoszteron-értékeit alacsonyabbnak találták, mint az egyesült államokbeli feketebőrűek esetében, ez tovább erősíti a környezeti karcinogének elméletét.

A különböző rosszindulatú folyamatok kialakulásában régóta számolni kell az étrendi tényezőkkel. Az emésztett táplálék karcinogénné alakulhat, a diéta megváltoztathatja a hormonális egyensúlyt, ugyanakkor a teljes értékű étrend (megfelelő vitaminokkal, ásványi anyagokkal, nyomelemekkel, stb.) megvédhet bizonyos daganatok kialakulásától. Az egyes etnikumok, szociálisan eltérő csoportok, és a különböző földrajzi területek eltérő diétás szokásai magyarázatot adhatnak a PC epidemiológiájában mutatkozó különbségek egy részére.

A különféle ételek is befolyásolják a vér androgénszintjét. A vegetáriánus és rostos táplálékon élő férfiak szérumszintű tesztoszteron-szintje alacsonyabb. Másfelől, az elhízás szintén mérsékli a tesztoszteron-szintet és emeli a szérumszintű ösztrogén-koncentrációját is. A nyugati étrenden élő afrikai férfiakban a vizelet androgén- és ösztrogén-szintjei magasabbnak bizonyultak, mint a hagyományos módon táplálkozóké. A japánoknál az utóbbi években tapasztalható PC-incidencia emelkedését étrendjük "westernizálódásával" hozták összefüggésbe. A mell- és vastagbélrákhoz hasonlóan, a PC általi halálzásról készült nemzetközi tanulmány is szoros kapcsolatot mutatott az össz-zsírfogyasztással. Összefüggés látszik a telített zsírsavakban gazdag ételek túlzott

fogyasztása és a PC kialakulása között. Az A-vitaminnak viszont kemoprotektív szerepet tulajdonítanak állatkísérletes modellek alapján a betegség keletkezésében.

## **2. 3. A prosztatatarák stádiumbeosztása**

### **A TNM-stádiumbeosztás (EAU, 2015) [16]**

T: primer tumor

Tx – a primer tumor nem ítéhető meg

T0 – a primer tumor nem mutatható ki

T1 – klinikailag néma tumor (preklinikai rák: nem tapintható és képalkotóval sem ábrázolható)

T1a: incidentális karcinóma, a reszekátum nem több, mint 5%-ában

T1b: incidentális karcinóma, a reszekátum több, mint 5%-ában

T1c: túbiopszia igazolja a tumor jelenlétét (például PSA-szint emelkedés miatt végezve)

T2 – a tumor a prosztatata határain belüli

T2a: a tumor csak az egyik lebeny nem több, mint 50%-ára terjed ki

T2b: a tumor az egyik lebeny 50%-nál nagyobb részét érinti

T2c: mindkét prosztatalebenyt beszűri a daganat

T3 – a tumor áttöri a prosztatata tokját

T3a: extrakapszularis terjedés (egy- vagy mindkét lebenyben), a húgyhólyag-nyak mikroszkópikus beszűrésével)

T3b: a tumor beszűri az ondóhólyago(ka)t

T4 – a tumor a környezetéhez rögzült vagy az ondóhólyag(ok)on kívül beszűri a környező szöveteket/szerveket (külső spinctert, rektumot, levator-izomzatot vagy a medencefalat)

N: regionális nyirokcsomók (a medence nyirokcsomói az artéria iliaca oszlásától disztálisan)

Nx - a regionális nyirokcsomók nem ítéhetőek meg

N0 - regionális nyirokcsomó-áttét nem mutatható ki

N1 - regionális nyirokcsomó-áttét kimutatható (az oldaltság nem befolyásoló tényező)

M: távoli metasztázis

Mx - metasztázis nem ítéhető meg

M0 - nincs távoli metasztázis

M1 - távoli metasztázis további meghatározás nélkül

M1a: metasztázis a nem közeli nyirokcsomókban

M1b: metasztázis a csontokban

M1c: metasztázis más lokalizáció(k)ban

(Többgócú áttét esetén a daganat a legmagasabb M-stádiumba sorolandó.)

## **2. 4. A prosztatatarák terápiaja**

A kezelés módját és a prognózist a betegség stádiuma határozza meg. A terápiában máig vannak élesen vitatott kérdések. A PC az emberi szervezet egyetlen olyan daganatfélése, amely az életkor előrehaladtával egyre gyakoribbá válik, és egy elméleti korhatárt követően előfordulásával 100%-os bizonyossággal számolhatunk. [17] Ez az életkor (kb. 90 év) ma még messze meghaladja a férfiak születéskor várható átlagéletkorát. Ugyanakkor az 50 év feletti tünetmentes férfiak 30%-ának dűlmirigye mikroszkópikus kiterjedésű rákot tartalmaz. [18] Azt is tudni kell azonban, hogy a korai-, illetve halálos PC aránya kb. 40:1. Felvetődik tehát a kérdés, hogy a korai-, vagy incidentális PC-t milyen módszerrel, agresszivitással, és egyáltalán kell-e kezelni: van-e jogunk a daganatellenes gyógykezelés “áldozataivá” tennünk olyan férfiakat, akiknek korai daganata – mai ismereteink szerint – mintegy 10 évig kezelés nélkül is teljesen tünetmentes maradna? [19] Több vizsgálat utal arra is, hogy az áttétes, de tünetmentes betegeken csak kiterjedt folyamat esetén várható előny a szisztémás kezelés korai bevezetésétől.

A daganat biológiai aktivitása a különböző stádiumokban alig prognosztizálható, a lokális progresszióval, közeli- és távoli áttét jelentkezésével kifejezhető biológiai agresszivitás függ a beteg életkorától, a tumor nagyságától és Gleason-pontszámától. A tumorvolumen nagyságának növekedésének arányában növekszik a differenciálatlan,

magasabb Gleason-pontszámú sejtek részesedése. Egy kezeletlen PC-s betegekkel foglalkozó tanulmány megállapította, hogy a növekedési görbe exponenciálisan alakul. A szervhatáron belüli daganatok tömege viszont csak három-négy év alatt duplázódik meg. [20] Abból kiindulva, hogy a prosztatára korlátozódó karcinoma növekedése T1-2, N0, M0 stádiumban igen lassú, felvetődik a kérdés, hogy kell-e egyáltalán kezelni ezeket?

Nemzetközi vizsgálatok szerint lokalizált tumor esetén a PC okozta halálozási arány nagyon alacsony, és ugyanilyen lassú a lokális és szisztémás progresszió is. Tekintettel viszont arra, hogy az életkor erősen befolyásolja a PC morbiditását és mortalitását, szorgalmazni kell a korai felismerést és kezelést a 40-60 éves korcsoportban. (A 70 év felettiéknél magasabb a valószínűsége annak, hogy a vizsgált személy ne valamilyen prosztatata eredetű betegségben haljon meg.)

A betegségnek három alapvető kezelési formája ismert: az úgynevezett "surveillance", kuratív kezelés (radikális prosztatatektómia vagy radikális irradiáció), palliatív kezelés (hormonkezelés vagy sebészi kasztráció és végül a kemoterápia).

A várakozás vagy megfigyelés (surveillance) valós terápiás alternatíva lehet gondosan válogatott betegek esetében. Elsősorban alacsony grádusú PC esetén alkalmazható, ha a beteg életkilátása 10 évnél kevesebb, vagy ha jelentős kísérőbetegségei vannak. A surveillance során a PC főleg lokálisan nő (7 év alatt 84%-ban), és tíz év elteltével a radikális prosztatatektómiával és sugárkezeléssel összehasonlítva nem találtak különbséget a túlélésben, áttétképződésben, csak a helyi progresszióban.

Azokban a betegekben, akikben a tumor a szerv határain belül maradt és általános egészségi állapotuk miatt legalább 10 éves túlélési időre számíthatunk, kuratív célkitűzéssel radikális prosztatatektómiát kell végezni. A műtét során a teljes prosztatata, az ondóhólyagok döntő része és 10 feletti PSA esetén a kismedencei nyirokcsomók is eltávolításra kerülnek. A részletes anatómiai vizsgálatoknak köszönhetően ma már akár robottal végzett ideg-, és szövetkímélő műtétet ajánlhatnak fel a betegnek, ami a várható erektilis diszfunkción kívül (és ez is főleg a tumor kiterjedése miatt idegkíméléssel nem végezhető műtétéknél) csak elhanyagolható hosszútávú morbiditással jár. A plexus Santorini és a neurovaszkuláris köteg anatómiájának és élettani funkciójának a potenciában betöltött szerepének tisztázása sokban hozzájárult a műtét mai funkciókímélő módszerének kifejlesztéséhez. A medencefenéki izomzat szerepének feltárása a kontinencia megtartásában segített az apikális disszekció és a húgyhólyag-húgycső anasztomózis

készítése technikájának kidolgozásában. A merevedés visszatérése három tényezőtől függ: úgymint a beteg életkorától (választóvonal a 70. év), a daganat stádiumától és a sebési technikától. Fiatal betegek 74%-ában lehet a merevedési képesség visszatéréssel kétoldali, 50%-ában egyoldali idegmegtartás esetén számolni. [21] A műtét mortalitása 1% alatti, fő intraoperatív szövődménye a jelentős vérvesztés lehet (ez átlagban 500-1000 ml közötti). A késői szövődmények közé tartozik még a strictura kialakulása (6,2%), ill. az esetek 2-12%-ában vizelet inkontinencia maradhat vissza (valószínűsége a beteg korával emelkedik).

A műtéthez tartozik az eltávolított szövet patológiai feldolgozása, különös tekintettel a metszési szélek daganatmentességére, a prosztatákba történő betérésre, illetőleg más szervbe penetrációra. Ha ezek közül bármelyik fennáll, felvetődik a kiegészítő terápiás eljárások alkalmazása. A tumor stádiuma lényegesen befolyásolja a metszési szélek pozitivitását: T1 stádiumban a metszési szélek 18%-ában található pozitívítás, T2 stádiumban ez az érték már 57%. [22] Nyirokcsomó-áttét mellett a progresszióig eltelt idő általában csak 20 hónap. A pozitív reszekciós vonal (leggyakrabban az apexnél, hólyagnyaknál) vagy az ondóhólyag-érintettség előfordulása a daganat stádiumától függ és a későbbi lokális recidíva lehetőségét adva, a prognózist 50%-kal rontja. [23] A műtét után maradék daganat vagy recidíva esetén magas marad a posztoperatív PSA-szint, aminek egyébként a műtétet követő hatodik-nyolcadik hétre 0,1-0,5 ng/ml alá kell süllyednie. A maradék prosztataszövet (ezt a műtét utáni PSA emelkedett tartományban maradó értéke mutatja) utólagos semlegesítésére alkalmazott irradiáció csak a vizsgált esetek 60%-ában hatékony. [24] A műtétet követő lokális recidíva sugárkezelése ugyanakkor a helyi kiújulás kialakulásának késleltetése mellett a túlélést is javítja. Adjuváns eljárásként a szerzők korai kezelést javasolnak, nyirokcsomóáttét esetén radioterápia és androgén-megvonás együttesét, daganatos reszekciós vonal esetén pedig sugárkezelést, amellyel a progresszió lassítása mellett a túlélés is javítható.

A kuratív kezelés másik lehetősége a sugárkezelés. Többféle módozatát alkalmazzák: történhet perkután, vagy intersticiális besugárzás formájában. A szövettani szerkezet tekintetében a prosztatatarakok többsége adenokarcinóma, ami miatt a sugárbiológiai helyzet kedvezőtlen. Negatívan befolyásolja a sugárérzékenységet a betegek rendszerint idős kora, és az ezzel gyakran együttjáró keringési, vérellátási zavar, valamint a

másodlagos fertőzés; ezen tényezők mind csökkentik a sugárterápia hatásosságát. A sugárfizikai helyzet ugyanakkor kedvező, mert a szerv a test középvonalában helyezkedik el és a gát felől aránylag felszínesen fekszik. Megvan a lehetősége tehát annak, hogy a sugártervezés után a megfelelő gócdózist juttassuk a céltérfogatba, ami a tumort és az ún. biztonsági zónát jelenti. Az irradiáció technikáját a tumor kiterjedése, a választandó céltérfogat határozza meg. A prosztatata sugárkezelésénél a mirigy és az ondóhólyagok körüli 0,5-0,8 cm-es biztonsági zónát kell céltérfogatként meghatározni és homogénean besugarazni. [25]

A PC irradiációja történhet brachy-, ill. teleterápiával, vagy a kettő kombinációjával. A brachyterápiával csak kis kiterjedésű PC kezelhető, mivel az alkalmazott sugárforrástól függetlenül a meredek dózisesés következtében a környező nyirokrégiók aluldozírozottak maradnak. Manapság a mesterséges radionuklidokkal végzett intersticiális kezelések terjedtek el, melyeket  $^{125}\text{I}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{192}\text{Ir}$  izotópokkal végeznek. A magas dózisu intersticiális sugárterápiával kedvező tapasztalatokat szereztek, a szórt sugárhatás csekély volt. Transzrektális ultrahang (TRUH)-kontrollal már nagyon pontos seed-implantáció végezhető el. [26] Legújabban a TRUH segítségével végzett besugárzástervezést követő ultrahang-vezérelt  $^{192}\text{Ir}$ -afterloading tüzdelés terjedt el. Ezen terápia jó eredményeket hozott a mellékhatások egyidejű csökkenésével. [27] Bármilyen besugárzási technika mellett is döntenek, minden mezőt naponta kell sugarazni, mivel csak így érhető el a naponkénti homogén dóziseloszlás. A leadott dózis 76-78 Gy/8 hét abban az esetben, ha kuratív terápiát végzünk. A posztoperatív besugárzásnál 66 Gy/6,5 hét összdózist szolgáltatunk ki. A mirigy és a nyirokrégiók együttes irradiációjánál box-technikával 40-50 Gy/4-5 hét össz-gócdózist adunk, melyet ezután 15-21 Gy össz-gócdózisu boost-technikával egészítünk ki tele-, vagy brachyterápia formájában.

A besugárzás előtti neoadjuváns és a posztirradiációs adjuváns hormonkezelés klinikailag előnyösnek tűnik. A besugározandó térfogat pontos meghatározása és az adekvát besugárzás-tervezés mind a brachy-, mind a teleterápiánál a várható gyógyulás szempontjából döntő jelentőségű. A tumor kiterjedésének meghatározására a legelfogadottabb a kismedencei mágneses rezonancia (MR)-vizsgálat.

A modern háromdimenziós sugárkezelés-tervezés és a gyorsító sugárforrások birtokában a mellékhatások és szövődmények csökkentek, ezért kevésbé invazív, mint a sebészi megoldás. Mellékhatásait reverzibilis és irreverzibilis, valamint akut és krónikus

elváltozásokra osztják. Szövődményei közül akutan a hasmenésre való hajlam, diszúria, radiációs proktítisz, enterítisz, cisztítisz a betegek 50%-ánál jelentkezik. [28] A késői (általában irreverzibilis) komplikációk 17%-ban jellemzőek, ezek: húgycsőszűkület, krónikus húgyhólyag-gyulladás, vékonybél-szűkület és -gyulladás. A szövődmények gyakoriságát csökkenteni lehet a besugárzási időtartam széthúzásával és a dózis frakcionálásával. Az inkontinencia csak 5%-ban fordul elő, ugyanakkor a húgyhólyag és a rektum sugárkárosodásával (ún. radiációs cisztítisz és -proktítisz) 10-15%-ban kell számolni. Sugár-dermatítisz szintűgy 10% körül fordul elő, a maradandó erektilis diszfunkció pedig 30-50%. [29]

Egy kutatás eredményei szerint a prosztatata lokális irradiációja, ill. a radikális prosztatektómia után csaknem azonos a PSA-duplikálódási idő: sorrendben 11,1 és 10,2 hónap. Ezen adatok a két terápiás irányzat közel azonos hatékonyságára utalnak: a besugárzás tíz éves túlélési eredményei közel azonosak a radikális prosztatektómiáéval, az utóbbi túlélési előnye 15 évvel később jelentkezik. [30] Az Uro-Oncology Research Group vizsgálata szerint a relapszus gyakorisága az irradiációnál 40%, a radikális prosztatektómiánál 10%. A Veterans Administration Cooperative Urological Research Group felmérése szerint az első esetben 60 hónap, a másodikban 80 hónap a kiújulásig átlagban eltelt idő. A sugárkezelést követően már egy évvel gyakoribb a lokálrecidíva és ilyenkor 70%-ban biztos a progresszió. Ugyanakkor progressziós következtetések levonására alkalmas poszt-irradiációs biopszia 2,5-3 évvel a kezelés után célszerű. A progresszió diagnózisában az emelkedett PSA-érték a döntő. Sikeres irradiációt követően a PSA-nak 1 ng/ml alá kell süllyedni, akár 2-3 év alatt. A maximális elfogadható érték 2 ng/ml, ugyanakkor tudni kell, hogy a besugárzást követően lassabb ütemben és kevésbé csökken a PSA-szint, mint a radikális prosztatektómiát követően. Az emelkedő PSA-szint lokál recidíva jele, melynek terápiája salvage radioterápia vagy hormonkezelés, ami csak palliatív megoldás.

A palliatív kezelési formák alapja az androgén hormonok megvonása, és bár ezt különböző módon érik el (sebészi vagy farmakológiai módszerrel), eredményeik alapján megállapítható, hogy túlélési előnye egyik módszernek sincs a másikkal szemben. Az androgén-depriváció a palliatív módszer fő formája. Az androgének a prosztatata normális és degenerálódott sejtjeiben a DNS-szintézist segítik elő, [31] ennek alapján a prosztatarák sejtjei hormonhatás szempontjából három csoportra oszthatók: hormondependens sejtek (a

kezelésre apoptózissal elpusztulnak), a hormonszenzitív (kezelésre osztódásukat felfüggesztik), és hormonindependens (a kezelésre rezisztensek, túlélnek) sejtek csoportjára. Az előrehaladott stádiumban (T3-4) diagnosztizált PC-k háromnegyede a hormonkezelésre remisszióba kerül, s a betegek még évekig élnek. Az endokrin kezelés lényege az androgén-megvonás, amely különböző támadáspontú gyógyszerekkel vagy sebészi kasztrációval (lásd később) érhető el. A kezelés hatására reagáló esetben a plazma-tesztoszteron egy hónap alatt kasztrációs szintre, a PSA mérhetetlenül alacsony szintre csökken. Döntő mellékhatásuk az impotencia, ami szinte 100%-ban bekövetkezik. Eddig egyetlen tanulmány sem igazolta egyértelműen, hogy valamelyik hormonkezelés előnyösebb lenne a kasztrációval szemben. Az androgén-depriváció módszerének megválasztása ezért függ a beteg egyéni adottságaitól, fogadókészségétől és a költségektől. Az egyes gyógyszerek csak mellékhatásaikban, adagolási viszonyaikban és áraikban különböznek.

Az ösztrogének (pl. a dietil-stilbösztrol) megakadályozzák a gonadotróp hormonok (follikulus stimuláló hormon (FSH), luteinizáló hormon (LH)) releasing hormonjának (gonadotróp releasing hormon (GnRH)) felszabadulását a hipotalamuszból. Ezáltal meggátolják az FSH, LH elválasztását a hipofízis elülső lebenyéből. Élettanilag az LH a herei Leydig-sejtekre hatva az androgéntermelést serkenti, így gátlásával visszaszorul a here tesztoszterontermelését serkentő hatás, ami a kezelés szükségszerű mellékhatásához: impotenciához vezet. Az FSH a Sertoli-féle dajkasejtekre hatva a spermiogenezis fenntartója. Ezért (is) mellékhatása a kezelésnek a sterilitás kialakulása, viszont a mellékhatásként kialakuló hóhullámok tekintetében az ösztrogének kedvezőbbek a lentiéknél. Az imént idézett vizsgálat szerint az ösztrogénnel végzett kezelés súlyos kardiovaszkuláris szövődeményekkel járhat, ezért a gyakorlatban napjainkra visszaszorult. [32]

A decapeptid nagyságú GnRH aminosav-sorrendjének tisztázása lehetővé tette olyan analógok szintézisét, amelyek gátolják a gonadotróp hormonok kiáramlását. A GnRH-analógok (pl. a leuprorelin, gozerelin, triptorelin, buzerelin) kezdetben fokozzák, majd két hét elteltével negatív feed-back hatással (a hipofízis GnRH-receptorai száma csökkenése miatt) gátolják az FSH és LH kiáramlását a hipofízis elülső lebenyéből, vagyis az ösztrogénhez hasonló hatást váltanak ki. A kezelés első két hetében jelentős LH emelkedés jöhet létre ("flare-up phenomén"). Emiatt célszerű ezen idő alatt anti-androgén



kezelést is végezni. A GnRH-analógok éppolyan hatékonyan váltják ki a daganat regresszióját, mint az ösztrogén-származékok, mellékhatásaik morbiditása pedig jóval csekélyebb. Hőhullámok ugyan gyakrabban keletkeznek a szer hatására, de a kardiális-, keringési- és emésztőrendszeri szövődmények, valamint a fájdalmas gynecomastia sokkal ritkább. A GnRH-analógok alternatív kezelési módot nyújtanak azon betegek számára, akik anamnézisében kardiovaszkuláris vagy tromboembóliás megbetegedés szerepel, illetve akik elutasítják a sebészi kasztrációt.

Alternatív lehetőségként a tesztoszteron többségét (95%-át) termelő herék kasztrációval eltávolíthatók, illetve a szteroidszintézis különböző útjait gátló gyógyszerekkel, pl. ketokonazollal vagy aminoglutetimiddel a mellékvesekéreg 5%-nyi tesztoszterontermelését is megszüntető hatás érhető el, viszont hepatotoxicitásuk miatt ezeket a farmakonokat csak az utolsók között alkalmazzák. A mellékvesekéreg jelentőségét fokozza, hogy a prosztata aktívan képes felhalmozni az innen a keringésbe kerülő androszténdiont, és belőle lokálisan a tumornövekedés fenntartásához elegendő dihidro-tesztoszteron keletkezhet. A prosztata sejtjeiben a tesztoszteront az 5-alfa-reduktáz enzim dihidro-tesztoszteronná (DHT) alakítja, amely citoplazmatikus receptorához kapcsolódása után fehérjeszintézist, majd daganatsejt-szaporodást indukál. Az anti-androgének (pl. a flutamid, ciproteron-acetát, és bizonyos progeszteronszármazékok) kompetitív módon megakadályozzák a DHT kötődését az androgén receptorhoz (AR). Két típusuk a szteroidális és a nem szteroidális anti-androgének (másodikkra példa a bikalutamid), utóbbiaknak nincsenek szteroidhormon-szerű hatásai, azaz tiszta anti-androgéneknek tekinthetők. A szteroid anti-androgének a kipirulási rohamokat csökkentik elsődlegesen, ugyanakkor a trombembóliás hajlamot és a gynecomastia kialakulását gyakrabban okozzák. A nem szteroidális anti-androgének (pl. flutamid, nilutamid), a potenciát 70%-ban megkímélik, ugyanis a hipotalamusz és hipofízis androgén-receptorait is gátolják, emiatt a GnRH és FSH/LH kiáramlása a fenti szervekből szabályozás nélkül folyamatos lesz. [33] Ez emelkedő tesztoszteron-szintet eredményez, amelynek előnyös következménye a beteg számára, hogy potenciája megmarad. A magas tesztoszteronszint azonban áttörheti a prosztata androgénblokádját ("escape-phenomen"), ezáltal a PC terjedését tovább serkentheti. A kezdeti magas tesztoszteronszint azonban fél éven belül újra normalizálódik, így az "escape phenomen" klinikailag nem releváns. [34] Ugyanakkor mellékhatásai (májkárosítás, hasmenés) súlyosabbak, mint a ciproteron-acetátnak.

Az androgének mellett számos tumor-szupresszor és sejtproliferációs promóter génnel szoros interakcióban vannak. [35, 36, 37] Ez az interakció lehet bizonyos gének up-regulációja vagy szupressziója, következményes androgén-hatással vagy androgén-deprivációval az anti-androgén kezelés során.

Teljes androgénblokádnak (TAB) nevezzük a GnRH-analógok vagy kasztráció és anti-androgének együttes alkalmazását: a vizsgálatok azonban nem találták hatékonyabbnak, mint az egyes kezelési formákat külön-külön. Az androgénmegvonás a betegek 80%-ánál szubjektív javulást okoz, a tumor tényleges regressziója 50% körül következik be. A terápia hatékonysága függ a rákos szövet DHT- és androgén-receptorainak koncentrációjától, mérésekre az urológiai gyakorlatban azonban nem áll módszer rendelkezésünkre, viszont a fentiek miatt a prognózis szempontjából döntő jelentőséggel bírnak.

Az androgén depriváció legegyszerűbb módszere a sebészi kasztráció, így a tesztoszteron plazmaszintje egy nap alatt 90%-kal csökkenthető. Egy felmérés eredményei szerint az androgének 40%-a adrenalin eredetű, ezért a kasztráció után még anti-androgéneket javasolnak, hogy a mellékveséből származó androgéneket hatástalanítsák. [38]

Noha a prosztatarákok jól reagálnak az androgén-megvonásra, a kezdeti hatékonyság után androgén-független viselkedésűvé (úgynevezett kasztráció-rezisztenssé (CR)) válnak. A CR daganat invazívabb és áttétképző képessége is fokozottabb, mint az androgén-szenzitív (AS) prosztataráknak. [39] Az androgén-érzékenység elvesztése szelektív folyamat, melynek során az a priori CR sejtvonal szelektív előnye érvényesül az AS sejtvonalhoz képest.

Ha az előrehaladott PC rezisztenssé válik a hormonális- vagy sebészi kasztrációra, szisztémás kemoterápia jön szóba. Annak ellenére, hogy a szisztémás kemoterápiával gyógyhatás nem érhető el, ez a terápia mégis alkalmas lehet az általános- és betegség-specifikus túlélés javítására, ami az androgén-megvonás fentebb bemutatott formái mellett 12-36 hónapnak adódott. [40]

A CR PC kezelése újabb kihívások elé állítja az uro-onkológust. Az áttétes PC az androgén-megvonást követően 18-24 hónap alatt CR formájúvá módosul. [41] Bár az úgynevezett hormon-manipuláció (LHRH-antagonista elhagyása, antiandrogénnel való kiegészítés, továbbá kortikoszteroidok, ösztrogének és kenokonazol alkalmazása) rövid

ideig előnyös lehet, kedvező hatásuk csak hetekig-hónapokig áll fenn és alig javítják a teljes túlélést. [42] Két független vizsgálat 1985-ben nem találta bizonyítottnak a palliatív kemoterápia előnyét, ezért azt javasolták, hogy a kemoterápia alkalmazására csak klinikai vizsgálatok keretében kerüljön sor. [43, 44] A kezdeti kemoterápiás próbálkozások tehát cyclophosphammal, 5-fluorouracillal, etoposiddal, doxorubicinnel nem javították a túlélést. [45] Úgy tűnt, hogy a felfedezői között magyar kutatóval is bíró estramustin hatékony a progressziómentes túlélés növelése szempontjából. [46] A vegyületben levő ösztadiol a PC-sejt ösztrogén-receptorához kötődik, vegyülete alkalizáló hatású, így károsítja a sejtciklusba kerülő sejtek DNS-ét és tubuláris komponenseit, apoptózist és sejthalált okozva. Súlyos mellékhatásai (gyengeség, gyomor-bélrendszeri mellékhatások) miatt azonban alkalmazhatósága korlátos és a későbbi eredmények sem igazolták a kezdeti várakozásokat.

Egy 1996-ban végzett fázis III. klinikai vizsgálatban [47] és a Cancer and Leukemia Group B 9182 jelű vizsgálatában [48] a mitoxantron+prednizolon kombinációt hasonlították össze az önmagában alkalmazott prednizolonnal, és azt találták, hogy a mitoxantron előnyt jelentett a tünetekkel kísért metasztatikus CR PC-s esetek 30%-ában. A vizsgálok 2004-ben hozták nyilvánosságra a TAX-327 és a Southwest Oncology Group (SWOG) 9916 vizsgálat eredményeit, [49, 50] melyek azt igazolták, hogy a 3-hetente alkalmazott docetaxel-alapú kezelés mediánértékben 23 hónappal hosszabbította meg a betegek túlélését, függetlenül a betegek életkorától, szemben a mitoxantron+prednizolon kombinációjával. A betegek körülbelül 50%-a azonban nem reagált a docetaxelra, viszont ki volt téve a kezelés toxicitásának. A közelmúltbeli tapasztalatok azt mutatják, hogy a három héten át hetente egyszer docetaxellal kezelt, idősebb betegeknél még a nagyobb onkológiai tapasztalattal rendelkező központokban is jelentős toxicitás jelentkezik, mely neutropeniás lázban, hasmenésben és dehidrációban nyilvánulhat meg. [51] A TAX-327 és a SWOG-9916 vizsgálói a teljes túlélés legmegbízhatóbb kiegészítő markereként azonosították, ha a PSA-szint a docetaxellal vagy mitoxantronnal végzett kemoterápia első három hónapján belül legalább 30%-kal csökkent. [52, 53] A TAX-327 vizsgálat elemzése szerint négy független kiindulási tényező (fájdalom, zsigeri metasztázisok, anémia és a csontizotóp-vizsgálat által jelzett progresszió) jelezte előre a kemoterápia első 3 hónapjában bekövetkező 30% feletti PSA-csökkenést. Az iménti megállapításra alapozva három kockázati csoportot alakítottak ki, melyben a teljes túlélés mediánja 25,7 hónap (0–

1 kockázati tényező esetén), 18,7 hónap (2 kockázati tényező jelenlétekor), illetve 12,8 hónap (3–4 kockázati tényező esetén) adódott. [54] Nem rendelkezünk ugyanakkor validált eszközzel ahhoz, hogy az adott betegnél előre jelezzük a kemoterápia előnyös hatását: a progressziót jelző tényezők (PSA, a fájdalom- és tumor nagysága) számán és a docetaxel-kezelés időtartamán túl a docetaxel-kezelés alatt vagy után jelentkező progresszió bizonyult a progresszió utáni túlélés független előrejelzőjének. [55] Nemrégiben több új szert (pl. GVAX, DN-101 és bevacizumab) is teszteltek docetaxellal együtt adva kemoterápiával még nem kezelt CR PC-s betegek esetén, [56, 57, 58] bár más szereket (pl. satraplatin, cabazitaxel és abirateron-acetát) is vizsgáltak, amikor az első vonalbeli kemoterápiát követően progresszió jelentkezett. [59, 60, 61]

A kemoterápiás szerek legtöbbször hatásosak a proliferáló sejtek ellen, és maximális hatásukat akkor fejtik ki, ha gyorsan osztódó sejtekkel bíró daganatok esetén használják. A PC sejteinek csak körülbelül 10%-a mutat aktív proliferációt, bár a génexpressziós vizsgálatok mutatják, hogy a betegség progressziója során fokozódik a sejtek proliferációja. [62] A CR PC végzetes kimenetele az apoptózissal szembeni rezisztencia fokozódásával magyarázható, melynek következtében inkább a sejthalál sebessége csökken, mint hogy a tumorsejtek gyorsabban proliferálnának. [63] Lassan proliferáló sejteik ellenére a korai klinikai vizsgálatok igazolták, hogy a CR PC különösen érzékeny a mitózis gátlószereire, mint amilyen például a docetaxel. [64] A docetaxel egy felszintetikus taxán, mely a sejtciklus G2-fázisában gátolja a szétválást és elősegíti a sejthalált a proliferáló sejtekben. [65] A mikrotubulusok stabilizálásán túl a docetaxel azáltal is fokozhatja az apoptózist, hogy gátolja az apoptózis ellenében ható Bcl-2 proteint a proliferáló sejtekben, emellett gátolja az AR transzlokációját a sejtmagba, és megzavarja az AR-szignált. [66] A docetaxelrezisztencia hátterében állhatnak celluláris mechanizmusok (azaz specifikus taxánokkal szembeni rezisztencia, folyamatos AR-szignál, különböző túlélési utak aktiválódása és az apoptózis gátlása), illetve kialakulhat rezisztencia a mikrokörnyezet hatására is (pl. a daganatsejtek és csontsejtek közötti interakciók miatti gyógyszer-rezisztencia). [67] Az AR-szignált célzó hatásos szerek (pl. abirateron-acetát, MDV-3100) kifejlesztésével az AR valódi célponttá válhat a CR PC azon eseteiben, melyek a docetaxel-kemoterápia alatt vagy után progrediálnak. [61]

A daganatellenes szerekkel szembeni rezisztencia fontos és sokszor kevésbé figyelembe vett oka, hogy a szer sok célsejthez nem jut el olyan koncentrációban, hogy

letális toxicitást fejtsen ki. Szolid tumorok esetében a gyógyszer azokon az ereken keresztül juthat el a daganathoz, melyek a tumor-angiogenezis során képződnek. [68] A daganatból és a körülötte lévő gazdasejtekből különféle angiogén növekedési faktorok (pl. vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF)) szabadul fel, mely elősegíti a tumor saját vérellátásának kialakulását. Az angiogenezis folyamata során a CR PC-n belül szabálytalan érhálózat alakul ki, mely ezáltal kedvez a docetaxel-rezisztencia létrejöttének, illetve zavart szenved az oxigén és egyéb tápanyag szállítása a daganatsejtekhez. A hipoxia nemcsak a kemoterápiával szembeni rezisztenciához járul hozzá, hanem hatására malignusabb fenotípusú sejtek választódnak ki. [69] Még ha a gyógyszer képes is bejutni a szövetekbe, az erekől távolabb levő, ennél fogva nem megfelelő tápanyagellátottságú tumorsejtek hajlamosabbak a lassabb proliferációra, ezáltal a szaporodási ciklusra ható daganatellenes szerekekkel szembeni rezisztenciára.

A docetaxel és prednizolon kombináció sajnos nem javította a betegség kimenetelét. Az SWOG-9916 vizsgálatban az estramustin és docetaxel kombinációja fokozott toxicitást eredményezett és nem javította nagyobb mértékben a túlélést, mint a docetaxel és a prednizolon a TAX-327 vizsgálatban. A GVAX-vakcinával végzett kombinált kezelés rosszabb túlélést hozott, ezért a vizsgálatot idő előtt lezárták. A DN-101 nevű vegyület nagy dózisban tartalmazza a kalcitriolt, a D-vitamin aktív formáját. Preklinikai kísérletekben a DN-101 fokozta az apoptózist és gátolta a kemoterápiával – ezen belül docetaxellal – kezelt PC sejtvonalak proliferációját. [70] Az ASCENT-1 (Androgen Independent Prostate Cancer Study of Calcitriol Enhancing Taxotere 1)-vizsgálatban a DN-101-gyel együtt vagy anélkül hetente adott docetaxellal és prednizolonnal nem érték el a PSA-válasz előre meghatározott javulására vonatkozó elsődleges végpontot, de a DN-101-gyel kezelt csoportban jobb teljes túlélést és kevesebb mellékhatást észleltek. A vizsgálatot azonban felfüggesztették, mivel a köztes elemzés több halálesetet mutatott a kísérletes csoportban.

Korai prosztatákban szenvedő betegeknél a sűrűbb mikroérhálózat, illetve a kóros morfológiájú és működésű primitív erek jelenléte megnövekedett VEGF expresszióval és agresszívabb kórfolyamattal jár. A plazma és a vizelet magas VEGF-szintje rosszabb teljes túléléssel társul CR PC-ben. [72] Több fázis II. vizsgálatban tanulmányozták az angiogenezis gátlószereit: az estramustin, docetaxel és bevacizumab kombinációja például ígéretes eredményeket adott a történeti kontrollokkal összehasonlítva. [73]

A CALGB-90401 klinikai vizsgálat a docetaxelből, prednizolonból és bevacizumabból álló kombinációt a prednizolonnal vetette össze 1050, kedvező prognózisú CR PC-s betegben. A vizsgálat elsődleges végpontja a teljes túlélés volt, mely nem különbözött szignifikáns mértékben a kontroll és a kísérletes csoport között. A bevacizumab szignifikánsan javította a másodlagos végpontnak választott progressziómentes túlélést, ugyanakkor kifejezettebb volt a toxicitás. [58] A SUN-1120 (Sunitinib Plus Prednisone in Patients With Metastatic Castration Resistant Prostate Cancer After Failure of Docetaxel Chemotherapy) elnevezésű fázis-III vizsgálatban az anti-angiogenetikus hatású sunitinibet vizsgálták előrehaladott, metasztatikus CR PC azon eseteiben, ahol a docetaxelkezelést követően progresszió jelentkezett. Azonban a vizsgálat idő előtti lezárására kényszerültek, mert a köztes elemzés során azt találták, hogy a sunitinib prednizolonnal alkotott kombinációja valószínűleg nem hosszabbítja meg a túlélést az önmagában alkalmazott prednizolonhoz képest. [74]

Jelenleg is folyik két nagy, véletlen besorolásos klinikai vizsgálat, melyben docetaxellal és prednizolonnal együtt adott angiogenezis-gátló szerek hatását értékelik. A VENICE-vizsgálatban (Aflibercept in Combination With Docetaxel in Metastatic Androgen Independent Prostate Cancer), ahol a beteg-beválasztási szakasz lezárult, afliberceptet adnak együtt docetaxellal és prednizolonnal. Az aflibercept többféle angiogén mediátorra hat, mint a bevacizumab. A másik vizsgálatban a thalidomid kevésbé toxikus analógiát, az immunmodulátor és anti-angiogenetikus hatású lenalidomidot vizsgálják docetaxellal és prednizolonnal együtt adva a MAINSAIL-vizsgálat (Study to Evaluate Safety and Effectiveness of Lenalidomide in Combination With Docetaxel and Prednisone for Patients With Castrate Resistant Prostate Cancer) keretében. Az antiangiogén szerek (pl. bevacizumab és thalidomid) kombinációja ígéretes eredményeket adott egy fázis II. vizsgálatban, de e kombinációban a két szer toxicitása összegződik. [75] További, jelenleg is futó fázis II. klinikai vizsgálatban kutatott angiogenezis-gátló szerek közé tartoznak az endoteliális sejteken expresszálandó avb3 és avb5 integrin receptorokat megcélzó monoklonális antitestek (pl. CNTO-95 és etaracizumab).

Kemoterápiában korábban még nem részesült, tünetmentes metasztatikus CR PC-s betegek számára mód van második vonalban a docetaxel alkalmazására. Két nagy klinikai vizsgálatban tanulmányozták a satraplatin és a cabazitaxel második vonalbeli terápiaként

történő alkalmazását, illetve az abirateron-acetátot is vizsgálják a docetaxel mellett progressziót mutató betegek esetében. [59, 60, 61]

Az előrehaladott kissejtes PC szokványos kezelését jelenleg a platinaalapú szerek jelentik. [76] A SPARC (Satraplatin and Prednisone Against Refractory Cancer) vizsgálatban az orálisan adható platinaszármazék satraplatint olyan CR PC-s betegnél alkalmazták, akiknél az elsődleges kemoterápiát követően progresszió jelentkezett. A vizsgálat alanyai 2:1 arányú véletlen besorolás alapján satraplatint vagy placebót és prednizolont kaptak. A progressziómentes túlélés tekintetében javulást igazoltak a satraplatin-kezelésben részesült csoportban, az általános túlélés szempontjából nem mutatkozott különbség. [59] E vizsgálat eredményei alapján a satraplatin regisztrációját nem engedélyezték. Napjainkban is intenzíven kutatják, hogy az áttétes CR PC más alcsoportjaiban is előnyös lehet-e a platinaszármazékok alkalmazása?

A cabazitaxel (XRP-6258) egy új taxoid vegyület, mely a docetaxelhez hasonló hatású a mikrotubulusok stabilizálásában. A kutatási eredmények a cabazitaxel aktivitását mutatják olyan klinikai modellekben, melyek érzékenyek docetaxel iránt, de aktivitásukat néhány olyan sejtvonalban és tumormodellben is megőrzik, melyek rezisztensek a jelenleg elérhető taxánokkal szemben. [77] A TROPIC-vizsgálatban a cabazitaxel és prednizolon kombinációját vetették össze prednizonnal együtt adott mitoxantron hatásával, olyan betegekben, akiknél a docetaxel-kezelés során vagy azt követően progresszió jelentkezett. A vizsgálatban 6 kezelési ciklust alkalmaztak, hetente háromszor 25 mg/m<sup>2</sup> testfelületre vetített dózisban. A kezelés költsége (nem számítva a szupportív szerek árát, melyet sok beteg megkap) azonban jóval meghaladja azt a költséghatékonysági tartományt, melyet az egészségügyi döntéshozók többsége elfogadhatónak tart. A cabazitaxel szignifikánsan meghosszabbította az általános túlélést, bár a szer adása lényegesen nagyobb toxicitással jár, mint a mitoxantron alkalmazása (pl. allergiás reakciók vagy a potenciálisan végzetes kimenetelű máj- vagy veseelégtelenség). A cabazitaxelt a máj metabolizálja, ezért májműködési zavarok esetén e szer nem adható. TROPIC vizsgálat alapján az Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszer Engedélyeztetési Hatóság engedélyezte a cabazitaxel alkalmazását korábban docetaxellal kezelt áttétes CR PC-s betegeknek történő alkalmazásra. A SPARC- és TROPIC-vizsgálat azt igazolta, hogy a mitózis inhibitorai a leghatásosabb kemoterápiás szerek az áttétes CR PC-s betegek nem válogatott populációjában. Indokoltnak látszik a cabazitaxelt hatásos első vonalbeli terápiás

lehetőségként figyelembe venni de novo docetaxel-rezisztencia eseteiben. Jelenleg azonban nincs olyan igazoltan hatékony eszközünk, mellyel előre jelezhetnénk a docetaxel hatásosságát adott áttétes CR PC-s beteg esetében. Továbbra is a mitoxantron tekinthető a választható terápiás lehetőségnek azon áttétes CR PC-s betegek esetében, akiknél nem jön szóba docetaxel vagy cabazitaxel alkalmazása.

Hatásos és biztonságos stratégia lehet a docetaxel ismételt bevezetése azon áttétes CR PC-s betegek számára, akik korábban jól reagáltak az első vonalbeli kemoterápiára, különösen azokban az esetekben, ahol az első vonalban alkalmazott docetaxel alapú kemoterápia utolsó ciklusa óta hosszabb idő telt el a betegség progressziójáig. [78] A docetaxel ismételt bevezetése a cabazitaxel ésszerű alternatívájának tűnik azokban az esetekben, amikor hosszabb idő telik el a docetaxel utolsó dózisának beadása és a progresszív betegség jelentkezése között, de napjainkban nem állnak rendelkezésünkre olyan validált biomarkerek, melyek alapján előre jelezhető lenne az új szerek előnyös hatása. [79]

A kutatások szerint a CR PC-k nagy részében az androgénfüggő jelátviteli utak aktívak maradnak, az androgénszabályozás alatt álló gének expressziója kimutatható, az intratumorális androgénszint az alacsony tesztoszteronszint ellenére magas, gyakran a CR kialakulása mellett az androgén-receptorok amplifikációja mutatható ki. Az abirateron-acetát egy kis molekulású, szájon át alkalmazható pregnenolon-analóg, mely az androgén-bioszintézis egyik kulcsenzimének irreverzibilis gátlója. Hatékonysága 10–30-szorosa a nem szelektív gátló ketokonazolénak. Leggyakoribb mellékhatásai a vérnyomás emelkedése, a hipokalémia és az ödéma megjelenése, melyek azonban mineralokortikoid antagonistákkal vagy alacsony dózisban adott kortikoszteroidokkal uralhatók. Docetaxel-kezelés mellett progrediáló és kemoterápiában még nem részesült betegeknél is felmérték a hatékonyságát, és 50%-ot elérő PSA-csökkenést okozott a kemoterápia-naiv betegek 67%-ában, illetve a docetaxel-kezelést követően a betegek 51%-ában, a medián progressziómentes túlélés pedig 225 nap illetve 169 nap volt. [80, 81] A COU-AA-301 fázis III-as vizsgálatban a docetaxel-terápia mellett progrediáló PC-s betegek egyik csoportja abirateron-acetát és prednizolon-kezelésben részesült, a másik csoport csak prednizolon-terápiát kapott. Az abirateron-acetát szignifikánsan javította a túlélést, a PSA-progresszióig eltelt időt, a radiológiai progresszióig eltelt időt. [82] A vizsgálat alapján megállapítható, hogy az androgén-megvonás ellenére progrediáló PC-s betegek



kezelésének célpontja lehet a fennmaradó androgén-bioszintézis gátlása. [83] Ennek alapján az engedélyezési hatóságok befogadták az abirateron-acetátot a metasztatikus CR PC-s betegek docetaxel-kezelést követő, másodvonali kezelésének.

Másik terápiás lehetőséget jelent az AR közvetlen gátlása. Az MDV-3100 egy AR-antagonista készítmény, mely megakadályozza az AR-hez való kötődést, gátolja a receptor sejtmagba történő transzlokációját és a koaktivátorok termelődését. [84] Az első generációs AR-antagonisták, mint például a bikalutamid vagy a flutamid az 1980-as évek óta az előrehaladt PC-k standard terápiájához tartoznak, de hatékonyságukat csökkenti, hogy az AR-hez reverzibilisen kötődnek, valamint androgén-agonista tulajdonságuk, melyre az utal, hogy az alkalmazásuk mellett az AR nagyobb mennyiségben expresszálódik. [85] Az új generációs antiandrogének, mint az MDV-3100, nagyobb affinitással kötődnek az AR-hez, mint a bikalutamid, miközben nincs agonista tulajdonságuk. Az AR overexpressziója esetén gátolják az AR sejtmagi transzlokációját, a koaktivátorok felvételét és a DNS-kötődést.

Az MDV-3100, hatóanyag-nevén enzalutamid (kémiailag: diaril-tiohidantoin) olyan nem szteroid antiandrogén vegyületként keltette fel a klinikusok érdeklődését, amely fokozott AR-expresszió mellett is megőrizte aktivitását. Az AFFIRM-vizsgálatba (A Study Evaluating the Efficacy and Safety of the Investigational Drug MDV3100) Howard I. Scher és nemzetközi munkacsoportja 1199 beteget sorolt be; 2:1 arányú randomizáció után 800-an napi 160 mg enzalutamidot, 399-en placebót kaptak. [86] Az 520 haláleset után előre tervezett módon elvégzett időközi elemzés alapján a vizsgálatot leállították az aktívan kezelt csoport szignifikánsan jobb teljes túlélése (18,4 hónap vs. 13,6 hónap) miatt. A másodlagos végpontokban is jobbnak bizonyult az enzalutamid a placebónál: azoknak a betegeknek az arányában, akiknek a PSA-szintje legalább 50%-kal csökkent (54% vs. 2%), a lágyszöveti válasz arányában (29% vs. 4%), az életminőségbeli válaszban (43% vs. 18%), a PSA-szint progressziójáig eltelő időben (8,3 hó vs. 3,0 hó), és az első csontvázrendszeri eseményig eltelő időben (16,7 hó vs. 13,3 hó). Az enzalutamiddal kezelt betegek gyakrabban panaszkodtak fáradtságról, hasmenésről és hőhullámokról. A vizsgálat eredményei alapján még egy új gyógyszer áll majd rendelkezésre az előrehaladott PC-s betegek számára, akiknél a docetaxel-alapú kemoterápia eredménytelennek bizonyult.

Bár a gyógyszert docetaxellel szemben rezisztens betegeken tesztelték, elvben korábbi stádiumban is adható, annál is inkább, mert nem kell prednizolont adni mellé; a

megfelelő klinikai vizsgálatok már folyamatban vannak, miközben más, az AR-t célba vevő stratégiák klinikai kipróbálása is megkezdődött.

A PC-s betegeknél a kis molekulású tirozinkináz-gátlók hatékonyságának felmérésére számos vizsgálat történt. Bár számos tirozin-kinázról ismert, hogy szerepet játszik a PC-k növekedésében és áttétképzésében, a legtöbb, más daganatokban hatékonynak bizonyuló tirozinkináz-gátló, köztük a sorafenib, nem mutatott érdemi hatékonyságot CR PC-s betegeknél. Ennek oka lehet a tirozin-kinázok illetve az androgén-megvonás okozta autofágia, amely az apoptózissal szembeni ellenállóképesség kialakulásához vezethet. A sunitinib, mely egy több támadáspontú tirozinkináz-gátló, azonban biztató eredményeket hozott docetaxel-kezelés mellett progrediáló áttétes CR PC-k másodvonalú kezelésében.

A prosztatata rosszindulatú daganatai általában lassan progrediálnak, így elég idő áll rendelkezésre a hatékony immunválasz létrejöttére. A PC-s sejtek számos antigént expresszálnak, például egyebek mellett a PSA, a prosztatatai alkalikus foszfatáz érzékeny markernek számít, mely segíthet a korai progresszió kimutatásában. A sipuleucel-T egy autológ dendritikus sejt vakcina, mely a PC elleni immunválaszt segíti. A vakcinát egyénre szabottan állítják elő. A beteg leukoferezis során nyert mononukleáris antigén-prezentáló sejtjeit rekombináns úton előállított prosztatatai alkalikus foszfatáz-antigénnel hozzák össze, majd az aktivált sejteket tartalmazó vakcinát adják be a betegnek. Az IMPACT fázis-III-as vizsgálatban áttétes, CR PC-s betegeket vizsgáltak és elsődleges végpontnak a teljes túlélést tekintették. A vizsgálat eredményei alapján a sipuleucel-T terápia 4,1 hónappal növelte a medián átlagos túlélést és a halálozási valószínűséget 22,5%-kal csökkentette. [87]

Számos magyarázat született arra vonatkozóan, hogy a PC áttétképzése során miért elsődleges célpont a csontváz-rendszer. A betegek 65–75%-ában alakul ki csontáttét, melynek következményeként patológiás csontváz-rendszerei események jöhetnek létre. Úgy tűnik, az oszteoblasztok és az oszteoklasztok is szerepet játszanak a PC-s sejtek és a csontok közti kölcsönhatásban. [88] A tünetek enyhítése, a teljes túlélés növelésének reményében javasolják a biszfoszfonátokat, az izotópos sugárkezelést és újabban a molekulárisan célzott terápiákat. [89]

A csontáttétek kimutatása előtt megkezdett oszteoklaszt-működést gátló biszfoszfonátok (zoledronsav, disodium clodronate) szedésének hatására a csontáttétek

megjelenése későbbre tehető: átlagosan 30 hónap elteltével mutathatók ki a kezelt betegcsoportban, miközben a kezelés előtti PSA-érték és a PSA sebessége a csontáttétek megjelenésének és a túlélésnek független előrejelzője. [90] Ugyanakkor biszfoszfonátok alkalmazása nélkül a csontáttétek átlagos jelentkezési ideje a CR forma kialakulása után 9 hónapra tehető.

Randomizált vizsgálatok szerint a zoledronsav 36%-kal csökkenti a csontesemények előfordulását és 5,5 hónappal növeli a csontáttét-mentes túlélést. A receptor-aktivátor nukleáris faktor kappa-B ligand kulcsfontosságú eleme a tumorsejtek okozta oszteoklaszt-differenciálódásnak, -aktiválódásnak, és a csont-reszorpciónak. A denosumab, ami egy, a fenti ligandot gátló monoklonális antitest, a vizsgálatok szerint a CR PC-s betegeknél hatékonyabb a csontszövődmények kezelésében és megelőzésében, mint a zoledronsav. A denosumab a ligandhoz kötődve gátolja az oszteoklasztok aktivitását, felfüggeszti a csontreszorpciót. A csontrendszerrel kapcsolatos nemkívánatos esemény megjelenése a denosumab alkalmazása mellett 20,7 hónap, míg a zoledronsavat kapó csoportban 17,1 hónap volt. A teljes túlélés tekintetében a két kezelés eredménye között nincs különbség. [91]

A rádium-223- klorid (alpharadin) a csontáttétek fájdalomcsillapító kezelésére eddig törzskönyvezett izotópoknál (stroncium-89, samárium-153) rövidebb hatótávolságú és felezési idejű, valamint nagyobb energiájú alfa-sugárzó izotóp, így az ép szöveteket kevésbé károsítja, alkalmazása kevesebb hemopoetikus csontvelői őssejteket érintő mellékhatással jár, ugyanakkor szignifikáns, 2,8 hónapos túlélési előnyt mutat. [92]

## **2. 5. A prosztaták klinikai gyakorlatban alkalmazott kórjóslati tényezői**

A laikus beteg szempontjából a PC diagnózisának kimondása bír döntő jelentőséggel, azonban az urológiai gyakorlatban a betegség adott személyre vonatkoztatott lefolyásának megjósolása, úgynevezett prognózisa a legfontosabb. Ismert, hogy a PC rendkívül sokféle, egyénenként változó viselkedésű. Az időben elvégzett kuratív kezelés életmentő lehet, de ismertek a feleslegesen agresszív, úgynevezett túlkezelés okozta szövődmények és azok káros következményei is - elég a radikális prostatektómia utáni akaratlan vizeletvesztésre vagy merevedési zavarra gondolni. [93]

Ismert, hogy a leggyakrabban használt daganatjelző, a prosztataspecifikus antigén (PSA) prognosztikai célú alkalmazásával 30% körüli az alacsony kockázatú (vagyis az élethosszt nem befolyásoló) PC-k kimutatása, másfelől a betegek majd' 25%-a kimutathatatlan, de jelen levő (okkult) áttétekkel bír. [94]

A prosztatabiopsziás minta korlátos kiterjedése miatt a levonható következtetések gyakran a radikális prosztatektómiás anyag teljes feldolgozásakor teljesen átértékelődnek (a grádus-besorolás úgynevezett alul- vagy túlbecslése).

A valóságosan a biopsziás szövettani leletben feltártnál agresszívabb prosztataráktól való félelem miatt hajlamosabb az urológus a radikálisabb kezelés mellett dönteni, annak tudatában is, hogy a kezelés esetleg nemcsak túlélésbeli előnyt nem jelent, hanem a későbbi életminőséget is rontja. A fentiek alapján fontos cél az alacsony kockázatú, vagyis évek alatt lassan progrediáló, és a várhatóan gyorsan progrediáló PC-k elkülönítése. Az erre javasolt úgynevezett "active surveillance" protokoll, a PSA - rektális vizsgálat (RV) - prosztatabiopszia hármast használva a követésre, 2-éves követési időszakot jelöl meg és így választja ki a betegek közül azon 25%-ot, akikben az eredeti prosztatabiopsziás szövettanban sejtettnél agresszívabb betegség-lefolyás várható. [95] Az idézett "Surveillance Therapy Against Radical Treatment"-vizsgálat 85%-os általános- és 99%-os betegség-specifikus túlélést észlelt az átlagosan 8-éves (2-11 éves) követési időszak alatt! Ez is aláhúzza olyan prognosztikai faktor felismerésének igényét, amellyel az agresszív és nem agresszív viselkedésű PC-k elkülöníthetők, mert az agresszívabb viselkedésű PC-k agresszívabb kezelést is igényelnek.

A PC különböző morfológiai változatai, noha ritkák, mégis rendkívül különböző kórjóslatúak. Közülük leggyakrabban a 90%-ban a prosztata perifériás zónájában jelentkező, PSA-t termelő acinaris adenokarcinómával találkozunk. A mirigy tágult központi csatornájának falából származó "prostatic duct" karcinóma általában alacsony vagy közepes malignitású és szintúgy PSA-t termelő. A PSA-pozitív mucinózus rákok gyengén reagálnak az androgén-megvonó kezelésre és gyorsan áttéteket adnak. Az adenoid cisztikus karcinómák nem termelnek PSA-t és korán metasztázist képeznek. A gyűrűsejtes rákok PSA-pozitívak és agresszív viselkedésűek. A kissejtes- és neuroendokrin karcinómák prognózisa a legkedvezőtlenebb. A PSA-negatív, periuretrális glanduláris epitéliumból származó tranzicionális sejtes rák nem reagál az androgén-megvonásra és

biológiailag agresszív. A szarkomatoid karcinómák fiatalabb korban jelentkeznek és gyorsan progrediálnak. [96]

A PC mikroszkópos grádusa meghatározza a betegség helyi kiterjedését, a nyirokcsomó- és csontáttétek jelenlétét ugyanúgy, mint ahogy sejteti a különböző kezelési formák hatékonyságát és a betegség általános túlélését. A grádus meghatározására legáltalánosabban alkalmazott módszer a későbbiekben bemutatott, úgynevezett Gleason-szám meghatározása, de annak, jóllehet a legerősebb jelzője a PC biológiai viselkedésének és áttétképző-képességének, egyedülként való alkalmazása nem elégséges a betegség lefolyásának előrejelzésére. Így van ez már csak azért is, mert sokszor látjuk ugyanazon beteg prosztatabiopsziás és a radikális prosztatektómiás szövettani feldolgozásának eltérő Gleason-összegeit. [97]

Jóllehet, a prosztatabiopsziás minta magasabb Gleason-összege rosszabb prognózist jelez, ilyen irányú egyedülként való felhasználása célszerűtlen. A prognózist ugyanis a PC kiterjedése befolyásolja: vagyis a pozitív biopsziás hengerek száma, százalékos aránya és a perineurális invázió jelenléte egyaránt. Ezek alapján születethet meg a kezelés vagy az aktív megfigyelés közötti döntés. Az ondóhólyagok és/vagy a prosztatakörnyéki zsírszövet érintettsége rosszabb kórjóslatot jelez. [98]

A daganat stádiuma szintén fontos prognosztikai tényező. A klinikai stádium-meghatározás a betegség kezelés előtti kiterjedését határozza meg és így nyújt segítséget a prognózis megbecsléséhez és a kezeléssel kapcsolatos döntéshez. A klinikai gyakorlatban a stádium meghatározásának eszköztárát a RV, PSA, a prosztatabiopszia szövettani jellemzői és a képalkotók jelentik. Tekintve azonban, hogy az utóbbi nem alkalmas mikroszkópikus szintű kérdések megválaszolására, legtöbbször korlátozottan használható fel. Napjainkban a klinikai stádium-meghatározásra a fentebb bemutatott, többször módosított TNM-besorolást alkalmazzuk.

A patológiai stádium az eltávolított prosztataszövet, illetőleg, ha rendelkezésre áll, az ondóhólyagok, környéki nyirokcsomók sajátosságainak felhasználásával határozható meg és a klinikai stádiumnál hatékonyabb a betegség lefolyásának megítélésében. A biokémiai rekurrencia-mentes- és daganatmentes túlélés a patológiai stádiummal fordítottan arányos. A szervre lokalizált PC kórjósolata az intrakapszuláris terjedéssel romlik, majd a prosztatán kívüli terjedéssel még kedvezőtlenebbé válik. Noha a perineurális terjedést a tokáttörés előrejelzőjének tartották, prognosztikai eszközként való

alkalmazása ellentmondásos. [99] Az ondóhólyagok érintettsége magasabb grádussal, prosztatán kívüli terjedéssel, nyirokcsomó-áttét nagyobb esélyével és rosszabb kórjósallal jár. A pozitív sebési szél és a vaszkuláris invázió szintén kedvezőtlenebb prognózist jelez. [100] Csontáttétek megjelenése a kasztráció-rezisztens (CR) formába váltás előjele.

Radikális prosztatatektómiát követően a prognózis meghatározásának legfontosabb tényezője a daganat grádusa, a sebési szél érintettsége, a prosztata tokján kívülre terjedés és a kismencedei nyirokcsomók áttétes volta. [101] A PSA és a patológiai stádium, valamint a betegség kiterjedése között egyenes arányosság van, ugyanakkor a PSA a patológiai stádiumból és a PC kiterjedéséből következtethető prognózis előrejelzésére egyedülként nem alkalmas, már csak azért sem, mert a kevésbé differenciált (agresszívabb) daganatok tömegegységként kevesebb PSA-t választanak ki. A rektális vizsgálat a perifériás elhelyezkedésű vagy bizonyos méretet meghaladó daganatok észlelésére és a helyi kiterjedés megítélésére alkalmas. A tapintható kóros eltérések nagyobb valószínűséggel kevésbé differenciált, Gleason-összeg 8-10 közötti, vagyis rosszabb prognózisú rákot jeleznek. A szenzitivitás és reprodukálhatóság hiányosságai miatt a kórjósallat megítéléséhez a prosztata-tapintás az egyéb vizsgálati adatokkal (elsősorban a PSA-val) együtt értékelendő.

Kuratív beavatkozások (radikális prosztatatektómia vagy besugárzás) után a PSA-érték növekedése jelzi a reziduális, lokalizált tumort vagy a recidívát, illetve a metasztázisok kialakulását - ezt nevezzük a kezelést követő biokémiai hibának ("biochemical failure"). Ez általában fél évvel megelőzi a klinikai visszaesést, ezért önmagában elegendő a kezelés indikálására, illetve változtatására.

Előnyök felhasználása és hátrányok csökkentése céljából a fenti tényezőket nomogramokba foglalták, hogy együttes használatukkal a gyakorlatban hatékonyabb prognózis-készítés váljon lehetővé. Az ismertebb a Partin-féle (1993), a Kattan-féle (1998), vagy a Stephenson-féle (2006) nomogram. D'Amico besorolása szerint

- alacsony kockázatú (klinikai stádium T1-T2a, PSA 10 ng/ml alatti, Gleason-összeg 6, vagy kisebb)
- közepes kockázatú (T2b, PSA 10-20 ng/ml, Gleason-összeg 7) és
- magas kockázatú (T2c, PSA 20 ng/ml feletti, Gleason-összeg 8-10) csoportokba sorolhatók a prognózis szempontjából a PC-s betegek.

Számos vizsgálat kutatta a képalkotók (beleértve a TRUH, MR és MR-spektroszkópos vizsgálatot is) használhatóságát a PC stádium-besorolása és a prognózisra való következtethetőség szempontjából. A mikroszkópos extraprosztatikus terjedésnek a képalkotók számára láthatatlan volta miatt azonban ezek alig használhatók. Újabban a rendkívül költséges limfotróp szuperparamagnetikus nanomolekulák intravénás alkalmazásával bíztatóak a kísérletes eredmények. A csontáttétek kórismézéséhez a csontszcintigráfia a bevált módszer. A National Comprehensive Cancer Network (2009) ajánlása alapján a 20 ng/ml feletti PSA vagy Gleason-összeg 8-10 vagy T3-T4 klinikai stádium, esetleg csontáttétre utaló tünetek esetén indokolt az elvégzése.

## **2. 5. 1. Prosztataspecifikus antigén**

A PSA egy glikoprotein, szerinproteáz enzim, melynek elsődleges szerepe az ondó elfolyósításában van, a férfi nemi váladékban nagy koncentrációban található. Termelői a prosztata acinusainak és duktuszainak fedősejtjei (mirigyepitélisejtek), ezért nem a prosztatarákra, hanem a prosztata szövetére specifikus. A PSA szérumszintje PC-ben megemelkedik. A vérben, mint PSA-1-antikimotripszin-komplex kering, a kallikrein-kinin rendszer része. Egyes kutatások eredményei szerint a nem komplexben levő, tehát szabad-PSA csökkenése jellemző kezeletlen PC-re. [102] A PSA sem nőben, sem más szervek daganataiban nem mérhető. [103]

A PSA-koncentráció meghatározása elengedhetetlen a PC diagnózisának és stádiumának meghatározásához, a betegkövetésben a legfontosabb eszköz, ill. lehetővé teszi a korai, szervre terjedő daganat kórismézését, valamint a korai recidíva felismerését radikális prosztatektómia vagy sugárkezelés után, szerepe döntő a progresszió korai felismerésében is. A PSA széles körű alkalmazásával 1993 és 2003 között, az Amerikai Egyesült Államokban, a “Surveillance, Epidemiology and End Results Program” adatai szerint a PC okozta mortalitás 32,5%-kal csökkent, miközben a felismeréskor már előrehaladott PC-k előfordulása 75%-kal mérséklődött. A “European Randomized Trial of Prostate Cancer Screening” vizsgálat 1993 óta követi egyfelől a PC szempontjából szűrt, másrészt a nem szűrt népeiséget. Eszerint egyetlen PC okozta halálozás megelőzéséhez 1410 férfi szűrésére és további 48 kezelésére van szükség. Az európai vizsgálat szerint ugyanakkor a PC okozta halálozás nem különbözött az egyes csoportok között. A kutatási

eredmények ellentmondásai rávilágítanak a PSA+RV együttesen alapuló szűrés okozta túldiagnosztizálás (olyan daganatok felismerése, amelyek egyébként az életet nem befolyásolóak maradnának) és túlkezelés kockázatára. Az utóbbi főként a 65 évnél idősebb férfiakat érinti, akiken a radikális műtét csak csekély előnnyel jár a követéssel szemben. Emiatt a legtöbb onkológiai- és urológiai szakmai társaság a PC évenkénti szűrését 50 és 69 év között tartja célszerűnek. A "National Comprehensive Cancer Network" 2007-es ajánlása szerint a 40. életévben végzett első PSA-szűrés eredménye alapján kell a későbbi szűrés során a PSA-vizsgálat gyakoriságát megállapítani.

A PSA-előtti időszakban a szűrés eszköze az RV (rektális prosztata-megtapintás) volt, ám a vizsgálat észleletének még tapasztalt vizsgáló által is alacsony a reprodukálhatósága és a korai, kicsi PC-felismerési esélye. Ugyanakkor az RV olcsó és egyszerűen kivitelezhető volta miatt a szűrésben megkerülhetetlen, főként, ha alacsony pozitív prediktív értékét a PSA meghatározásával javítjuk (3 és 10 közötti PSA esetén 33%-ról 83%-ra). Figyelembe véve, hogy a két vizsgálat gyakran nem ugyanannak a rákos területnek a jelenlétét észleli, egymás szükséges kiegészítői és együttes alkalmazásuk jobb prognózishoz vezet. [104]

A PSA-szint normál tartománya 0-4 ng/ml közötti. Az RV, endoszkópos vizsgálatok, prosztatabiopszia, prosztatítisz és főleg a transzuretrális reszekció a PSA-szintet szintén emeli, utóbbiak lezajlása után minimum egy hónappal várható a normál értékre való visszatérése. [105] A vércukorszint ingadozásai, a Ca-antagonisták, a C-vitamin, egyes citosztatikumok (pl. Metotrexát) ugyancsak befolyásolják a PSA-szintet, kóros tartományba emelik az egyébként egészséges prosztataszövetre jellemző normál értéket, és ezzel indokolatlan riadalmat, beavatkozásokat is okozhatnak. A PSA mérése reprodukálható, a hat héttel később megismételt meghatározás 1-2%-os ingadozást mutathat. A PSA alsó és felső értékei igen változóak: irodalmi adatok szerint egészséges esetben 0-10 ng/ml, BPH-ban 0-118 ng/ml, PC esetén 0-tól több százszázalékos szintig egyaránt előfordulhatnak.

A PSA szérum-markerként való alkalmazása és annak általánosan hozzáférhetővé válása új távlatokat nyitott a PC biológiájának megértésében. A PSA alkalmazásával kapcsolatos általános következtetések, hogy:

- újonnan felismert esetekben a PSA-szint legtöbbször arányos a betegség klinikai stádiumával,



- a PSA arányos a Gleason-összeggel,
- a PSA-szint növekedése általában arányos a progresszióval,
- lokalizált PC esetén végzett kuratív kezelés után a PSA-érték növekedése jelzi a reziduális, lokalizált tumort, recidívát, illetve a metasztázisok kialakulását,
- palliatív hormonterápia bevezetése után a PSA a normál szintre eshet vissza. A csökkenés tartóssága jele lehet a kedvező és tartós terápiás érzékenységnek.

A PSA-nak a korai diagnózisban és a kuratív betegek kiválasztásában nyújtott jelentős szerepét meghaladják a terápia hatékonyságának követésében nyújtott érdemei. A kezelést követően a normál értékre csökkent PSA-érték igen fontos prognosztikai jel, gyors remisszió várható, ha a szint 4 ng/ml alattira esik. A csökkenés a PSA-t termelő sejtek halálát jelenti. Ismételt növekedés egyértelmű rosszabbodást jelent. A tumor terápia során a PSA-szint emelkedését a kezelés biokémiai hibájának nevezzük, ez általában átlagosan 6 hónappal megelőzi a klinikai visszaesést, ezért önmagában elegendő a kezelés módosítására vagy indítására.

A PSA különböző koncentrációjánál a PC incidenciája a következő: 1 ng/ml alatt 18,2%, 1-4 ng/ml-nél 17,1%, 1-10 ng/ml-nél 56,8%, 10-20 ng/ml-nél 78,6%, míg 20 ng/ml feletti értéknél 87,5%.

A PSA-szint összefügg a tumor súlyával is: 3,5 ng/ml mérhető a tumorszövet tömegének grammjaiként. [106]

A szérumszint kisebb mértékben ugyan, de BPH-ban is emelkedett: a BPH-s diagnózisok 79%-ában 0-4 ng/ml-es, további 18%-ában 4-10 ng/ml-es PSA-szintet mértek, és mindössze 3%-uk PSA-értékei adódtak nagyobbak 10 ng/ml-nél. 1 g BPH-ra 0,2 ng/ml PSA-t számítottak. [107] Más szempontból: a 80 g feletti prosztaták 74%-ában mértek 4 ng/ml feletti, és 55%-ában 10 ng/ml-nél nagyobb PSA-értéket. Számolni kell azzal is, hogy a dűlmirigy térfogatával arányosan gyakoribbá váló vizeletrekedés a PSA-koncentrációt emeli.

Ennek ellenére, az RV-vel és/vagy az ultrahang-vizsgálattal együtt alkalmazva a PSA szintjének mérése nélkülözhetetlen a korai PC kimutatásában. A vizsgálat szenzitivitása 82%, specificitása 52%-os. [108]

A vizsgálat eredményeinek értékeléséhez fontos megjegyezni, hogy az elsőként megjelent Hybritech-módszer mellett mára már több gyártó készít tesztestet, de nem mindegyiknek ugyanaz a normál értéke. Az irodalomban közölt adatok általában a fenti

módszerrel készült vizsgálatokon alapulnak. Egy beteg tekintetében csak ugyanazon teszttel végzett vizsgálat eredményeit lehet összevetni.

Ha a PC kezelése akkor kezdődik meg, amikor még csak a dűlmirigyre korlátozódik a betegség, kuratív kezelés választható. Kezelés nélkül a PC először lokálisan, majd regionálisan terjed, végül távoli áttéteket képez. Egy kutatás eredményei szerint, 4 ng/ml alatti PSA-érték esetén a tokpenetráció, nyirokcsomóáttét és ondóhólyag infiltrációja valószínűségét sorrendben 23%, 1%, 1%-nak mérték, míg ugyanezek az adatok 4-10 ng/ml-es értéknél 32%, 12%, 3%-nak, 10-20 ng/ml-es értéktartományban pedig 38%, 18%, 18%-nak adódtak. [109] Mindhárom vizsgált terjedési irányban a PSA-szint 90% feletti prediktív értéke csak 20 ng/ml-es szinttől jelentkezik. Más oldalról vizsgálva, a lokális kiterjedésű PC-s betegek 42%-ának van 10 ng/ml feletti PSA-szintje, míg metasztatikus betegekben 97%-ban mérhető ugyanez. [110] A csontáttét miatti pozitív csontszcintigráfia esetén a PSA átlagértéke 158 ng/ml, negatív szcintigráfia esetén ez a szám 19,3 ng/ml.

A PSA kezeletlen PC-re jellemző várható havi koncentráció-emelkedése a kiindulási PSA függvénye is. Ha a betegek kezelés előtti PSA-értéke 50 ng/ml alatt volt, a várható növekedés 3,1 ng/ml, ha azonban a kezdeti PSA 50 ng/ml feletti volt, és a beteget nem kezelik, a várható havi növekedés 13,7 ng/ml.

A bizonytalan tartományba eső PSA-értékeknél további vizsgálatok nyújtanak segítséget. A PSA denzitása az az arány, amelyet a ng/ml-ben meghatározott PSA-szint és a prosztata ultrahanggal cm<sup>3</sup>-ben meghatározott térfogatának hányadosa jelent (1 cm<sup>3</sup> karcinoma 2 ng/ml-rel növeli az antigén vérszintjét). A normál tartomány 0,1-0,5 közötti. Ha a PSAD 0,1 alatt van, a daganat valószínűsége 6%, 0,1-0,5 között 11%, 0,5 felett pedig meghaladja a 42%-ot. [111] Mivel a PC-ben grammra számítva több a PSA, mint a BPH-ban, a megnövekedett PSA-denzitás (rendszerint 0,15 felett) azt jelezheti, hogy az emelkedett PSA-t malignus, és nem benignus elváltozás okozza. [112] A vizsgálat hátránya, hogy az ultrahanggal végzett térfogat-meghatározás nem standardizált, ezért szubjektív mivolta miatt sok kutató az így kapott értéket nem tartja megbízhatónak. Ezért vezették be a PSA-velocitást: a PSA sebessége az antigén szint időbeli változásának ütemét jelzi. Azon betegeknek, akikben az emelkedett PSA-szint több mint évi 0,8 ng/ml-rel tovább nő, nagyobb valószínűséggel van PC-jük, mint azoknak, akikben a szint állandó.

A PSA-sebesség megítéléséhez minimum három alkalommal, fél éves időszakonként végzett meghatározást tartanak szükségesnek.

Ugyanakkor szignifikáns a különbség az évi PSA-növekedésben a metasztázisos, a lokálisan kiterjedt prosztatatarákos és a BPH-s betegek között. [113] Évi 20%-os növekedés szinte biztosan malignitásra utal. A PSA-szint változásának üteme emellett segíthet a biopszia indikálásában azoknál a betegeknél, akiknél a RV normális és PSA-juk nem, vagy csak kissé emelkedett.

Különösen fontosnak látszanak a PSA korszpecifikus referencia értékei, amelyekben meghatározták az egyes korcsoportokra jellemző normál csúcserkéteket. A múltban a PSA-szintnek csak egy normál értéksávját használták, függetlenül a beteg korától. Az újabb adatok szerint azonban az érték a korral nő, a negyvenes éveiben levő, prosztatabetegségben nem szenvedő férfiakban alacsonyabb, mint a 60-70 évesekben. Ezért a korábbi 0-4 ng/ml-es sáv finomítása pontosabb értékelésre nyújt lehetőséget. Ezen megfontolás csökkentheti a feleslegesen végzett biopsziák számát azon idősebb betegeken, akikben a szint 4 ng/ml felett van, egyúttal növeli az esélyét annak, hogy fiatalabb korban – amikor a szint 4 ng/ml alatti – felismerjék a PC-t.

A kötött-szabad PSA-arányt is próbálták felhasználni az elkülönítésben, de a jelenlegi álláspont szerint alkalmazhatósága kérdéses.

A PSA-megkettőződési idő is felhasználható a differenciáldiagnosztika fegyvertárában, sőt a kuratív kezelési formákat követően a fennmaradt daganat jelzésére, a progresszió felismerésére és a prognózis meghatározására is. A radikális prostatektómiát vagy besugárzást követően a PSA-kettőződési idő hosszával arányosan csökken a relapszus valószínűsége.

Az utóbbi években a klinikai gyakorlatban is megjelentek a PSA újabb izoformái. A PSA-t ugyanis a prosztatái luminális epitélisejtjei előalak (úgynevezett proPSA) formájában termelik. [114] Pont abban a “szürke zónában” (2-10 ng/ml között), ahol a PSA alkalmazhatósága a sok álpozitív eredmény miatt kétes, a proPSA javítja a PC felismerésének esélyét. Más markerek, mint a PCA-3, szintúgy az érdeklődés és kutatás homlokterébe kerültek. A PCA-3 egy nem kódoló prostata-specifikus mRNS, ami PC-ben fokozottan expresszálódik. Kimutatása prostatamasszázs utáni vizeletmintából javasolt, ugyanakkor prognosztikai értékével kapcsolatban az eredmények még ellentmondások. [115]

## **2. 5. 2. Gleason-pontszám - a klinikai prognózis kiindulópontja**

1966-ban Donald F. Gleason 270 beteg szövettani mintáinak feldolgozásával egy olyan egyedülálló, a daganatos szövet differenciáltságát jelző grádus-besorolást alkotott, ami egyrészt a PC sejteinek mikroszkópos különbözőségén, differenciáltságán, másrészt azok előfordulási kiterjedtségén, mennyiségén alapult és a normál prosztataszövethez képesti eltérések szaporodtával 1-től 5-ig emelkedő pontrendszerrel minősítette a daganatot. [116] Megfigyelték, hogy azonos PC-n belül is számos eltérő változatban találhatók sejtcsoportok, ezért a két leggyakoribb csoport jellemzőjeként megadott pontszám összegét nevezték el "Gleason-score"-nak. A besorolás a gyakorlatban is bevált, de további finomítást igényelt, ezért 1972-ben megjelent az első módosítása, ami mikroszkópos jellemzőik alapján pontosabban határozta meg és írta le az egyes pontszámokhoz tartozó sejtek jellemzőit, immár 1032 férfi mintáinak feldolgozásának tapasztalatai alapján. [117] Azt tapasztalták, hogy a PC-s mintákban 3,5%-ban 1 a Gleason-pontszám, 24,4%-ban 2, 87,7%-ban 3, 12,1%-ban 4 és 22,6%-ban 5-ös. Az évek múltával a diagnosztika fejlődésével megjelenő újabb vívmányok, mint a PSA, az ultrahang-célzott transzrektális biopszia, a kezelésben megjelenő radikális prosztatektómia az újragondolás igényével hatott az eredeti besorolásra. Eltűnt a Gleason-összeg 1+1, helyét a nem malignus eltérésnek tartható atipusos adenomatózus hiperpláza vette át. Az immuno-hisztokémiai eljárások megjelenésével az eredeti besorolás szerint cribriform 3 Gleason-pontszámú karcinoma helyett a "cribriform high-grade" prosztatikussal intraepiteliális neoplázia használatos.

Megfigyelték továbbá, hogy a besorolás értelmezése patológus és patológus között is eltérő, ami nemcsak a különböző kontinensek patológusai között, hanem akár a különböző korosztályú vizsgálók között is észlelhető, sőt ugyanazon kór-szövettanással újra leleleztetve a mintákat, 30%-ban jelentkezett eltérő pontszám. A különböző szövettanászok által ugyanarról a mintáról kiadott Gleason-számok csak 43-78%-ban egyeztek. [118] Maga Donald F. Gleason is csak 50%-ban adta ugyanazt a besorolást ugyanazon mintával kapcsolatosan!

2005-ben az International Society of Urological Pathology (ISUP) újabb módosításokat eszközölt, az eredeti besoroláshoz hasonlóan, a PC sejtek differenciáltsága

alapján [119] Ezen módosítások szerint a Gleason-összeg összeadásában az első tag a daganatban leggyakoribb, második a második leggyakoribb sejtcsoportot jellemzi. Túbiopsziás mintában ez úgy módosul, hogy a legmagasabb pontszámok kerülnek rögzítésre, azok kiterjedésétől függetlenül - hiszen a túbiopsziás minta alapján ezek terjedelme nem határozható meg. Ennek alapján a radikális prosztatektómia és a prosztatabiopszia során nyert Gleason-pontszámok kevésbé feleltethetők meg egymásnak, az egyezést a vizsgálatok csak 28-68% közöttinek találták. A kétféle beavatkozás során nyert szövettani minták leletei közötti különbség ugyanakkor ezen kívül még számos okra vezethető vissza: ilyen lehet például a biopszia kiterjedésének korlátozottsága a biopsziás tű átmérője miatt. A biopsziás szúrás ugyanis nem szükségszerűen érinti a legmagasabb pontszámú tumoros területet, így a korábbi, biopsziás Gleason-összeg 3+3 a radikális prosztatektómiás anyagban észlelt Gleason-pontszám 4 esetén 3+4-re módosulhat. Kis kiterjedése miatt a mintavétel nem szükségszerűen tudja a daganatra jellemző sejtszerveződést sem bemutatni, ezért 24-60% arányban alábecsülik. Az overgrading (túlértékelés) sokkal ritkább: 5-32%-ban fordul elő. [120]

A Gleason 4 vagy annál alacsonyabb összeg létjogosultságát megkérdőjelezték, több okból. Nagyon ritkán észlelték ilyen jellemzőjű tumorok jelenlétét, azt is többnyire incidentális PC-k (vizeleti panaszok és nem daganat gyanúja miatt végzett transzuretrális prosztatareszekciók) szövettani vizsgálatokor. Ugyanakkor prosztatabiopszia mintáinak feldolgozásakor a Gleason-összeg 4-nél nem nagyobb eredményét a későbbi radikális prosztatektómia szövettani feldolgozása után leírt lelet többnyire felülmúlja. Ráadásul a 4-nél nem nagyobb Gleason-összeg mind a beteget, mind a kezelőorvost túl sokszor ringatta az “alig agresszív” PC tévhitébe.

A speciális formák külön pontszámot kaptak: a duktális adenokarcinoma Gleason-pontszáma 4, duktális adenokarcinoma komédó-nekrózissal Gleason 5, mucinózus karcinoma Gleason 4. Sem a szarkomatoid, sem a kissejtes karcinoma nem jellemezhető Gleason-számmal.

Az átdolgozásban megjelent a harmadlagos Gleason-szám: amennyiben az összeadásban a második tag a legmagasabb pontszámú területet jellemzi, a harmadik a második legnagyobb kiterjedésű sejtcsoport tulajdonságait reprezentálja. Úgy látszik továbbá, hogy a prosztatabiopsziás mintákban előforduló, különböző Gleason-számú területek kiterjedésének százalékos megjelölése is döntő jelentőségű a betegség prognózisa

szempontjából. Hasonlóképpen, amennyiben a jelölésük lehetővé teszi, az esetleges későbbi radikális prosztatektómia sikerességének megbecsüléséhez fontos az egyes szövettani minták (hengerek) esetében a Gleason-szám külön-külön való megadása. A revízió legfontosabb kérdése azonban a Gleason 3 meghatározásának beszűkülése és a 4-es definíciójának kiszélesítése volt. Az előbbi az “egyes sejtek” jellemzésére kizárta a 3-as pontszám azon követelményét, hogy “diszkrét, körülírt, infiltratív mirigyek, jól formált glanduláris lumennel” legyenek jelen és csak nagyobb ilyen jellegű sejtcsoport esetén engedi azt alkalmazni. Így a Gleason 3 megadhatósága, előfordulása jelentősen visszaszorult. [119] A nem ritkán látható cribriform jelleg viszont a korábbi 3-as helyett 4-es pontszámba sorolást indokol, illetve amennyiben a korábban Gleason 3-asnak minősített cribriform sejtek a normál prosztata sejtek méretét nem haladják meg, a high-grade prosztatikus intraepiteliális neoplázia elnevezés javasolt. A glomeruloid sejtstruktúra szintén a besorolás módosítását indokolta: a tapasztalatok szerint a korábbi 3-as helyett Gleason 4-essel kell minősíteni. A változások, a 3-as Gleason kiadhatóságának beszűkülése és a 4-es kibővülése, a Gleason-összegek úgynevezett megemelkedését, “migrációját” eredményezték. Ennek következtében az eddigi legsűrűbb előfordulásához képest sokkal ritkábban adunk meg Gleason 3 és sokkal gyakrabban 4-es pontszámot. A prosztatabiopsziás mintákon a Gleason-összeg 6 előfordulása 68%-ról 49%-ra csökkent, ugyanakkor a Gleason-összeg 7 gyakorisága 26%-ról 39%-ra emelkedett. [121]

A módosított pontrendszer alkalmazásával a prosztatabiopsziák és a radikális prosztatektómiák során eltávolított minták Gleason-számainak egyezése 58%-ról 72%-ra nőtt. Az egyezés azonban eltérő a különböző összegek esetén: 88% 3+4, 68% 4+3 és 28% 3+3 esetén. [122] A Gleason 4 új meghatározásával annak különböző patológusok általi reprodukálhatósága is emelkedett és egyazon mintát két független szövettanász által vizsgálva 80% körülire javult. Ugyanígy a Gleason-összeg 7 reprodukálhatósága 1994-ben 27% volt, míg a módosítás után 68%-ra nőtt. [123]

A módosítás legfontosabb következménye azonban a radikális prosztatektómiák eredményességének pontosabb megítélésében érhető tetten. Vizsgálatok igazolták, hogy a módosított Gleason-besorolás szerinti összeg és a radikális prosztatektómia utáni progresszió összefüggést mutat. [121] Napjainkban a leggyakrabban alkalmazott besorolás a Gleason-összeg 7-et tartja az agresszivitás válaszvonalának - tudniillik 7 alatt kevésbé, felette rosszabb prognózisú daganatról van szó. Tsivian és munkatársai azt találták, hogy a

módosítások után a Gleason-összeg 7 alá és fölé besorolásával a radikális prosztatektómiát követő rekurrencia erősebb összefüggést mutat, mint az eredeti Gleason-beosztás szerintivel. [124] Egy 454 transzuretrális reszekátumot és 347 túbiopsziát feldolgozó vizsgálat a módosított beosztás szerint lelevezve szignifikánsan magasabb grádusokat eredményezett. Így a korábban a sebészeti eredményességgel összefüggést nem mutató leletek az új Gleason-számok bevezetésével prognosztikai jelentőségűvé váltak. [125]

A módosítás óta eltelt idő hosszabbodtával egyre több követéses vizsgálat eredménye lát napvilágot. Ezek szerint a radikális prosztatektómia eredményességét előre vetítő patológiai stádium és a módosított Gleason-összeg is összefüggést mutat. A hagyományos besorolás szerint kapott Gleason-összeg 7 esetén a leggyakoribb a pT3 stádium volt (67%), a módosított besorolás szerint meghatározott Gleason-összeg 7 fennállásakor ez pT2 lett (54%). [126] Ezt a jelenséget stádium-migrációnak nevezik. A Gleason 3+4 tumorok 95%-a pT2 stádiumú, míg a 4+3 összegű daganatoknak már 79%-a pT4 stádiumba sorolható! A pT2 és pT4 túlélésében pedig drámai különbség mutatkozik. Ebből következőleg, az új besorolás nemcsak alkalmas, hanem egyre szélesebb körben alkalmazandó a PC várható prognózisához igazított kezelési formája kiválasztásában. Miközben a magas Gleason-összegű betegek esetében a vizsgálatok egyre inkább a radikális prosztatektómia túlélési előnyeit mutatják, az úgynevezett intermedier csoportban, vagyis Gleason-összeg 7 esetén az eredmények kétségesek. Onkora-radiológusok számára a Gleason-összeg 3+4 és 4+3 különbsége döntő a brachyterápia javallata szempontjából. Úgy tűnik, noha mindkét csoport jellemzője Gleason-összeg 7, a 3+4 csoport inkább az alacsony, míg a 4+3 a magas grádusú csoportnak felel meg. Ez a kezelés radikalitásának megítélése szempontjából bírhat jelentőséggel. [127]

Az ISUP-módosítás az eredeti Gleason-beosztáshoz hasonló módon a PC sejteinek felépítése és szöveti jellemzői alapján sorolja be a mintákat. Napjaink immuno-hisztokémiai eredményei eddig nem befolyásolták ezt a csoportosítást. Egy morfometrikus vizsgálat eredményei szerint a sejtmag jellemzői fontosak a PC nagyobb kockázatú csoportjának kiválasztásához. [128] Ennek megfelelően, a legnagyobb kórszöveti kihívást jelentő és a terápiát leglényegesebben befolyásoló Gleason 3 és 4 hatékonyabb elkülönítését célzó immuno-hisztokémiai vizsgálatok folynak napjainkban. Richardson és munkatársai IGBFB2 markert vizsgálva megállapították, hogy az a sejtek morfológiai jellemzőinél hatékonyabb eszköz lehet a Gleason 3 és 4 elkülönítésében. [129]

## 2. 6. A prosztatatacarcinóma molekuláris prognosztikai faktorai

A kutatások célpontjában jelenleg leginkább azok az akár hagyományos morfológiai jellemzők (például a Gleason-szám), akár újabb molekuláris alapokon nyugvó prognosztikai tényezők állnak, amelyekkel az életet nem befolyásoló PC-k a gyorsan áttéket adó, hamar kasztráció rezisztensé váló prosztatarákoktól elkülöníthetők. Napjainkban egyaránt jelen vannak a klinikai gyakorlatban már széles körben alkalmazott markerek és a kutatások tárgyát képezők.

A PC kórjóslatára eddig vizsgált biomolekuláris markerek többsége a sokféle sejtszintű folyamat (sejtciklus, sejthalál- és apoptózis, szignál transzdukció, sejt-adhézió és angiogenezis) szabályozói közül kerültek ki. Ezeken kívül számos gént és fehérjét vizsgálnak a PC prognózisának jelzőjeként és lehetséges terápiás eszközként. Ezek közül a leghangsúlyosabbak a tumor-specifikus fehérjékkel, hormonreceptorokkal, citokinekkal, onkogénekkkel és tumor-szupresszor génekkel végzett kutatások.

A sejtciklus G1-ből S-fázisba lépése szabályozának zavarai minden humán daganatban kimutathatók. A lépést a ciklin - ciklin-dependens kináz komplex átmeneti felhalmozódása és hiperfoszforillációs aktivációja szabályozza. Számos endogén ciklindependens kináz inhibítort vizsgáltak: ilyenek a p27Kip1, p21WAF1 és p16. Ezeken kívül az EZH2 (enhancer of zeste homolog 2), egy a sejt-proliferációban szereplő transzkripció-gátló jelenléte társul a biokémiai hiba gyakoribb előfordulásával. [130] A Ki-67-tel kifejezhetően fokozott sejt-proliferációs index gyakoribb biokémiai hibával jár mind radikális prosztatektómia, mind besugárzás után. További vizsgálatok kimutatták, hogy az emelkedett Ki-67-szint a rövidebb túlélés és a hamarabb jelentkező távoli áttétek független előrejelzője. [131]

Az apoptózist szabályozó markerek közül a p53 és Bcl-2 fehérje család kiemelendő. Stresszhatásra a p53 eredetileg alacsony expressziója fokozódik és transzkripció faktoraként viselkedve befolyásolja a sejtciklust, -differentiálódást, DNS-javítást, apoptózist és angiogenezist. A tumor-szupresszor gének közül a p53 előfordulása 13-23% PC-ben, ugyanakkor jelenléte agresszívabb biológiai viselkedést jelez. [132] A p53 gyakrabban mutatható ki metasztatikus PC-ben. A p53 fokozott expressziója a biokémiai hiba korábbi jelentkezésével társul, fokozott áttét-képződéssel, rövidebb



betegség-specifikus túléléssel. Az MDM2 onkoprotein a p53 lebontásának serkentésével az apoptózis gátlója. A magas MDM2 és a gyakoribb áttét-jelenlét között független és szignifikáns összefüggést találtak. [133] Az antiapoptotikus hatású Bcl-2 fokozott expressziója és a radikális prosztatektómiát követő biokémiai hiba fokozott előfordulása között kapcsolatot találtak, míg más vizsgálatok ugyanezt nem tudták megerősíteni sugárkezelt betegek esetén.

A szignál transzdukcióhoz társuló markerek közül az androgén receptor (AR) a legaktívabban vizsgált szereplő. Rajta kívül az epidermális növekedési faktor családba tartozó tirozin-kináz receptorok közül az EGFR és HER-2 áll az érdeklődés homlokterében. A vizsgálatok az AR fokozott expressziója és a radikális prosztatektómia utáni biokémiai hiba fokozott előfordulása között kapcsolatot igazoltak. Ugyanakkor, a HER-2-vel kapcsolatos eredmények ellentmondásosak: bizonyos vizsgálatok találtak kapcsolatot a HER-2 fokozott expressziója és a radikális prosztatektómiát követő biokémiai hiba fokozott előfordulása között, mások kizárták azt. [134]

Számos növekedési faktort vizsgáltak, közülük az epidermális növekedési faktort és receptorát a legrészletesebben. Szintje PC-ben magasabb, mint normál prosztataszövetben, de a magasabb grádusú daganatokban mégis csökkent expressziója észlelhető. Ugyanakkor a növekedési faktor receptorának fokozott expressziója észlelhető CR daganat esetén; ez a megfigyelés vezetett a fenti receptor gátlóinak (kis molekulású tirozin-kinázok) alkalmazásához a PC legújabb kemoterápiás protokolljában. [135] A fibroblaszt-növekedési faktor és a transforming-növekedési faktor- $\beta$  fokozott expressziója rosszabb prognózist jelez. [136]

A sejtadhéziós markerek közül az E-cadherinnel kapcsolatos a legtöbb vizsgálat. Ugyanakkor a radikális prosztatektómiával kezelt PC kimenetele és az E-cadherin expressziója kapcsolata tekintetében ellentétes kutatási eredmények láttak napvilágot.

A neo-angiogenesis nélkülözhetetlen a daganatok növekedése és áttét-képzése szempontjából. Ezt egyfelől a sejtadhéziós molekulák, másfelől a vaszkuláris endoteliális növekedési faktor-család elemei szabályozzák. Ezen markerek fokozott expressziója és a radikális prosztatektómiát követően magasabb arányban előforduló biokémiai hiba és a helyi progresszió között kapcsolatot igazoltak. [137] Egyes onkogének, mint a ras vagy myc és a PC prognózisa között nem találtak kapcsolatot.

A nomogramokkal való összevetésben: amikor a felhasznált klinikai adatok között a fenti biomarkerek is figyelembe vételre kerülnek, az eredmények ellentmondásosakká válnak - a fentiek csak radikális prosztatatektómia utáni prognózis levonására engednek következtetni. Mindösszesen két vizsgálat született abból a célból, hogy a PC prognózisa és a valamilyen biomarker segítségével “megerősített” nomogram kapcsolata megítélhető legyen. Az elsőben a transzforming növekedési faktor- $\beta$ -1 és az interleukin-6-receptor alkalmazásával a nomogram korábbi prediktív értéke 75%-ról 83%-ra emelkedett. [138] Másik vizsgálat a keringő plazminogén-aktivátor inhibitor-1 fokozott expressziója és a radikális prosztatatektómia utáni gyakoribb biokémiai hiba között talált kapcsolatot, nomogramba építve a markert, a preoperatív prediktív érték 6,5%-kal, a műtét utáni 2,7%-kal javult. [139]

A keringésben fellelhető PC-sejtek észlelése a molekuláris stádium-meghatározás célpontja. Noha a polimeráz láncreakcióval végzett vizsgálatok eredményei és a patológiai stádium között összefüggést találtak, a vizsgálatok szenzitivitása nem kielégítő. [140]

A tumor-specifikus prognosztikai markerek közül a fentebb részletesen bemutatott PSA-t vizsgálták leginkább, de prognosztikai alkalmazhatósága ellentmondásos, nem javasolt. [21] Vizsgálatunkban ezért csak a PC dignosztikájában és a terápia követésében alkalmaztuk, a nemzetközi irodalmi adatoknak megfelelően.

A CR prosztatarákban az IL-6 és IL-10 fokozott jelenléte igazolható. A szérumban mért IL-6-szint és a rosszabb prognózis összefüggését igazolták, [141] de a szöveti citokinek és a prognózis között nem találtak kapcsolatot.

Az eddig alkalmazott markerek diagnosztikai haszna, prediktív értéke és prognosztikai használhatósága azonban sajnos összekeveredik.

Az alábbiakban részletesen bemutatjuk az általunk vizsgált markereket.

## **2. 6. 1. p63**

A p63 nevű transzkripciós faktor a normál epitélium kialakulásában és differenciálódásában valamint az apoptózisban döntő jelentőségű, de tumor- és metasztázis szupresszorként is szerepel az irodalomban. A p63-pozitív sejteket a szokatlanul atrófiás citoplazma, ezért magas sejtmag/citoplazma arány és a bazaloid morfológia, hiperkromatikus mag jellemzi; szöveti felépítésük sajátossága a kis, infiltratív acinusok

jelenléte, apró góciókban. A p63 a sejtmagban festődik, a PC sejteiben nem a bazálsejtek rétegében, hanem a mirigysejtekben, úgynevezett nem-bazálsejtes megoszlásban. A PC-k egyik legfőbb jellegzetessége a bazálsejt-réteg elvesztése, de ez a kórszövettani jellemző más, jóindulatú mirigyekben is előfordulhat. Ezért a leginkább bazálsejtekre jellemző, p63-pozitív prosztata adenokarcinomák ritkák és atípusos kórszövettani megjelenésűek, ugyanakkor a bazálsejtes hiperpláziától és a többnyire a prosztata középső, tranzicionális zónájában megjelenő bazálsejtes karcinomától való elkülönítésük gyakran nehéz feladat elé állítja a patológust. Egy vizsgálat eredményei szerint a p63-pozitivitás miatt született fals-negatív szövettani leletek aránya 10% körüli. [142] Az elkülönítésben többnyire a csak PC-ra jellemző PSA-antigén expresszió van segítségünkre, ami negatív a p63-pozitív bazálsejtes karcinomában. A p63-pozitivitású daganatok előfordulása a PC-k között 0,3% alattira tehető. [143] A PC biológiailag agresszív viselkedése és p63-pozitivitása közötti kapcsolat ellentmondásos: az irodalom a p63-pozitív radikális prosztatektómiás anyagban a T2 (szervre lokalizált és nem előrehaladott) PC előfordulását 76-100% közöttinek találta. Giannico és munkatársai adatai szerint azonban a vizsgált 21 p63-pozitív eset többségének (12/21) Gleason-összege 8-9 és Ki67-expressziója alacsony. [144] Ugyanakkor a szokatlan megjelenésű p63-pozitív PC-k Gleason-szerinti besorolása is ellentmondásos.

## **2. 6. 2. Androgén-receptor**

Noha a PC jól reagál az androgén-megvonásra, a kezdeti hatékonyság után androgén-független viselkedésűvé - úgynevezett kasztráció-rezisztenssé válik. Az a priori CR sejtvonal szelekciós előnye érvényesül az AS sejtvonalhoz képest, az új viselkedésű daganat invazívabb és áttétképző képessége is fokozottabb, mint az androgén-szenzitív prosztataráknak. [129] Ugyanakkor megfigyelték, hogy az CR sejtekben is expresszálódik AR. [145, 146] Jóllehet a PSA kódolója AS gén, mégis a legtöbb CR prosztatarákban kimutatható. Ez a megfigyelés azt sugallja, hogy az AS-szignál által vezérelt folyamatok a CR sejtvonalakban is aktívak maradnak. Ennek számos magyarázata lehet: kezdve az AR hiperszenzitivitásával vagy az AR-ok mellékvesei eredetű androgénekre, továbbá nem-androgén jellegű szteroid-vegyületekre vagy akár anti-androgénekre adott fokozódó válaszkészségével, a helyi (intrakrín) androgén-képződésen át a citokinekre és növekedési faktorokra bekövetkező AR-aktiválódásig. [147] Az AR abnormalitások, mint például

annak mutációja vagy fokozott expressziója, vagy AR-szerű molekulák jelenléte (úgynevezett AR-kofaktorok) szintúgy az CR sejtvonalakban fennmaradó AR-funkciót okozhatnak. [148]

A hormon-receptorok közül logikusan az AR-t kutatják leginkább, de az AR-aktivitást nem találták a PC okozta halálozás független előre jelzőjének. [149] Az AR expressziója nagyon sokféle az egyes prosztatákban, amit genetikai sokfélesége és a kasztráció rezisztensé válás máig nem teljesen tisztázott folyamata magyarázhat. Az AR-génjének számos mutációját kimutatták a kasztráció rezisztensé válás során, de a betegség progressziójának előrejelzésére ezek eddig nem tűnnek alkalmasnak. Az AR transzkripció faktor, ami nemcsak a normál prosztatasejtek kialakulásában és növekedésében, hanem a PC sejteinek fejlődésében is szerepet játszik, sőt az androgén-megvonó kezelés dacára progrediáló PC-ben is kulcsszereplő. Számos állati és humán sejtvonalon végzett vizsgálat igazolta, hogy az AR expresszió és a primer- és áttétes PC progressziója összefügg. [150] A túlzott sejtmagi AR-expresszió PC kialakulásához vezet, ugyanakkor ez a folyamat számos részletében még tisztázatlan. Az tény, hogy AR hiányában vagy mutációjakor sem a prosztata nem fejlődik ki, sem PC nem tud kialakulni. Ennek előfutára volt Huggins és Hodges 1941-es felfedezése, ami később Nobel-díjat eredményezett, miszerint a herék eltávolítása a PC regressziójával jár. Sajnálatos módon az androgén-megvonás csak ideiglenesen hatékony és a PC alacsony androgén-szint mellett is progrediál, úgynevezett CR forma alakul ki.

Ugyanakkor kutatások azt is igazolták, hogy CR PC kialakuláskor az AR-ok nem veszítik el a szerepüket, sőt alacsonyabb androgénszint mellett érzékenységük és működésük fokozódik. A napjainkban alkalmazott anti-androgén kezelési formák, mint a GnRH-agonisták vagy anti-androgének, nem képesek a teljes AR-szignálút blokkolására. Számos magyarázat született az alacsonyabb androgén-koncentrációjú környezetben fokozódó AR-érzékenység magyarázatára. Ilyenek az AR-mutáció, melynek eredményeképp alacsonyabb androgén-szint vagy más endogén szteroidok is aktiválhatják; a fokozott AR expresszió, fokozott sejten belüli androgén-képződés vagy a tirozin-kináz szignálút túlműködése. Ezek egyben mind lehetséges támadáspontot jelentenek a CR PC kezelésében.

A klinikai gyakorlatban legszélesebb körben a betegség prediktoraként alkalmazott PSA termelődése AR-függő. A hormonmegvonó kezelés után a PSA csökkenésének

gyorsasága és mértéke alapján a prognózis előre jelezhető. Ugyanakkor a PSA emelkedése a CR formába való átalakulásnak is jelzője - ez az AR funkciójának megőrzését (fokozódását?) mutatja CR állapotban is. Vizsgálatok igazolták, hogy dacára az esetleges folyamatos további androgén-megvonásnak, az AR-aktiválta gének működése fokozódik. Laboratóriumi körülmények között, sejtvonalon igazolták, hogy az AR teljes kiiktatásával mind az AS, mind a CR daganatsejtek apoptózisa érhető el.

Az AR működésének fokozódása a CR formában egyes elképzelések szerint mutáció, mások szerint a kinázok szabályozta szignálút aktivizálódásának következménye. Az AR működését annak foszforilációjával számos protein-kináz befolyásolja, köztük például a p21-aktiválta kináz (PAK) tumor-szupresszor család tagjai. A normál prosztatasejtben az AR és a PAK együttesen a citoplazmában mutatható ki, ezzel szemben PC-ben az AR a sejtmagba transzlokálódik, ugyanakkor a citoplazmai AR és PAK együttes előfordulását nem igazolták. A tumor-szupresszor PAK a normál prosztatasejttel összevetve a primer és metasztatikus PC sejteiben is fokozottan expresszálódik, miközben az AR foszforilációját okozva annak expressziója mérséklődik. [151] Ugyanakkor a PC sejteinek citoplazmájában PAK hatására az AR kifejezettebben foszforilálódik és kevésbé transzlokálódik a sejtmagba, így az itteni PSA-expresszióra gyakorolt hatása csökken. [152] Az androgénekből aktivizálódó dihidro-tesztoszteron hatására bekövetkező AR sejtmagi transzlokációt tehát a PAK aktivitás gátolja és az AR proteáz-függő lebomlását fokozza. A citoplazmai PAK és AR-expresszió a PC grádusával fordítottan, a sejtmagi AR-expresszió a grádussal egyenes-, az agresszivitással fordított arányban változik. Ennek megfelelően a magas grádusú PC sejtmagját sok AR, citoplazmáját alacsony PAK és AR koncentráció jellemzi, míg PC agresszivitásával arányosan emelkedő AR-expresszióval a PAK fokozott jelenléte jár együtt. További érdekes megfigyelés, hogy mind primer, mind áttétes PC-ben a PAK expressziója fokozott. [151] A PAK egy általunk is vizsgált ko-aktivátora, a  $\beta$ -catenin ugyanakkor nem befolyásolta az AR expresszióját. [153]

A kináz-szignálút nemcsak az AR stabilizálódásában, hanem annak transzkripció aktivitásának fokozódásában is szerepet játszik. Így az alacsonyabb androgén-ligand koncentráció dacára, arra érzékenyebbé váló AR-t feltételeznek a vizsgálatok.

Androgén-megvonás mellett a szérum tesztoszteron-szint tizedére csökken, a prosztatai androgén-szint kevésbé, kb. 75%-kal mérséklődik. Ennek magyarázatát kereső vizsgálatok CR sejtekben az endogén tesztoszteron-képződés fokozódását mutatták.

Mindeközben a sejti AR-koncentráció fokozódik, egységes kutatói álláspont szerint ez a CR formák egységes jellemzője. Hasonlóan, a CR csoportra jellemző a tirozin-kinázok aktivitásának fokozódása, ezáltal az AR érzékenységének és stabilitásának növekedése. A kutatások eredményei a gyakorlatba is begyűrűztek: a CR PC kezelésére korábban alkalmazott, hepatotoxicitása miatt háttérébe szorult ketokonazol és az újabban bevezetésre került abirateron az endogén androgén-szintézis gátlói. A tirozin-kináz út gátlására a trastuzumabbal vannak kedvező előjelű vizsgálatok.

### **2. 6. 3. p27 és p21**

A sejtciklus szabályozók közül a Kip-családba tartozók (úgynevezett p21 és p27 fehérjék) a ciklus G1-ből S-fázisba jutását gátolják. A p27 a p21-hez hasonlóan a ciklin dependens kinázok aktiválásával fontos szereplője a sejtciklus szabályozásának. Ugyanakkor a mindketten a sejtosztódás gátlói. A p27 és p21 foszforilációja befolyásolja azok stabilitását, sejten belüli elhelyezkedését és ezen keresztül működését is. A p27 azonban nemcsak a sejtciklusban szerepel, hanem foszforilációs mechanizmussal a sejtek adhesiójában és migrációjában is. A p21-hez hasonlóan, foszforilációja után a citoplazmába jut, sejtciklust blokkoló hatása megszűnik, így a daganatsejtek proliferációját és migrációját okozza. [154] Ugyanakkor a p21-gyel együtt a sejtmagban ciklin-dependens kináz gátlás révén tumor-szupresszor hatású. A kutatások szerint a p21 fokozott expresszivitása hosszabb betegségmentes túlélést jelez. [155] Rigaud és munkatársai úgy találták, hogy a p21WAF1 fokozott expressziója a prognózis független jelzője. [156] A p27 csökkenő expressziója viszont rosszabb prognózis előrejelzője. [157] A korábbi vizsgálatok az alacsony p27KiP1 expressziót a radikális prosztatektómia után emelkedő PSA-val kifejezhető biokémiai hiba ("biochemical failure") jelzőjének találták. [158]

### **2. 6. 4. p16**

A p16 prognosztikai értékével kapcsolatos eredmények ellentmondásosak. A p16 a sejtciklus G1-S fázis-átmenetének szabályozója. PC-ben a p16 mutációja ritka. Két vizsgálatban, melyek során radikális prosztatektómia során eltávolított prosztatakat dolgoztak fel, azt találták, hogy az emelkedett p16 expresszió, összevetve a prosztata

hiperpláziás minták p16 expressziójával, a biokémiai hibában megnyilvánuló kedvezőtlen prognózis független jelzője. [159, 160]

Ezzel ellentétben, Chakravarti és munkatársai szerint az alacsony p16 expresszió összefügg a lokális progresszióval és távoli áttétek jelenlétével, továbbá a rövidebb betegség-specifikus túléléssel (az RTOG-8610-vizsgálatban a betegek goserelint és flutamidot kaptak a kuratív kezelést megelőzően). [161]

Korábban csak sejtvonalakon (és vizsgálatunkkal ellentétben nem humán sejteken!) végzett vizsgálatok igazolták, hogy az úgynevezett Bmi1 gén fokozott expressziója számos daganatban, köztük PC-ben is a daganat agresszivitásának és rosszabb prognózisának jele.

Hasonlóképpen: az áttétes PC sejteiben a Bmi1 pozitivitás kétszeresre nő és CR PC-ben is fokozódik. Ugyanakkor normál prosztatasejtben szignifikánsan alacsonyabb Bmi1 aktivitás mutatható ki. [162] A Bmi1 hatására az ismerten tumor szupresszor p16 expressziója csökken. [163] Korábbiakkal ellentétben, az alábbi vizsgálatok a p16 fokozott expresszióját találták a PC-s minták 43% [164], 65% [160] és 83%-ában [165]. A fenti vizsgálatokban a daganat Gleason-pontszámmal is kifejezett grádusa a p16 expresszióval egyenesen arányosnak, prognózisa az expresszióval fordítottan arányosnak bizonyult.

A p16 eltűnő expressziója a rosszabb prognózis és áttétképzés, radikális prosztatektómia után a korábbi relapszus előrevetítője.

A fenti vizsgálat szerint a p16 leginkább normál prosztataszövetben, kissé kevésbé AS PC-ben és szignifikánsan kevésbé CR PC-ben mutatható ki. A vizsgálatban viszont normál prosztataszövetben a Bmi1 fokozott expresszációval arányosan szignifikánsan csökkent a p16 expresszió, de PC-ben a markáns további csökkenés független volt a Bmi1-gén előfordulásától, vagyis PC-ben a p16 csökkenése a Bmi1 gén működésétől független folyamatnak látszik.

Vizsgálatok adatai igazolták, hogy a p16 citoplazmatikus expressziója az androgén-megvonással kezelt prosztatatarákokban a kezelés hatékonyságának fokmérője, de ugyanez jelen dolgozat megírásáig tisztázatlan CR PC-k esetén. [166]

## **2. 6. 5. $\beta$ -catenin**

A  $\beta$ -catenin a sejtkapcsolati ún. adherens jukciókat felépítő komplex molekula egyik építőköve. Az adherens jukciók nélkülözhetetlenek az epiteliális felszínnek

felépítéséhez és fennmaradásához. A  $\beta$ -catenin aktiváló mutációja a PC-k gyakori jellemzője. [167] A sejt-adhéziós molekulák közül az E-cadherin csökkenő expressziója magasabb tumor-grádussal és atípusosabb PC-sejtek felszaporodásával jár, tehát a rosszabb prognózis jele. Az E-cadherin és  $\beta$ -catenin interakciója is intenzív vizsgálatok tárgya: a  $\beta$ -catenin fokozott megjelenése a sejtmembránon E-cadherin interakciót eredményez, ennek során a  $\beta$ -catenin a sejtmagba jut és a rosszabb prognózis hátterében korábban kimutatott gének expresszáldását indítja el. [168] Egy másik sejt-adhéziós molekula, a CD44 csökkenő expressziója rosszabb prognózissal jár - jelenlétekor a radikális prosztatektómia után korai adjuváns kezelést javasolnak. [169]

## **2. 6. 6. HIF-1**

A hipoxia-indukált faktor-1 (HIF-1) döntő jelentőségű a hipoxiára és tumor-angiogenetikai jelre adott sejt- és szövetszintű válasz szabályozása szempontjából. A gyors szaporodásukkal és nagy energiaigényükkel lépést tartani nem tudó angiogenezisű daganatsejtek sokszor kerülnek oxigénhiányos környezetbe, ilyenkor a HIF-1 lebomlása csökken. A HIF-1 transzkripció faktorának a segítségével a daganat az oxidatív stressz, az androgén-megvonás, majd a kemoterápia vagy akár a sugárkezelés okozta sejtelhalás ellen védekezik, kezdetben hipoxia, majd a későbbiekben normoxiás körülmények között is. A HIF-1 alfa overexpressziója fokozza a PC-sejtek inváziós potenciálját a  $\beta$ -catenin szignálúton keresztül. [170] Vizsgálatok szerint a HIF-1 fokozott működése a PC magasabb Gleason-összeggel kifejezhetően agresszívabb, metasztatikus fenotípusának és androgén-függetlenné váló CR formájának jellemzője. A HIF-1-et overexpresszáló PC-k 9,8-szeres eséllyel adnak a környező szervekbe metasztatizist és kétszeres eséllyel képeznek távoli áttétet is, ezért a HIF-1 a metasztatikus forma biomarkereként általánosan elfogadott. [171]

A hipoxiás sejtek háromszor annyira ellenállóak a sugárkezelésre, mint normoxiás környezetben levő társaik - ezt a jelenséget is a HIF-1-gyel magyarázzák. Ezért a HIF-1 a sugárkezelést követő biokémiai hiba független prediktora. [172] A HIF-1 előfordulása és az AR-státusz összefügg, ugyanakkor az androgén-megvonás a marker expresszióját csökkenti. A HIF-1 fokozott expressziója a kasztráció-rezisztencia esélyét tízszeresére emeli az endoteliális növekedési faktor/her2 szignálúton keresztül. Mindezek mellett



nemcsak a kemoterápiás szerek PC-s sejtvonalakon való hatékonyságának csökkenése, hanem a kuratív kezelést követő biokémiai hiba korábbi jelentkezése is összefüggést mutat a HIF-1 túltermelődésével, így az a prognózis előrejelzője is. Ennek mentén terápiás célpontként való alkalmazásával is folyamatban vannak újabb kutatások.

## **2. 6. 7. Ki67**

Vizsgálatok kimutatták, hogy egy sejtciklus-gátló fehérje, a Kip1 (CDKN1B), működése leszabályozódik (“down-reguláció”) PC sejtekben a normál prosztatasejtekhez viszonyítva. A Ki67 egy nukleáris fehérjét kódol, amely nélkülözhetetlennek látszik a sejtproliferációhoz. prosztatákban a p27 (Kip1) expressziója csökken a Ki67 fokozódó expressziójával (“up-reguláció”) egyidőben. [173] Anti-androgén kezelés hatására a p27 (Kip1) aktiválódik - a hormonkezelés a PC sejteiben a Ki67 expressziójának fokozódásával jár. [174] Más kutatások a marker fokozott expresszióját az elsődleges terápia sikertelenségének előrejelzőjeként azonosították, még meglévő nyirokcsomó-áttétek esetén is. [175] Az irodalmi adatok szerint alacsony (5% alatti) Ki67-expresszió jellemzi a p63-pozitív benignus hiperpláziákat és a ritka p63-pozitív PC-kat, de 20% feletti Ki67-expresszió a bazálsejtes karcinómákat. [143]

## **2. 6. 8. MCM-2**

A minikromoszóma maintenance (MCM) család a genom replikációjának nélkülözhetetlen szabályozója: az S-fázisban az MCM-fehérje leválik a kromatinról, így az a sejtciklusba léphet. Nem osztódó vagy differenciált sejtekben nem mutatható ki az MCM jelenléte. Napjainkig csak néhány vizsgálat foglalkozott az MCM és PC kapcsolatával. A nem daganatos prosztataszövetben a bazális sejtréteg osztódó sejteiben lehet kimutatni az MCM jelenlétét. A PC jellemzője a bazális réteg elvesztése, másfelől a luminális epitéliumban szignifikánsan magasabb koncentrációban mutatható ki MCM, a daganatban aktivizálódó sejtciklus jeleként. Magasabb grádusú PC-ra nagyobb koncentrációjú MCM jellemző, ugyanakkor a marker előfordulása a patológiai stádiummal nem mutatott szignifikáns összefüggést. A vizsgálat igazolta, hogy az MCM-2 a radikális prosztatektómiát követő túlélés a korábbiaktól (PSA, tumor stádium) független prediktora.

[176] További megfigyelés, hogy az előzetes neoadjuváns kezelés (androgén megvonás) az MCM expresszióját nem befolyásolta.

## 2. 6. 9. Geminin

A geminin működésének vizsgálata szorosan kapcsolódik az MCM funkciójához. Élettanilag a geminin megakadályozza az MCM-fehérje pre-replikációs komplexbe épülését. prosztatákban a geminin-fehérje szintje magas, az aktivizálódó sejtciklus jeleként. Napjainkig azonban jelen dolgozat szerzőjének cikkén kívül mindösszesen egyetlen vizsgálat kutatta a geminin szerepét PC-ben. [176]

A mitogén-aktiválta protein-kináz család fontos szerepet játszik a sejtproliferáció és az apoptózis szabályozásában azzal, hogy számos transzkripciós faktor (például a c-Myc, c-Fos) aktivitását befolyásolja. Ezáltal a mitogén-aktiválta protein-kináz fokozott expressziója a PC sejteinek osztódását, növekvő motilitását és invázióját okozva metasztatikus PC-ra jellemző. Ezen kinázok jelenléte a fentiek miatt csontáttét korábbi jelentkezésével és kedvezőtlenebb prognózissal társul. A kinázok hatására az MCM a sejtciklus G-fázisában a kromatinba épül és az S-fázisba jutó sejt DNS-szintézisét segíti. Az MCM kromatinba épülésének gátlásával a geminin a folyamatot leállítja és a daganatra jellemző korlátlan sejtciklus-ismétlődést blokkolja. Fentiek alapján az MCM fehérjék az elsődleges diagnózis és a daganat prognózisa szempontjából egyaránt a standard proliferációs marker, a Ki67 érzékenységet felülmúló jelentőséggel bírhatnak.

A mitogén-aktiválta protein-kináz szabályozta szignálút aktivizálódását az MCM-2 és geminin fokozódó expressziója és a standard proliferációs marker, a Ki-67 up-regulációja kíséri. Normál prosztataszövetben az MCM-2, geminin és Ki-67 expressziója rendkívül alacsony, 2% alatti, ezért a sejt kilép az osztódási ciklusból és véglegesen differenciált stádiumába jut. PC-ben azonban, a sejtciklus újraindulásának jeleként, a fenti markerek szintje megemelkedik. [177] A Gleason-összeggel egyenes arányban (vagyis az agresszivitás fokozódásával) leginkább az MCM-2 (36,7%), majd sorrendben a Ki-67 (18,1%) és legkevésbé a geminin (3,4%) expressziója nő. Az MCM-2-pozitív sejtek számából a Ki-67-pozitívakat kivonva a sejtciklusba kerülő, de nem proliferáló sejtek arányát kapjuk, míg a Ki-67-pozitív sejtekből a geminin-pozitívak számát kivonva a G1-fázisba kerülő (osztódó) tumorsejtek aránya határozható meg - a vizsgálat szerint

szignifikáns összefüggésben a Gleason-összeggel. Ugyanakkor nem volt szignifikáns kapcsolat a PC stádiuma és az esetleges csontáttétek jelenléte, valamint az MCM-2, geminin vagy Ki-67 expresszió között. A túlélés vonatkozásában: hosszabb túléléssel az alacsonyabb MCM-2 és Ki-67 expresszió jár, de nem találtak szignifikáns összefüggést a túlélés és a geminin expressziója között. Ugyanakkor a sejtciklusba kerülő (de nem proliferáló - vagyis MCM-2 pozitívból a Ki-67 pozitívak kivonásával meghatározható) sejtpopuláció nagyobb arányú előfordulása rövidebb túlélést jelez. A túlélés legfontosabb prediktora tehát az MCM-2 jelenléte. Radikális prosztatektómiás anyagot vizsgálva hasonló eredményt kapunk: az MCM fokozott jelenléte rosszabb tumor-grádussal és hamarabb bekövetkező biokémiai hibával társul.

## **2. 6. 10. MGMT**

Az AR-metiláció a karcinogenezis fontos tényezője. A DNS kijavításában szereplő fehérje, az O6-metilguanin-DNS-metiltranszferáz (MGMT) az O6-metilguaninról távolít el egy metil-csoportot. Az MGMT-metiláció előfordulása érdekes módon magasabb BPH-ban, mint PC-ben (14,6% vs. 4,2%). Ugyanakkor daganatos szövetet vizsgálva, a promoter-AR metiláció gyakorisága magasabb CR prosztatarákban, mint az AS daganatos szövetben. [178] MGMT-gén kétszer annyi metilációt mutat CR sejtvonalban, mint AS sejtekben. Prognosztikai faktorként való vizsgálatára jelen dolgozat elkészültéig a miénken kívül nincs adat, noha terápiás célpontként való alkalmazásával biztató kezdeti eredményű kísérlet áll rendelkezésre. [179]

### 3. CÉLKITŰZÉSEK

A prosztatatarák kórjóslati tényezőivel foglalkozó vizsgálatainkat két különböző betegcsoporton végzett kutatás alkotja. Az első vizsgálatban a Gleason-összeggel kifejezhetően már a diagnózisukkor eltérő malignitású és ezért eltérő klinikai prognózisú PC-k és az egyes prognosztikai faktorok kapcsolatát vizsgáltuk. A második kutatás során a kezelésük során androgén-szenzitívből kasztráció rezisztensé súlyosbodó tumorok esetén értékeltük az előzőekben vizsgált és az újabb prognosztikai mutatókat. Tekintve, hogy a különböző vizsgálati csoportok alapvetően eltérnek, ezért a továbbiakban mind a célkitűzések, mind a módszerek, mind az eredmények címszó alatt külön bemutatva ismertetjük a vizsgálatokat.

I. Célunk a Gleason-összeggel kifejezhetően már a felfedezésükkor különböző prognózisú PC-k elkülönítésre alkalmas faktor felkutatása. Ennek során a következő kérdésekre reméltünk választ:

1. A Gleason-összeg alkalmas-e a PC prognózisára való következtetere?
2. Az androgén-receptor expressziója eltérő-e a különböző agresszivitású és prognózisú csoportokban?
3. A p21, p27 és p63 markerek expressziója különbözik-e az eltérő Gleason-összegű csoportokban?

Fenti kérdéseinkkel arra kerestük a választ, hogy a módosítások dacára is sokszor szubjektív és nehezen reprodukálható, valamint bizonyos csoportjaiban ellentmondásos prognosztikai értékű Gleason-pontszám helyett találunk-e másik, a prognózist jelző markert, illetve az AR megfelelő-e ilyen mutatónak?

II. Vizsgáltuk továbbá az előzőeken túl számos más, korábbi kutatások alapján szóba jövő prognosztikai faktor jelenlétét AS és CR prosztatatarákok szövettani anyagainak összehasonlításával. A CR forma kialakulását a klinikai gyakorlatnak megfelelően a progresszió egyértelmű jelének tekintettük.

1. Az előzőekben nem különböző AR-i expresszióban létrejön-e különbség az androgén-rezisztencia kialakulásával?
2. Az előzőekben különböző p27-expresszió összefügg-e az androgén-rezisztencia jelentkezésével kódolható progresszióval is?

3. A  $\beta$ -catenin, HIF-1 alfa, MCM-2, MGMT, Ki67 és geminin expressziójának változása együtt jár-e a progresszióval, a CR forma kialakulásával?

A CR PC-vá való elfajulás számos modelljét vizsgálták napjainkig. [146] Az eddigi vizsgálatok többnyire sejtvonalakon, xenograft modelleken és transzgenikus állatok vizsgálatával történtek és gyakran ellentmondásos eredménnyel zárultak. A mi vizsgálataink a korábbi kutatások betegszámaival összevethető számú, emberi PC-s szövetminták immuno-hisztokémiai analízisével történtek - nem egy vizsgált anyag esetén elsőként az irodalomban.

## 4. MÓDSZEREK

A daganatellenes kezelés hatékonyságát a PSA-szint jelzi, ennek meghatározásában az Amerikai Radiológiai és Onkológiai Társaság irányelvét vettük alapul. [180] Radikális prosztatektómia után a 3 egymást követően vett PSA nadírja (vagyis a kezelés során elért legalacsonyabb mért PSA-érték) 0,1 ng/ml-nél alacsonyabb kell hogy legyen, ellenkező esetben a szervezetben PC-sejtek jelenlétét kell feltételeznünk. A prosztata sikeres sugárkezelését követően azonban a PSA-nadír fokozatosan csökken: a kezeléstől eltelt idő függvényében - akár éveken át - az ideálisnak tartott 0,5 ng/ml-es érték alá. Az irányelv szerint az anti-androgén kezelést akkor tekintettük hatástalannak, ha a PSA növekedése 25%-ot meghaladó (de legalább 2 ng/ml) a nadírhoz vagy a terápia kezdetén mért alapértékhez képest. [181] Vizsgálatunkban a szövettani leletek kiértékelését ugyanaz a patológus végezte, az új, ISUP-féle módosított besorolás szerinti kritériumok alapján értékelve a prosztatabiopsziás mintákat.

Vizelési panaszok miatt prosztatarákos betegeken végzett transzuretrális prosztatareszekciók, prosztatarák miatti radikális prosztatektómiák és emelkedett PSA-érték miatt végzett prosztatabiopsziák során nyert szövettani mintákat dolgoztunk fel. A PC diagnózisát előzetes szövettani vizsgálat igazolta.

Az I. vizsgálatban 13 alacsony és 13 magas malignitású prosztatarákos kaukázusi férfi daganatos dűlmirigy mintáit vizsgáltuk. A betegeket aszerint csoportosítottuk, hogy daganatuk Gleason-összeggel jellemezve milyen differenciáltságú. A prosztatabiopsziás szövettani minták két csoportját eszerint alacsony (3+3 és 3+4) és magas (5+4, 5+5) Gleason-összegű daganatos minták alkották. Vizsgáltuk a p21, p27, p63 expresszióját és az AR megjelenését a Gleason-pontszámmal alacsony- és magas malignitásúnak minősített rák esetén. Tizenhárom-tizenhárom mintában vizsgáltuk a sejtciklus pozitív szabályozóinak (p21, p27), a normál prosztataszövet onkogenitására szereplő (p63) és növekedésében döntő funkcióval bíró (AR) faktorok jelenlétét a PC-k agresszivitásának függvényében. A biopsziák indikációjának felállítása és a kezelés követése a PSA szérumszintjének mérése alapján történt.

A prosztatabiopsziás mintákat 4%-os formalinban fixáltuk, majd paraffinba ágyasztuk. 5 mikrométer vastagságú szeletekre hasítás után hematoxilin-eozin festést alkalmaztunk és elvégeztük az immunoperoxidáz reakciókat: monoklonális egér

antitesteket a humán p21, AR (Dako, Glostrup, Dánia), p27 (Novocastra, Newcastle upon Tyne, Anglia) és p63 (BioGenex, San Reno, Kalifornia, USA) kimutatására, 1:100 hígításban és 37C-os hőmérsékleten. A TBS-bufferben (pH 6, Dako) paraffinmentesített minták antigénjeit/epitopjait 400W energiával 30 percig mikrohullámmal aktiváltuk. Az endogén peroxidáz-aktivitást metanol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-vel szüntettük meg. Az antitestek detektálásához ready-to-use En Vision Plusz torna-peroxidázzal 30 perces inkubációt végeztünk és a reakció eredményét DAB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kromogén-szubsztrát módszerrel hívtuk elő.

Az AR, p21, p27 és p63 előfordulását 1000 sejt vizsgálata során értékeltük. A tumorsejtet a fenti markerekre akkor tekintettük pozitívnak, ha legalább a sejtek 50%-a egyértelműen festődött, akár közepes intenzitással is.

A szérum PSA-értékeket mindkét vizsgálatunkban a Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar Központi Laboratóriumában kemilumineszcens immunoassay módszerével határozták meg (ARCHITECT, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA).

A második kutatásban az antiandrogén-kezelésre adott PSA-válasz alapján 9-9 kaukázusi férfiből álló AS és CR csoportot különítettünk el, a CR-sé váló formát a klinikai gyakorlattal összhangban rosszabb prognózisúnak tekintve. A csoportokban az AR, p21, p27, p16,  $\beta$ -catenin, HIF-1, MCM-2, geminin, MGMT és Ki67 expresszióját vizsgáltuk. A szövettani mintákat a CR csoportban vizeleési panaszok miatt végzett transzuretrális prosztatareszekciók során nyertük.

Számítógép-vezérelt TMA-Mastert (3DHISTECH, Budapest, Magyarország) alkalmaztunk az összesen 18 betegből nyert 31 formalin-fixált, paraffinba ágyazott PC-s szövetmintából készített 70, egyenként 2 mm átmérőjű minta szöveti mikro-assay vizsgálatára. A szöveti mikro-assay-k immunohisztokémiai vizsgálatát NovoLink módszerrel végeztük. A xylénnel paraffinmentesített és etanollal dehidrált minták endogén peroxidáz-aktivitásának gátlására 20 perces 3%-os hidrogén-peroxidos inkubációt alkalmaztunk. Az antigének felfedésére Trish-EDTA buffert (pH 9,0) használtunk túlnyomásos hevítéssel (40 perc, 100 Celsius fokon). 5%-os BSA-val való 20 perces TBS-ben való kezelés után, a minták mosását 2x5 percig TBS-ben végeztük és az optimálisan hígított antitesteket 16 órán át inkubáltuk.

A felszabadult primer antitesteket 3x5 perces TBS-sel való mosással távolítottuk el

és a mintákat a második antitesttel 30 percig inkubáltuk. Két további mosási folyamat után a mintákat 30 percig NovoLink polimerrel inkubáltuk, majd 2x5 percig TBS-sel mostuk. A peroxidáz aktivitást diaminobenzidin (DAB)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oldat 5-10 perces alkalmazásával jelenítettük meg. A sejtmagot hematoxilinnal tettük láthatóvá. Az utóbbi inkubációk szobahőmérsékleten zajlottak. (1. táblázat)

**1. táblázat.** Az alkalmazott antitestek és az immunohisztokémiai felhasználás jellemzői

Antitest	Alkalmazott hígítás	Antitest eredete	Antitest neve/klónja
β-catenin	1:150	Egér	LabVision/17C2
androgén receptor	1:200	Egér	BioSystem/AR441
p27	1:300	egér	NovoCastr/1B4
p21	1:150	egér	DAKO/SX118
p16	1:600	egér	LabVision/16PO7
MGM-T	1:200	egér	LabVision/MT3.1
MCM-2	1:200	egér	LabVision/CRCT2.1
Ki67	1:3	egér	DAKO/Mib1
HIF-1alpha	1:200	egér	LabVision/H1alpha67
geminin	1:150	egér	NovocCastr/EM6

Empirikus 4-lépcsős beosztású pontrendszert (0, +1, +2, +3) használtunk a kapott képek intenzitásának ábrázolására, miután Panoramic Scan és TMA Module softwerrel (mindkettő 3DHISTECH) digitalizáltuk az eredményeket.

Adatainkból két független csoportot képeztünk, az egyes betegek mintáiból 3 vizsgálatot végeztünk antitestenként és ezek átlagát vetettük össze, ennek során Mann-Whitney U-tesztet alkalmaztunk. A p-értéket 0,05 alatt tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.



## 5. EREDMÉNYEK

26 összevethető életkorú beteget választottunk be az első vizsgálatba; 13 volt alacsony és 13 magas Gleason-összegű. A 2. táblázatban feltüntetésre került a betegek életkora, PSA-értéke a diagnóziskor és utolsó alkalommal a kezelés során, utolsó kezelésük és hónapokban számolt túlélésük a biopszia után, TNM besorolásuk, Gleason-összegük és az immuno-hisztokémiai vizsgálatok eredménye az alacsony- és a 3. táblázatban pedig a magas malignitású PC-k esetén.

Az alacsony Gleason-összegű, 13 fős csoportban (3+3, 3+4) közepesen vagy extrém magas PSA-értékek vezettek a diagnózishoz. Átlagéletkoruk 70,38 év (60-80). 2 beteget (15%) veszítettünk el 18 és 20 hónappal a diagnózis után. 11 beteg (85%) élt átlagosan 35 (30-41) hónappal a diagnózis után. 5 beteg (38%) kapott az akkori kezelési irányelveknek megfelelően TAB-kezelést, 5 (38%) esetben radikális prosztatektómiát végeztünk, 1 (8%) beteg sebészi androgén-megvonást, 1 (8%) beteg anti-androgént és 1 beteg (8%) sebészi androgén-megvonást és anti-androgént kapott.

12 beteg (92%) AR-pozitív volt. A magas Gleason-összegű csoporttal egyezően, a p21 és p63 tekintetben a tumorok negatívak voltak, viszont p27 minden, a csoportba tartozó betegben pozitív volt.

A magas Gleason-összegű (4+5, 5+5) csoportban a biopszia végzésekor igen magas PSA-értéket találtunk, ami egy esettől eltekintve a kezelés során csökkent. A szövettani vizsgálat minden esetben adenokarcinómát igazolt, egyetlen esetben mucint termelő változatban (2. sorszámú beteg). Átlagéletkoruk 71,08 év (61-81). A 13-ból 5 beteg (38%) meghalt átlagosan 14,6 (3-28) hónappal a diagnózis után, 6 (47%) élt átlagosan 37 (31-47) hónappal a biopsziát követően, 2 betegről (15%) nem volt adatunk. 6 beteget (46%) kezeltünk az akkori kezelési irányelveknek megfelelően TAB-bal, 3-at (24%) radikális prosztatektómiával, ezt 1 betegen (8%) TAB és anti-androgén-kezelés, 1 betegen (8%) TAB, 1 betegen (8%) anti-androgén alkalmazása előzte meg. 3 beteg (24%) sebészi androgén-megvonásban részesült, 2 (15%) estramustint kapott. 1 betegen (8%) sebészi kasztrációt végeztünk, amit estramustinnal és csontáttétei miatt biszfoszfonáttal egészítettünk ki.

**2. táblázat.** Életkor (év), kezdő- és utolsó PSA (ng/ml), Gleason-összeg, TNM, eddigi kezelés és eredménye (túlélés hónapokban) és az immunohisztokémiai vizsgálatok eredménye alacsony Gleason-összegű PC-s betegeinknél

Beteg sorszáma	Kor	PSA a kezelés elején	Utolsó PSA	Gleason-összeg	TNM	Kezelés	Jelen állapot	AR	p21	p63	p27
1	78	39,4	0,0	3+3	T2bNx M0	anti-androgén, kasztráció	él, 37	+	-	-	+
2	65	12,7	0,0	3+3	T1cN0 M0	RP	él, 35	+	-	-	+
3	62	16,1	0,0	3+3	T2cN0 M0	RP	él, 41	-	-	-	+
4	71	131,4	3,7	3+4	T3aNx M1b	TAB	él (csont-metasztázis), 32	+	-	-	+
5	80	173,9	0,0	3+3	T3aNx M0	TAB	él, 38	+	-	-	+
6	60	25,5	1,6	3+3	T2aN0 M0	RP	él (helyi kiújulás), 30	+	-	-	+
7	68	102,9	11,2	3+4	T2bNx M0	TAB	él, 36	+	-	-	+
8	77	16,2	7,5	3+3	T2aNx M0	TAB	él, 40	+	-	-	+
9	68	50	2,7	3+4	T3bNx M1b	kasztráció	meghalt, 20	+	-	-	+
10	71	5,3	0,0	3+3	T2bN0 M0	RP	él, 31	+	-	-	+
11	83	14,5	0,1	3+3	T3aNx M0	TAB	meghalt, 18	+	-	-	+
12	76	148,1	0,3	3+3	T3bNx M0	anti-androgén	él, 31	+	-	-	+
13	56	4,6	0,8	3+3	T2cNx M0	RP	él, 35	+	-	-	+

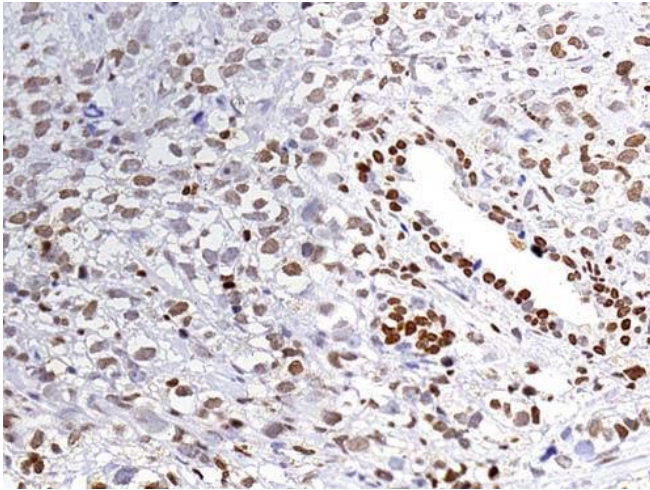
RP=radikális prosztatektómia, TAB=teljes androgén-blokád

**3. táblázat.** Életkor (év), kezdő- és utolsó PSA (ng/ml), Gleason-összeg, TNM, eddigi kezelés és eredménye (túlélés hónapokban) és az immunohisztokémiai vizsgálatok eredménye magas Gleason-összegű PC-s betegeinknél (na: nincs adat)

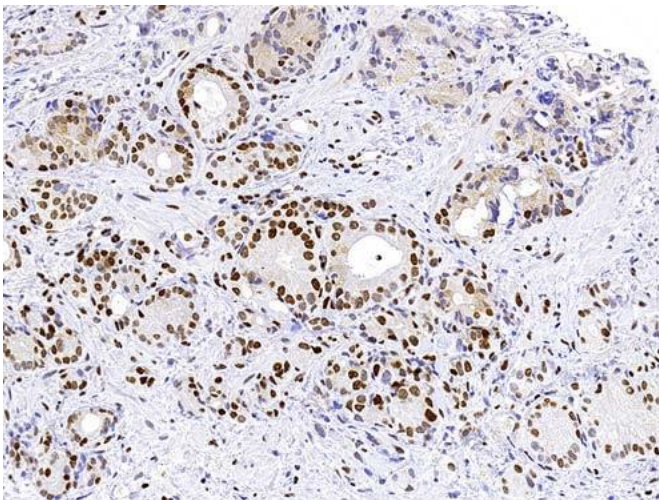
Beteg sorszáma	Kor	PSA a kezelés elején	Utolsó PSA	Gleason-összeg	TNM	Kezelés	Jelen állapot	AR	p21	p63	p27
1	77	15,6	7,6	5+5	T2cN0 M0	TAB	él, 42	+	-	-	+
2	78	500	92,4	4+5	T3aNx M1b	TAB	meghalt, 13	+	+	-	+
3	62	2116	504	4+5	T4Nx M1b	estramustin	meghalt 28	+	-	-	-
4	81	30,5	na.	5+5	T3aNx M0	kasztráció	na.	+	-	-	+
5	75	250	15,4	5+5	T3aN1 M1b	kasztráció, estramustin, biszfoszfonát	meghalt, 10	+	-	-	+
6	64	50	0,1	4+5	T2bNx M0	RP, bikalutamid, TAB	él, 37	+	-	-	-
7	61	17	0,0	5+5	T3aN0 M0	RP, TAB	él, 39	+	-	-	-
8	74	118	76	5+5	T2cNx M0	kasztráció	él, 37	+	-	-	+
9	64	27,1	0,3	4+5	T3bN0 M0	RP, bikalutamid	él, 36	+-	-	-	-
10	65	89	60	4+5	T2cNx M1b	estramustin	meghalt, 19	+	-	-	+
11	72	133	8,9	5+5	T2cNx M0	TAB	él, 31	+	-	-	-
12	74	1000	na.	4+5	T2cNx M0	kasztráció	na.	+	-	-	-
13	77	38	38	5+5	T2cNx M0	TAB	meghalt, 3	-	-	-	+

RP=radikális prosztatektómia, TAB=teljes androgén-blokád

A PC-sejtek egyetlen kivételtől eltekintve AR-pozitívak voltak. Az AR-negatív beteg 3 hónappal a biopszia után meghalt. Minden minta p63 negatív volt. P21 pozitivitást csak a mucint termelő adenokarcinómában láttunk. P63 pozitívítás a normál vagy hiperpláziás prosztata sejtekben mutatkozott, akár a tumor közvetlen környezetében is. P27 pozitívítás 7 esetben (54%) volt megfigyelhető. (1., 2. ábra)



**1. ábra.** Gyenge sejtmagi p27 pozitívítás 5+5 Gleason-pontszámú prosztatarák esetén

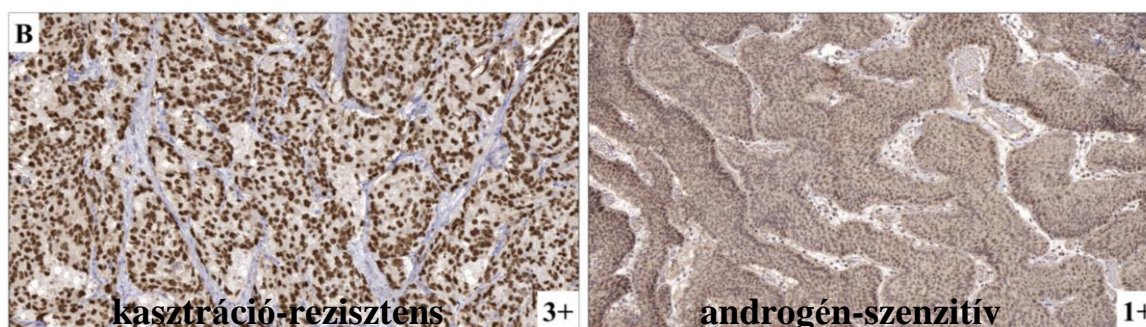


**2. ábra.** Erős sejtmagi p27 pozitívítás 3+4 Gleason-pontszámú prosztatarák esetén

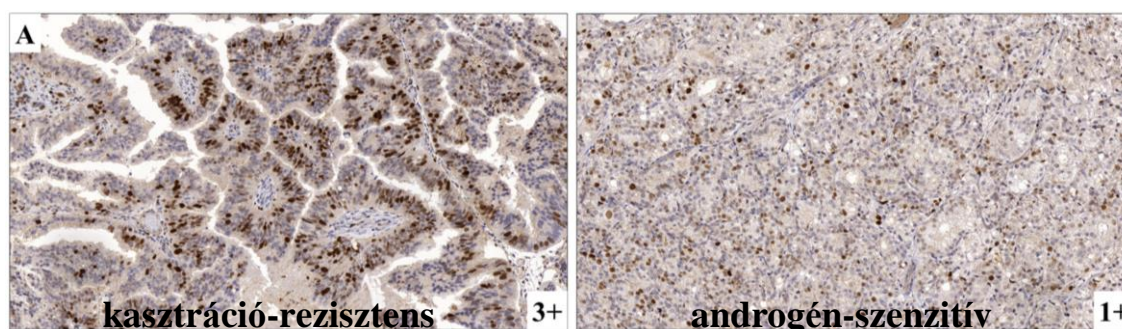
A második vizsgálatban kilenc beteg daganata volt androgén-szenzitív és kilencé kasztráció-rezisztens. Életkorukat, a kezelés során mért utolsó PSA-jukat, a vizsgálat

idejére jellemző kezelésüket, rájuk Gleason-összeggel kifejezhető malignitását, valamint az immunohisztokémiai vizsgálatok eredményeit mutatjuk be AS betegek esetén a 4. és CR betegek esetén a 5. táblázatban - utóbbiban az egyes korábbi, hatástalanná váló kezeléseket is feltüntetve. Az átlagéletkor (73,22 év (66-84) vs. 73,22 év (65-84)) megegyezett az AS és CR csoportban. Az átlagos Gleason-összeg sem volt eltérő ( $8 \pm 2$  vs.  $8,85 \pm 0,89$ , t-teszt,  $p=0,18$ ) a két csoportban. A PSA-szintek viszont szignifikánsan eltértek az AS és CR csoportban (sorrendben:  $5,38 \pm 13,1$  vs.  $87,31 \pm 120,72$ , t-teszt,  $p=0,03$ ), a CR PC definíciójának megfelelően. A 10 kiválasztott marker expressziójának vizsgálatához az 1. táblázatban felsorolt antitesteket alkalmaztuk minden AS és CR PC-s betegből 2-3 minta alkalmazásával. Az immunreakció intenzitását a klinikai adatokat nem ismerő patológus ítélte meg.

A statisztikai vizsgálat azt mutatta, hogy az MCM-2 és az AR szignifikánsan magasabban expresszálódik CR daganatokban az AS-ekhez képest (Mann-Whitney U-teszt,  $U=56$  vs.  $63,5$ ,  $z=1,9$  vs.  $2,03$ ,  $p=0,05$  vs.  $0,04$ ). (3., 4. ábra)

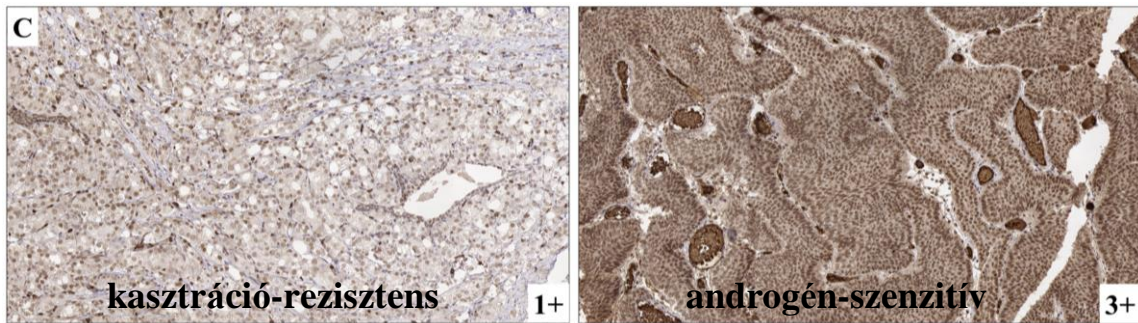


**3. ábra.** (B) Az androgén-receptor expressziójának különbsége CR és AS prosztatarák esetén



**4. ábra.** (A) Az MCM-2 expressziójának különbsége CR és AS prosztatarák esetén

A geminin expressziója szintén magasabb volt a CR PC-s mintákban, mint az AS-ekben (Mann-Whitney U-teszt,  $U=58,5$ ,  $z=1,58$ ,  $p=0,11$ ). Alacsonyabb MGMT-szinteket találtunk viszont CR prosztatarákban, mint AS-ekben (Mann-Whitney U-teszt,  $U=63,6$ ,  $z=2,03$ ,  $p=0,04$ ). (5. ábra)



**5. ábra.** (C) Az MGMT expressziójának különbsége CR és AS prosztatarák esetén

A hat további vizsgált fehérje (Ki67, p27, p21, p16,  $\beta$ -catenin, HIF-1 $\alpha$ ) immunfestése nem mutatott különbséget a két vizsgált csoportban. (4., 5. táblázat)

**4. táblázat.** Életkor (év), utolsó PSA-szint (ng/ml), Gleason-összeg, az alkalmazott kezelés és az immunhisztokémiai reakciók eredménye AS PC-s betegeinkben

Beteg sorszáma	Kor	PSA*	Gleason-összeg	Kezelés	$\beta$ -catenin	AR	p27	p21	p16	MGMT	MCM2	Ki67	HIF 1-alpha	Geminin
1	84	0,005	3+4	TAB	3	1	2	0	2	2	0	0	0	0
2	66	0,93	5+5	Kasztráció	3	2	1	0	0	2	0	1	0	0
3	72	0,2267	4+5	TAB	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
4	77	0,1	2+2	TAB	3	2	0	0	1	3	0	1	0	0
5	72	0,3	5+5	TAB	0	2	0	na	na	2	na	na	0	0
6	69	0,155	4+5	Prostata külső besugárzása+ TAB	3	3	3	0	1	3	0	na	0	0
7	76	0,001	3+4	Kasztráció	1	2	0	1	2	3	0	0	0	0
8	71	0,4	4+5	TAB	1	3	2	1	2	2	0	1	0	0
9	72	0,222	3+4	TAB	1	3	na	0	1	1	0	3	0	0

\*: terápiás érték:  $<1$  ng/ml, na: nincs adat, TAB=teljes androgén blokádnak

**5. táblázat.** Életkor (év), utolsó PSA (ng/ml), Gleason-összeg, eddigi kezelés és az immunohisztokémiai vizsgálatok eredménye CR PC-s betegeinkben

Beteg sorszáma	Kor	PSA*	Gleason-összeg	Kezelés	$\beta$ -catenin	AR	p27	p21	p16	MGMT	MCM2	Ki67	HIF-1-alpha	Geminin
1	74	34,73	4+5	TAB	2	3	1	0	1	0	0	0	0	0
2	67	19	4+5	Prostata külső besugárzása	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0
3	69	3,6	4+4	Radikális prosztatektómia	3	3	1	0	2	1	2	0	0	0
4	65	51	5+5	Kasztráció	3	3	2	0	1	1	0	0	0	0
5	82	52	4+4	TAB	2	3	2	1	1	1	3	2	1	2
6	67	98,87	5+5	TAB	2	3	1	0	1	1	2	3	0	2
7	84	11	5+5	TAB	3	3	0	1	2	3	0	0	0	0
8	74	19,8	4+5	TAB	3	3	3	0	1	1	2	1	0	1
9	77	84,6	3+5	TAB	3	2	2	0	0	1	2	2	0	1

\*: terápiás érték: <1 ng/ml, TAB=teljes androgén bloká

## 6. MEGBESZÉLÉS

Kezelése során a PC sok esetben progressziót mutat a kezdetben hatékonynak tűnő terápia ellenére. Magasabb Gleason-pontszám esetén agresszívabb betegség-lefolyásra kell számítanunk. Vizsgálatunk klinikai szakaszában a mindennapok gyakorlatának megfelelően a PSA emelkedését tekintettük a progresszió jelének és a magasabb Gleason-pontszám esetén gyorsabb progresszióra számítottunk, az immun-hisztokémiai vizsgálatok szakaszában az előzőekben kasztráció-rezisztensnek minősített rákokat soroltuk a progrediáló tumorok csoportjába.

A normál prosztatata epitélium-sejtekkel összevetve PC-ben számos gén expressziója változik. Ezek közül néhányan a szignál-transzdukcióban (c-myc, HER-2/neu), egyesek az apoptózisban (fas, bc-12) szerepelnek, többnyire up-reguláltak. Eközben a tumor szupresszor gének (p53, p27) expressziója csökken. A tumor szupresszorok ezen alacsonyabb expressziója, fokozódó apoptotikus és csökkenő proliferációs aktivitással, a PC kedvezőtlenebb kimenetelének prediktora. [182] Cordon-Cardo és munkatársai benignus prosztatata hiperplázia és PC esetén a p27kip1 expressziójában már 1998-ban különbséget írtak le. [158] Kísérletes vizsgálatok igazolták, hogy a kasztráció-indukálta atrófia csökkenő p27 expresszióval jár és az androgén-bevitel a p27 szintjét növeli. [183] A p27 tumor sejtvonalban befolyásolja a fokozott connexin-43 expresszió okozta növekedés-szabályozást. [184] Egy másik vizsgálat a p27 és p21 fehérjék fokozott előfordulását találta a sejtciklus fúziós fázisában maradó myoblaszt-sejtekben. [185] PC-ben a p27 fehérje elvesztése és a tumor grádusa közötti kapcsolat is ismert. [186] Kuczyk és munkatársai a PC-s beteg túlélése, valamint a PC rekurrencia-idejének hossza tekintetében a növekvő p27 expresszióinak pozitív prediktív értéket tulajdonítottak. [187] Másik vizsgálat prosztatákban a magasabb p21 és alacsonyabb p27 expressziót, mint kedvezőtlen prognosztikai faktort azonosította. [188]

A p63 nélkülözhetetlen a prosztatata kialakulásához és a prosztatatai bazálsejtekben szelektíven expresszálódik. Ugyanakkor p63 expresszió PC-ben nem mutatható ki. [189]

A sejtproliferációt gátló p21 hatása a ciklin-dependens kinázok gátlásán alapul, amelyek a tumor-promoterek expresszióját szabályozzák. [190] A p21 up-regulációja a myoblaszt differenciálódás, proliferáció és variabilitás fontos szereplője. [191] Az anti-androgén kezelés a p21 aktivitásának gátlását okozza. [192]



Első vizsgálatunk mintáinak egyikében sem észleltünk p63 aktivitást, ami egyezik a korábbi vizsgálati eredményekkel. [193] Hasonlóképpen, p21 sejtmagi pozitivitas sem volt észlelhető első vizsgálatunk anyagában, egyedül a mucint termelő adenokarcinomás mintában. A vizsgált minták döntő többségében (mindkét vizsgált csoportból összesen egyetlen eset kivételével) AR pozitivitást észleltünk.

Az alacsonyabb Gleason-összegű (kevésbé agresszív) és magasabb Gleason-összeggel jellemezhetően agresszívabb PC-k között, kizárva a nem expresszálódó fehérjéket, vagyis a p21-et és p63-at, jellemzően a p27 sejtmagi aktivitásában észleltünk különbséget, a két csoport között az AR expressziójában nem volt különbség. Csak 7/13 arányban (54%) fordult elő pozitív p27kip1-reakció a magasabb Gleason-összegű csoportban, de minden kevésbé agresszív tumorból vett minta pozitív volt p27 tekintetében, vagyis a p27 előfordulásának csökkenése a várhatóan rosszabb prognózis jelzője. A PSA-érték (akár a kezelés előtt, akár utána) nem mutatott összefüggést a p27 előfordulásával.

A kasztráció-rezisztens prosztatarákban az androgén-receptor túltermelődése (overexpressziója) az egyik leggyakoribb jellegzetesség. [194] Több vizsgálat is leírja az AR promoter metilációját 8-39%-os előfordulással a PC-s szövetben. A metiláló ágensek a karcinogenezis részei, de a DNS-javító MGMT fehérje eltávolítja a metil-gyököt. Az AR promoter metilációja magasabb a CR esetekben az AS PC-hoz viszonyítva. Az MGMT metilációja viszont széles határok között mozog (0-76%). Számos vizsgálat leírta, hogy a gének mutációja (pl. az MGMT-jé is) szerepet játszik a PC progressziójában. [195-198] Napjainkig egyetlen vizsgálat kutatta az AS és CR sejtek tekintetében azok metilációs állapotát. A szerzők 82 gén esetén találtak a normál prosztatasejtekkel összevetve kiterjedt metilációt és az MGMT génje kétszer annyi metilációt tartalmazott CR sejtvonalon, mint AS sejteken. Mások erős kapcsolatot találtak az MGMT metilációs állapota és az MGMT expresszálódásának PC-ben való elvesztése között. Az MGMT eszerint az agresszív PC-k lehetséges markere. [197] A mi vizsgálatunk ezzel ellentétben, alacsonyabb MGMT-expressziót talált CR PC-ben, mint az AS PC esetén.

Számos lehetséges mechanizmust azonosítottak, amelyek az androgén-szenzitív prosztatarák kasztráció-rezisztenségre progressziójában szereppel bírhat. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy az AR-expresszió emelkedik CR PC sejtekben, míg mások nem találtak kapcsolatot az AR-ok előfordulása és a progresszió között. Feldman és Feldman öt

lehetséges utat határozott meg, amelyek a CR-sé válásban döntőek lehetnek. [199] Ez a sokféleség nem meglepő, figyelembe véve a PC-k különbözőségét és az AR-okat érintő élettani és kórélettani folyamatok számosságát. Mindenesetre az androgén-AR szignál vezérelte sejszintű folyamatok a CR sejtekben is kulcsszereppel bírnak, az androgén-megvonás okozta alacsony androgén-szint dacára. Adataink megerősítik, hogy az AR-ok expressziója magasabb CR PC-ben, mint AS társaikban, ugyanakkor az első vizsgálat eredményei szerint a Gleason-összegetől az expresszió független.

A magasabb rendű eukariotákban a geminin a DNS-replikáció egyik legfőbb szabályozója. [200] A sejtciklus S-fázisában geminin jut a sejtmagba és meggátolja az MCM-komplex kromatinhoz kapcsolódását. A mitózis végén a geminin kiválik a sejtmagból és a következő G1-fázisig inaktív, így biztosítva a saját kromatinja és az MCM-komplex kapcsolódását. Több korábbi vizsgálat igazolta, hogy a korai onkogenezis szakaszában számos tumorban az MCM-fehérjék szabályozása sérül. Ráadásul az MCM-fehérjék, mint a sejtproliferáció biomarkerei, sikerrel alkalmazhatók a diagnózis, a tumor surveillance- és a prognózis meghatározása területén. prosztatákban az MCM-2 és a geminin-szintek magasak, de csak az MCM-2-t találták a túlélés független faktorának, a gemininnel ellentmondásos eredmények születtek. Ananthanarayanan és munkatársai az MCM-2 és Ki67 expresszióját 19 daganatban vizsgálták. Azt találták, hogy az MCM-2 és a Ki67 expressziója emelkedett a daganatokban a környező szövetekéhez képest. Ráadásul a grádussal az MCM-2 és Ki67-szint szignifikánsan emelkedett. [201] Más vizsgálatok az MCM-2-mintázatot kutatták normál prosztataszövetet és PC-t összevetve, és azt találták, hogy a radikális prostatektómia utáni betegségmentes túlélés független prediktív faktora az MCM-2 expressziója. Ezt az expressziót azonban nem befolyásolta az esetleges megelőző antiandrogén-kezelés. [202] Az irodalomban leírtakkal egyezően, a mi adataink szerint is az MCM-2 expressziója szignifikánsan magasabb volt CR PC esetén az AS PC-hoz képest. A geminin-szint szintúgy magasabb volt a CR esetekben, szemben a néhány korábbi tanulmány ellentmondásos eredményével.

A p27 (Kip1) és a Ki67 a sejtproliferáció és a DNS-károsodás hasznos markere. P27 (Kip1) down-regulálódik, miközben Ki67 up-regulálódik PC-ben. Ezen fehérjék expressziója és a tumor grádus és stádium között ismert a kapcsolat. [203]

A Ki67 expressziója a klinikailag szignifikáns PC-k kimutatásának egyik lehetséges eszköze. [204] Ki67 magasabb expresszióját találták metasztatikus PC-ben a

nem-metasztatikus daganathoz képest. [205] További irodalmi adatok szerint alacsony (5% alatti) Ki67-expresszió jellemzi a p63-pozitív benignus hiperpláziákat és a ritka p63-pozitív PC-kat, de 20% feletti Ki67-expresszió a bazálsejtes karcinómákat. [143] A prognózis szempontjából tekintve a Ki67 hatékonyságával ellentmondásosak az eredmények és többnyire csak az MCM-2-vel és gemininnel együtt értékelhetők.

Vizsgálatok szerint a p27(Kip1) expressziója emelkedett androgén-megvonással kezelt PC esetén az előzetesen androgén-megvonással nem kezelt daganathoz képest. Ennek alapján úgy gondolják, hogy az androgén-megvonás aktiválja a p27(Kip1)-et. Kutatások a p27 down-regulációját rosszabb prognózissal összefüggőnek észlelték. Második vizsgálatunk eredményei szerint a p27 előfordulása nem különbözött szignifikánsan AS és CR daganatokban, a Ki67 előfordulásával kapcsolatban eredményeink hasonlóak, mint másoknál, akik nem találták a prognózissal kapcsolatos következtetések levonására alkalmas markernek.

Egy korábbi vizsgálat úgy találta, hogy a p16 citoplazmatikus expressziója az antiandrogén-kezelés hatékonyságának független prediktora AS PC-ben, de nem CR daganat esetén. [166] A p16 alacsonyabb szintje a távoli áttétek valószínűségének szignifikáns jelzője. Egyre több adatunk van a p16-expresszió és az angiogenezis kapcsolatáról. Ezek az adatok a csökkenő p16 expresszió és a bármely tumortípusban megjelenő távoli áttétek összefüggését mutatják. [206] A p16 szintje egyes irodalmi adatok szerint alkalmas lehet az androgén-megvonó kezelés hatástalanságának előrejelzésére lokálisan előrehaladott PC esetén. [161]

Kudahetti és munkatársai vizsgálata [166] nem talált összefüggést a p21 előfordulása és akár az AS, akár a CR PC progressziója között. Másoknál a p21 átmeneti transzfekciója PC-s sejtvonalba gátolta az androgén-független in vitro proliferációt. [207] Ennek alapján a p21-et anti-apoptotikus aktivitásúnak találták és a sejtek túlélésében vitt kulcsszerepét valószínűsítik a DNS-t helyreállító folyamatokban. [208] Kezeletlen PC-ben a p21 expressziójának mértéke az AS forma CR-sé válásának előrejelzője [209] és az androgén-megvonással kezelt betegek túlélésének negatív prediktora. [210]

A mi immunohisztokémiai eredményeink szerint sem a p16, sem a p21 expressziója nem változik meg a CR PC-ben az AS PC-hoz képest.

A  $\beta$ -catenin mutációja gyakori jellemzője a prosztataráknak. [167] A  $\beta$ -catenin az AR kofaktora és az AR-szignálút stimulálója. [211] Korábbi vizsgálatok úgy találták, hogy

a  $\beta$ -catenin a PC progressziójában döntő jelentőségű. [212] Az AR- és  $\beta$ -catenin-szintek az AS és CR sejtek közötti különbségtétel indikátorai lehetnek. Egy 5 vizsgálatot és 500 beteget feldolgozó meta-analízis kimutatta, hogy a  $\beta$ -catenin szintje és a daganat grádusa fordítottan arányos, előrehaladott PC-ben és csontmetasztázisban alig mutatható ki. [213-217] Vizsgálatunk nem talált szignifikáns különbséget a  $\beta$ -catenin expressziójában az AS PC és a CR PC között.

A  $\beta$ -catenin szignálút aktiválódása okozza a HIF-1 $\alpha$  sejtbeli szintjének emelkedését, amiről ismert, hogy a PC-sejtek inváziós potenciáljának fokozója. A HIF-1 $\alpha$  a PC sejtek apoptotikus stressz-túlélő képességében is szereppel bír. Vizsgálat igazolta, hogy a növekedési faktor megvonása a normoxiás PC-sejtek HIF-1 $\alpha$  expressziójának fő oka. [218] A HIF-1 $\alpha$  agresszívabb metasztatikus fenotípusú PC-t okoz. [219] Vizsgálatunkban nem találtunk szignifikáns különbséget az AS és a CR PC HIF-1 $\alpha$  expressziójában. Úgy gondoljuk, hogy a fokozott HIF-1 $\alpha$  expresszió nem befolyásolja az AS PC-nek CR formájúvá alakulását.

A fenti sejtfolyamatok megértésükkel egy esetleges daganatellenes kezelés lehetőségét hordozzák. Jó példa erre a vizsgálatunkban is CR PC-ben szignifikánsan gyakrabban előforduló MGMT inaktivációjára kipróbált pszeudoszubsztrát inaktivátor lomeguatribbal folyó, biztató kezdeti eredményű kísérlet. [179] Ugyanakkor a CR PC-ben általunk sem gyakrabban előfordulónak talált HIF-1 terápiás célpontként való felhasználásával az eredmények ellentmondásosak. Emellett érdekes módon, a széles körű kardiológiai felhasználású digoxin és a cukorbetegség kezelésekor alkalmazott metformin a HIF termelésének gátlásával 25%-kal csökkent a PC előfordulását, beleértve az előrehaladott, CR forma megjelenését is. [171]

## 7. KÖVETKEZTETÉSEK

Tizenhárom alacsony (3+3 és 3+4) és tizenhárom magas (4+5, 5+5) Gleason-összegű prosztatatarákos mintában vizsgáltuk a p21, p27, p63 és AR expresszióját. Célunk az volt, hogy az eltérő Gleason-összeg alapján már felfedezésükkor különböző kórjóslatúnak tartott PC-k megkülönböztetésére alkalmas markert találjunk.

Immun-hisztokémiai eredményeink szerint a **p21 és p63 expresszió nem volt kimutatható** a mintákban. Adataink megfelelnek a korábbi irodalmi eredményeknek, a p63 jelenléte a PC-ra nem jellemző, a p21 pedig alkalmatlan a különböző agresszivitású PC-k közötti különbségtételre.

**Magas Gleason-összeggel jellemezhető PC-kban alacsonyabb p27 expressziót észleltünk.** Vizsgálatunk eredményei szerint a Gleason-összeggel jellemezhetően eltérő agresszivitású PC-s csoportok között **az AR expresszióban nem volt különbség.**

*A már kórismézésükkor eltérő malignitású PC-k közötti különbségtételre a p21, p27, p63 és AR közül egyedül a p27 bizonyult megfelelőnek: expressziója a malignitással fordítottan arányos.*

Kilenc androgén-szenzitív és kilenc kasztráció-rezisztens prosztatatarákos mintában 10, az onkogenezisben és a PC progressziójában esetlegesen szereppel bíró, részben az előző vizsgálatba is bevont fehérje expresszióját vizsgáltuk.

Immunohisztokémiai eredményeink szerint 3 vizsgált fehérje (**minichromosome maintenance-2, metilguanin-DNS metiltranszferáz és AR**) expressziója **különbözött szignifikánsan az AS és CR PC-k között**, miközben a 7 másik vizsgált fehérje (úgy mint  **$\beta$ -catenin, p27, p21, p16, Ki67, hypoxia-inducible factor-1 alpha és geminin**) expressziója **nem különbözött szignifikánsan** a két csoportban. Úgy gondoljuk, hogy *a minichromosome maintenance-2, a metilguanin-DNS metiltranszferáz és az androgén receptor a kasztráció-rezisztens alakulás indikátorai: az MCM-2 és AR expressziója a progresszióval egyenes arányban, az MGMT expressziója fordítottan arányos.*

A két vizsgálat összevetésével arra következtettünk, hogy a felfedezésükkor különböző Gleason-összegű PC-kra jellemző szignifikánsan eltérő p27- és nem különböző AR-expresszió *a progresszió során változik: a p27 előfordulásának különbsége megszűnik az AS és CR csoportok összevetésében, míg az AR expressziójának*

*fokozódását észleljük CR mintákban az MCM-2 expressziójának fokozódása és az MGMT expressziójának csökkenése mellett.*

A vizsgálati eredmények azt sugallják, hogy **a Gleason-összeg egyedüli faktorként a prognózis megítélésére nem alkalmas.**

Napjainkra számos vizsgálati eredmény látott napvilágot a PC-ben zajló fehérje-expresszió változásairól. Ezek a vizsgálatok azonban normál és daganatos prosztataszövetet hasonlítottak össze. Vizsgálatunk célja alacsony és magas Gleason-összegű-, illetve AS és CR prosztatarákos mintákban egy korábban a PC-kben már vizsgált fehérjeegyüttes expressziójának összehasonlítása volt. Fontos ezen fehérjék szerepének értelmezése mind a prosztatai onkogenezisben, mind az AS-ből CR-sé válás folyamatában. Amennyiben a rosszabb prognózisú PC-k kiválasztása hatékonyabb lesz, illetve a PC CR-sé válásának folyamata jobban átláthatóvá válik, a túlkezelések csökkenése remélhető és a hatékony terápia új távlatai nyílhatnak meg. A fenti markerek szabályozta patológiai folyamatok jobb megértése emellett lehetővé teheti újabb, hatékony daganatellenes szerek kifejlesztését.

## 8. ÖSSZEFOGLALÁS

A prosztatatarák a férfiakban leggyakrabban előforduló rosszindulatú daganat és a második vezető daganatos halálok. Az orvos számára a legnagyobb kihívások egyike a szükséges és ugyanakkor elégséges kezelés felismerése. A mindennapi klinikai gyakorlatban a rektális tapintás és -képlakotók leletét, a PSA-szintet és a Gleason-számot felhasználó nomogramokat hoztak létre a progresszió megbecslésére. Ugyanakkor napjainkig nem áll rendelkezésre olyan tumor-marker, ami a lassú lefolyású PC-t előre mutatná és a PC prognózisának jelzője lehetne. Megpróbáltunk a PC prognózisa szempontjából szóba jövő markereket találni. Célunk új, prognosztikai és preditív értékkel bíró markerek vizsgálata volt. Első vizsgálatban alacsony (3+3 és 3+4) és magas (5+4 és 5+5) Gleason-összegű betegek prosztatapiopsziás mintáin vizsgáltuk a sejtciklus-szabályozó p21(waf1/cip1) és p27(kip1), az onkogén p63 és AR megjelenésének eltéréseit a progresszió tekintetében. Egy kivétellel a normál prosztatai bazálszövetre jellemző p63 és p21(waf1/cip1) nem volt kimutatható a daganatos mintákban, viszont a p27(kip1) fehérje jelen volt az összes alacsony Gleason-összegű PC-ben, de a magas pontszámúakban csak 7/13 arányban (54%). Az alacsony Gleason-pontszámúból magassá progrediáló PC esetén a p27(kip1) leszabályozódása fontos jele a sejtciklus feletti ellenőrzés elvesztésének. Második kutatásunkban androgén-szenzitív és kasztráció-retisztens prosztatatarákos mintákban 10 kiválasztott, az onkogenezisben és a PC progressziójában esetlegesen szereppel bíró fehérje expresszióját vizsgáltuk. Immunohisztokémiai eredményeink szerint 3 vizsgált fehérje (minichromosome maintenance-2, metilguanin-DNS metiltransferáz és AR) előfordulásában volt szignifikáns különbség az AS és CR PC-k között, miközben a 7 másik vizsgált fehérje (úgy mint  $\beta$ -catenin, p27, p21, p16, Ki67, hypoxia-inducible factor-1 alpha, and geminin) expressziója nem különbözött. Úgy gondoljuk, hogy a minichromosome maintenance-2, metilguanin-DNS metiltransferáz és az AR a CR-sé alakulás indikátora. Kutatásunkat fontosnak tartjuk azért is, mert a prognosztikai faktorként szóba jövő, általunk is vizsgált molekuláris markerek egyfelől új terápiás lehetőségek célpontjai lehetnek, másfelől a kezelésre adott daganatos választ is előre jelezhetik.

## 9. SUMMARY

PC is the most common cancer and the second-leading cause of death from cancer in men. The challenge for the physician who treats patients with PC is to advise effective treatment in those for whom treatment is necessary. Nomograms which use prostate digital- and radiological examination's results, PSA and Gleason-score have been developed to predict progression in clinical practice. But presently, no tumor marker can identify indolent tumors with certainty and predict the prognosis. Our target was the identification of new molecular markers with prognosis and predictive potential. The aim of our first study was to investigate biopsies of patients suffering from prostate adenocarcinoma of low (3 + 3 to 3 + 4) and high (5 + 4 to 5 + 5) Gleason scores were immunostained for positive regulators of cell cycle control (p21(waf1/cip1) and p27(kip1)), and essential markers of normal prostate gland ontogeny (p63) and growth (AR) to find differentially expressed markers of malignant progression. All cases except one p63 and p21(waf1/cip1) proteins detected in normal basal cell nuclei were lost in all but one studied tumors. P27(kip1) protein was detected in all low Gleason score PCs, but it was found in only 7/13 (54%) high score cases. The low to high grade dedifferentiation of PC is accompanied with the down-regulation of p27(kip1) protein, which may be an important molecular sign of the lost cell cycle control. In our second study, we investigated AS and CR PC samples to evaluate the expression levels of 10 selected proteins that have been implicated in oncogenesis and cancer progression. Our immunohistochemical data show that 3 of the investigated proteins (i.e., MCM-2, MGMT, and AR) are expressed at significantly different levels in the CR cancer samples than in the AS tumors, whereas the expression levels of the 7 other studied proteins (i.e.,  $\beta$ -catenin, p27, p21, p16, Ki67, HIF-1 alpha, and geminin) are not significantly different regarding the two groups. Our data suggest that the increased expression of MCM-2 and decreased expression of MGMT related to androgen receptor are indicative of the CR stage in PC. Our study was important, because our examined molecular markers have the potential to serve not only as prognostic factors but may be targets for new therapeutic strategies and predictors of response in a range of cancers.



## 10. IRODALOMJEGYZÉK

- [1]: Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. (2010) Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*, 60(5):277-300.
- [2]: Boring CC, Squires TS, Tong T. (1993) Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 43:7-26.
- [3]: Sakr WA, Haas GP, Cassin BF, Pontes JE, Crissman JD. (1993) The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia (PIN) of the prostate in young males. *J Urol*, 150:379-385.
- [4]: Cannon L, Bishop DT, Skolnick M, Hunt S, Lyon JL, Smart CR. (1982) Genetic epidemiology of prostate cancer in the Utah Mormon genealogy. *Cancer Surv*, 1:47-69.
- [5]: Spitz MR, Currier RD, Fueger JJ, Babaian RJ, Newell GR. (1991) Familial patterns of prostate cancer: a case control analysis. *J Urol*, 146:1305-1307.
- [6]: Boring CC, Squires TS, Tong T. (1991) Cancer statistics, 41:19.
- [7]: Baquet CR, Horm JW, Gibbs T, Greenwaid P. (1991) Socioeconomic factors and cancer incidence among blacks and whites. *J Natl Cancer Inst*, 83:551-557.
- [8]: Rakity SI, Chisholm GD, Skeet RG. (1979) Social class and carcinoma of the prostate. *Brit J Urol*, 51:393-396.
- [9]: Cheekoway H, DiFerninando G, Hulka BS, Mickey DD. (1987) Medical, life-style, and occupational risk factors for prostate cancer. *The Prostate*, 10:79-88.
- [10]: Ghanadian R, Puah KM, O'Donohue EPM. (1979) Serum testosterone and dihydrotestosterone in carcinoma of the prostate. *Brit J Cancer*, 39:696-699.
- [11]: Habib FK. (1980) Evaluation of androgen metabolism studies in human prostate cancer – Correlation with zinc levels. *Prev Med*, 9:650-656.
- [12]: Drafta D, Proca E, Zamfir V, Schindler AE, Neacsu E, Store E. (1982) Plasma steroids in benign prostatic hypertrophy and carcinoma of the prostate. *J Steroid Biochem*, 17:689-693.
- [13]: Meikle AW, Smith JA, Stringham JD. (1987) Production, clearance, and metabolism of testosterone in men with prostatic cancer. *The Prostate*, 10:25-31.
- [14]: Ross RK, Bernstein L, Judd H, Hanisch R, Pike M, Henderson BE. (1986) Serum testosterone levels in healthy young black and white men. *J Natl Cancer Inst*, 76:45-48.

- [15]: Ross RK, Bernstein L, Lobo RA, Shimizu H, Stanczyk FZ, Pike M, Henderson BE. (1992) 5-alpha-reductase activity and risk of prostate cancer among Japanese and US white and black males. *The Lancet*, 339:887-889.
- [16]: Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, Briers E, Cumberbatch MG, De Santis M, Fossati N, Gross T, Henry AM, Joniau S, Lam TB, Mason MD, Matveev VB, Moldovan PC, van den Bergh RC, Van den Broeck T, van der Poel HG, van der Kwast TH, Rouvière O, Schoots IG, Wiegel T, Cornford P. (2017) EAU-ESTRO-SIUG Guidelines on Prostate Cancer. *Eur Urol*, 71(4):618-629.
- [17]: Kovi J. *Surgical Pathology of Prostate and Seminal Vesicles*. CRC PRESS Inc., Boca Raton, Florida, 1989.
- [18]: Scardino PT, Weaver R, Hudson MA. (1992) Early detection of prostate cancer. *Hum Pathol*, 23:211-222.
- [19]: Koss LG, Suhrland MJ. (1993) Atypical hyperplasia and other abnormalities of prostatic epithelium. *Hum Pathol*, 24:817-818.
- [20]: Schmid HP, McNeal JE, Stamey TA. (1993) Observations on the doubling time of prostate cancer as measured by serial prostate-specific antigen in untreated patients with prostate cancer. *Cancer*, 15;71(6):2031-40.
- [21]: Walsh PC, Donker PJ. (1982) Impotence following radical prostatectomy. Insight into etiology and prevention. *J Urol*, 128:492.
- [22]: Eggleston JC, Walsh PC. (1985) Radical prostatectomy with preservation of sexual function: pathological findings in the first 100 cases. *J Urol*, 134: 1146-1157.
- [23]: Zinke H, Utz DC, Thule PM, Taylor WF. (1987) Treatment options for patients with stage D1 (T0-3, N1-2, M0) adenocarcinoma of prostate. *Urology*, 30:307.
- [24]: Link P, Freiha FS, Stamey TA. (1991) Adjuvant radiation therapy in patients with detectable prostate specific antigen following radical prostatectomy. *J Urol*, 145:532-534.
- [25]: McGowan DG. (1981) The value of extended field radiation therapy in carcinoma of the prostate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 7:1333-1339.
- [26]: Kwong EW, Huh SH, Noblet MP, Smith HS. (1984) Intra-operative Iodine-125 prostate implant following bilateral pelvic lymphadenectomy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 10:665-670.
- [27]: Nag S. (2004) High dose rate brachytherapy: its clinical applications and treatment guidelines. *Technol Cancer Res Treat*, 3(3):269-87.

- [28]: Pistenma DA, Ray GR, Bagshaw MA. (1976) The role of megavoltage radiation therapy in the treatment of prostatic carcinoma. *Sem Oncol*, 3:115-122.
- [29]: Garnick MB, Prout GR jr, Canellos GP. Cancer of the prostate. *Cancer Medicine*, 2nd ed. Holland, J. F., Frei, E. III., Eds. Lea & Febiger, Philadelphia, 1982:1912.
- [30]: Paulson DF, Lin GH. (1982) Radical surgery vs. radiotherapy for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol*, 128:502.
- [31]: Szende B, Romics I, Vass L. (1993) Apoptosis in prostate cancer after hormonal treatment. *Lancet*, 4;342(8884):1422.
- [32]: Byar DP. VACURG studies on prostatic cancer and its treatment. *Urologic Pathology: The Prostate*. Tannenbaum, M., Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1977:241.
- [33]: Raynaud JP, Bonne C, Moguilewsky M. (1984) The pure antiandrogen RU 23908 (Anandron), a candidate of choice for the combined antihormonal treatment of prostatic cancer: a review. *Prostate*, 5:299-311.
- [34]: Lund F, Rasmussen F. (1988) Flutamide versus stilboestrol in the management of advanced prostatic cancer. A controlled prospective study. *Brit J Urol*, 61:140.
- [35]: Stamey TA, Warrington JA, Caldwell MC, Chen Z, Fan Z, Mahadevappa M, McNeal JE, Nolley R, Zhang Z. (2001) Molecular genetic profiling of Gleason grade 4/5 prostate cancers compared to benign prostatic hyperplasia. *J Urol*, 166:2171-2177.
- [36]: Porkka KP, Visakorpi T. (2001) Detection of differentially expressed genes in prostate cancer by combining suppression subtractive hybridisation and cDNA library assay. *J Pathol*, 193:73-79.
- [37]: Mechan KL, Holland JW, Dawkins HJ. (2002) Proteomic analysis of normal and malignant prostate tissue to identify novel proteins lost in cancer. *Prostate*, 50:54-63.
- [38]: Labrie F, Dupont A, Belanger A. (1985) Long term treatment with luteinizing hormone agonists and maintenance of serum testosterone to castration concentrations. *Brit Med J*, 291:369-370.
- [39]: Hadaschik BA, Gleave ME. (2007) Therapeutic options for hormone-refractory prostate cancer in 2007. *Urol Oncol*, 25:413-9.
- [40]: Sridhara R, Eisenberger MA, Sinibaldi VJ, Reyno LM, Egorin MJ. (1998) Evaluation of biomarkers of survival response in hormone-refractory prostate cancer patients treated with suramin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 7(7):631-4.

- [41]: Eisenberger MA, Walsh PC. (1999) Early androgen deprivation for prostate cancer? *N Engl J Med*, 341:1837-1838.
- [42]: Ryan CJ, Small EJ. (2003) Role of secondary hormonal therapy in the management of recurrent prostate cancer. *Urology*, 62:87-94.
- [43]: Eisenberger MA, Simon R, O'Dwyer PJ, Wittes RE, Friedman MA. (1985) A reevaluation of nonhormonal cytotoxic chemotherapy in the treatment of prostatic carcinoma. *J Clin Oncol*, 3:827-841.
- [44]: Tannock IF. (1985) Is there evidence that chemotherapy is of benefit to patients with carcinoma of the prostate? *J Clin Oncol*, 3:1013-1021.
- [45]: Eisenberger MA. (1988) Chemotherapy for prostate carcinoma. *NCI Monogr*, 7:151-63.
- [46]: Könyves I. (1989) Estramustine phosphate (Estracyt) in the treatment of prostatic carcinoma. *Int Urol Nephrol*, 21(4):393-7.
- [47]: Tannock IF, Osoba D, Stockler MR, Ernst DS, Neville AJ, Moore MJ, Armitage GR, Wilson JJ, Venner PM, Coppin CM, Murphy KC. (1996) Chemotherapy with mitoxantrone plus prednisone or prednisone alone for symptomatic hormone resistant prostate cancer: a Canadian randomized trial with palliative end points. *J Clin Oncol*, 14:1756-1764.
- [48]: Kantoff PW, Halabi S, Conaway M, Picus J, Kirshner J, Hars V, Trump D, Winer EP, Vogelzang NJ. (1999) Hydrocortisone with or without mitoxantrone in men with hormone refractory prostate cancer: Results of the cancer and leukemia group B 9182 study. *J Clin Oncol*, 17:2506-2513.
- [49]: Tannock IF, de Wit R, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, Oudard S, Théodore C, James ND, Turesson I, Rosenthal MA, Eisenberger MA; TAX 327 Investigators. (2004) Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med*, 351:1502-1512.
- [50]: Petrylak DP, Tangen CM, Hussain MH, Lara PN Jr, Jones JA, Taplin ME, Burch PA, Berry D, Moinpour C, Kohli M, Benson MC, Small EJ, Raghavan D, Crawford ED. (2004) Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *N Engl J Med*, 351:1513-1520.
- [51]: Horgan AM, Seruga B, Pond GR, Alibhai SM, Amir E, De Wit R, Eisenberger MA, Tannock IF. (2014) Tolerability and efficacy of docetaxel in older men with metastatic

castrate-resistant prostate cancer (mCRPC) in the TAX 327 trial. *J Geriatr Oncol*, 5(2):119-26.

[52]: Petrylak DP, Ankerst DP, Jiang CS, Tangen CM, Hussain MH, Lara PN Jr, Jones JA, Taplin ME, Burch PA, Kohli M, Benson MC, Small EJ, Raghavan D, Crawford ED. (2006) Evaluation of prostate specific antigen declines for surrogacy in patients treated on SWOG 9916. *J Natl Cancer Inst*, 98:516-521.

[53]: Armstrong AJ, Garrett-Mayer E, Ou-Yang YC, Carducci MA, Tannock I, de Wit R, Eisenberger M. (2007) Prostate specific antigen and pain surrogacy analysis in metastatic hormonerefractory prostate cancer. *J Clin Oncol*, 25:3965-3970.

[54]: Armstrong AJ, Tannock IF, de Wit R, George DJ, Eisenberger M, Halabi S. (2010) The development of risk groups in men with metastatic castration resistant prostate cancer based on risk factors for PSA decline and survival. *Eur J Cancer*, 46:517-525.

[55]: Armstrong AJ, Garrett-Mayer E, de Wit R, Tannock I, Eisenberger M. (2010) Prediction of survival following first line chemotherapy in men with castration resistant metastatic prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 16:203-211.

[56]: Small E, Demkow T, Gerritsen WR. A phase III trial of gVaX immunotherapy for prostate cancer in combination with docetaxel versus docetaxel plus prednisone in symptomatic, castration resistant prostate cancer. *Proceedings Genitourinary Cancer Symposium, Orlando, Fl, 2009 february 2628, (suppl; abstr 7)*.

[57]: Scher HI, Jia X, Chi K, de Wit R, Berry WR, Albers P, Henick B, Waterhouse D, Ruether DJ, Rosen PJ, Meluch AA, Nordquist LT, Venner PM, Heidenreich A, Chu L, Heller G. (2011) Randomized, open label phase III trial of docetaxel plus high dose calcitriol versus docetaxel plus prednisone for patients with castrationresistant prostate cancer. *J Clin Oncol*, 29: 2191–2198.

[58]: Patel JN, Jiang C, Hertz DL, Mulkey FA, Owzar K, Halabi S, Ratain MJ, Friedman PN, Small EJ, Carducci MA, Mahoney JF, Kelley MJ, Morris MJ, Kelly WK, McLeod HL. (2015) Bevacizumab and the risk of arterial and venous thromboembolism in patients with metastatic, castration-resistant prostate cancer treated on Cancer and Leukemia Group B (CALGB) 90401 (Alliance). *Cancer*, 121(7):1025-31.

[59]: Sternberg CN, Petrylak DP, Sartor O, Witjes JA, Demkow T, Ferrero JM, Eymard JC, Falcon S, Calabrò F, James N, Bodrogi I, Harper P, Wirth M, Berry W, Petrone ME, McKearn TJ, Noursalehi M, George M, Rozencweig M. (2009) Multinational, double-

blind, phase III study of prednisone and either satraplatin or placebo in patients with castrate refractory prostate cancer progressing after prior chemotherapy: The sPaRC trial. *J Clin Oncol*, 27:5431-5438.

[60]: de Bono JS, Oudard S, Ozguroglu M, Hansen S, Machiels JP, Kocak I, Gravis G, Bodrogi I, Mackenzie MJ, Shen L, Roessner M, Gupta S, Sartor AO; TROPIC Investigators. (2010) Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised openlabel trial. *Lancet*, 376:1147-1154.

[61]: de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A, Fizazi K, North S, Chu L, Chi KN, Jones RJ, Goodman OB Jr, Saad F, Staffurth JN, Mainwaring P, Harland S, Flaig TW, Hutson TE, Cheng T, Patterson H, Hainsworth JD, Ryan CJ, Sternberg CN, Ellard SL, Fléchon A, Saleh M, Scholz M, Efstathiou E, Zivi A, Bianchini D, Loriot Y, Chieffo N, Kheoh T, Haqq CM, Scher HI; COU-AA-301 Investigators. (2011) Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med*, 364:1995–2005.

[62]: Tomlins SA, Mehra R, Rhodes DR, Cao X, Wang L, Dhanasekaran SM, Kalyana-Sundaram S, Wei JT, Rubin MA, Pienta KJ, Shah RB, Chinnaiyan AM. (2007) Integrative molecular concept modeling of prostate cancer progression. *Nat Genet*, 39:41-51.

[63]: Szende B, Lübben T, Romics I, Vass L. (1996) Apoptosis különböző malignitási fokú, kezeletlen és hormonkezelt prosztatarákokban. *Magy Onkol*, 40:170-171.

[64]: Pienta KJ, Smith DC. (2005) Advances in prostate cancer chemotherapy: a new era begins. *Ca Cancer J Clin*, 55:300-318.

[65]: Kavallaris M. (2010) Microtubules and resistance to tubulinbinding agents. *Nat Rev Cancer*, 10:194-204.

[66]: Zhu MI, Horbinski CM, Garzotto M, Qian DZ, Beer TM, Kyprianou N. (2010) Tubulin targeting chemotherapy impairs androgen receptor activity in prostate cancer. *Cancer Res*, 70:7992-8002.

[67]: Seruga B, Ocana A, Tannock IF. (2011) Drug resistance in metastatic castration resistant prostate cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 8:12-23.

[68]: Trédan O, Galmarini CM, Patel K, Tannock IF. (2007) Drug resistance and the solid tumor microenvironment. *J Natl Cancer Inst*, 99:1441-1454.

[69]: Brown JM, Wilson WR. (2004) Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nat Rev Cancer*, 4:437-447.

- [70]: Beer TM, Myrthue A. (2006) Calcitriol in the treatment of prostate cancer. *Anticancer Res*, 26:2647-2651
- [71]: Beer TM, Ryan CW, Venner PM, Petrylak DP, Chatta GS, Ruether JD, Redfern CH, Fehrenbacher L, Saleh MN, Waterhouse DM, Carducci MA, Vicario D, Dreicer R, Higano CS, Ahmann FR, Chi KN, Henner WD, Arroyo A, Clow FW; ASCENT Investigators. (2007) Double-blinded randomized study of high-dose calcitriol plus docetaxel compared with placebo plus docetaxel in androgen-independent prostate cancer: a report from the AsCeNT Investigators. *J Clin Oncol*, 25: 669-674.
- [72]: Bok RA, Halabi S, Fei DT, Rodriquez CR, Hayes DF, Vogelzang NJ, Kantoff P, Shuman MA, Small EJ. (2001) Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor urine levels as predictors of out come in hormone refractory prostate cancer patients: a Cancer and leukemia group B study. *Cancer Res*, 61:2533-2536.
- [73]: Picus J, Halabi S, Kelly WK, Vogelzang NJ, Whang YE, Kaplan EB, Stadler WM, Small EJ. (2011) A phase 2 study of estramustine, docetaxel, and bevacizumab in men with castrate resistant prostate cancer: Results from Cancer and leukemia group B study 90006. *Cancer*, 117:526-533.
- [74]: Pfizer: Pfizer Discontinues Phase 3 Trial of sUTeNT in advanced CastrationResistant Prostate Cancer. <http://pfizer.mediaroom.com/index.php?s=5149&item=14036>.
- [75]: Ning YM, Gulley JL, Arlen PM, Woo S, Steinberg SM, Wright JJ, Parnes HL, Trepel JB, Lee MJ, Kim YS, Sun H, Madan RA, Latham L, Jones E, Chen CC, Figg WD, Dahut WL. (2010) Phase II trial of bevacizumab, thalidomide, docetaxel, and prednisone in patients with metastatic castration resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*, 28:2070-2076.
- [76]: Oh WK, Tay MH, Huang J. (2007) Is there a role for platinum chemotherapy in the treatment of patients with hormone refractory prostate cancer? *Cancer*, 109:477486.
- [77]: Pivot X, Koralewski P, Hidalgo JL, Chan A, Gonçalves A, Schwartzmann G, Assadourian S, Lotz JP. (2008) A multicenter phase II study of XRP6258 administered as a 1h i.v. infusion every 3 weeks in taxane resistant metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol*, 19:1547-1552.
- [78]: Agarwal N, Sonpavde G, Sartor O. (2011) Cabazitaxel for the treatment of castration-resistant prostate cancer. *Future Oncol*, 7:15–24.
- [79]: Seruga B, Tannock IF. (2011) Chemotherapy-based treatment for castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*, 29(27):3686-94.

- [80]: Attard G, Reid AH, A'Hern R, Parker C, Oommen NB, Folklerd E, Messiou C, Molife LR, Maier G, Thompson E, Olmos D, Sinha R, Lee G, Dowsett M, Kaye SB, Dearnaley D, Kheoh T, Molina A, de Bono JS. (2009) Selective inhibition of CYP17 with abiraterone acetate is highly active in the treatment of castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*, 27:3742–3748.
- [81]: Reid AH, Attard G, Danila DC, Oommen NB, Olmos D, Fong PC, Molife LR, Hunt J, Messiou C, Parker C, Dearnaley D, Swennenhuis JF, Terstappen LW, Lee G, Kheoh T, Molina A, Ryan CJ, Small E, Scher HI, de Bono JS. (2010) Significant and sustained anti-tumor activity in post-docetaxel, castration-resistant prostate cancer with the CYP17 inhibitor abiraterone acetate. *J Clin Oncol*, 28:1489–1495.
- [82]: Pal SK, Sartor O. (2011) Phase III data for abiraterone in an evolving landscape for castration-resistant prostate cancer. *Maturitas*, 68:103–105.
- [83]: Watson PA, Chen YF, Balbas MD, Wongvipat J, Socci ND, Viale A, Kim K, Sawyers CL. (2010) Constitutively active androgen receptor splice variants expressed in castration-resistant prostate cancer require full-length androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107:16759–16765.
- [84]: Vishnu P, Tan WW. (2010) Update on options for treatment of metastatic castration resistant prostate cancer. *Onco Targets Ther*, 3:39–51.
- [85]: Tran C, Ouk S, Clegg NJ, Chen Y, Watson PA, Arora V, Wongvipat J, Smith-Jones PM, Yoo D, Kwon A, Wasielewska T, Welsbie D, Chen CD, Higano CS, Beer TM, Hung DT, Scher HI, Jung ME, Sawyers CL. (2009) Development of a second-generation antiandrogen for treatment of advanced prostate cancer. *Science*, 324:787–790.
- [86]: Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, Sternberg CN, Miller K, de Wit R, Mulders P, Chi KN, Shore ND, Armstrong AJ, Flaig TW, Fléchon A, Mainwaring P, Fleming M, Hainsworth JD, Hirmand M, Selby B, Seely L, de Bono JS; AFFIRM Investigators. (2012) Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med*, 27;367(13):1187-97.
- [87]: Kolodziej M, Neubauer MA, Rousey SR, Plueneke RE, Perrine G, Mull S, Boehm KA, Ilegbodun D, Asmar L. (2006) Phase II trial of docetaxel/capecitabine in hormone-refractory prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer*, 5:155–161.
- [88]: Fizazi K, Yang J, Peleg S, Sikes CR, Kreimann EL, Daliani D, Olive M, Raymond KA, Janus TJ, Logothetis CJ, Karsenty G, Navone NM. (2003) Prostate cancer cells-



osteoblast interaction shifts expression of growth/survival-related genes in prostate cancer and reduces expression of osteoprotegerin in osteoblasts. *Clin Cancer Res*, 9:2587–2597.

[89]: Logothetis C, Tu SM, Navone N. (2003) Targeting prostate cancer bone metastases. *Cancer*, 97(3 Suppl):785–788.

[90]: Smith MR. (2005) Selective estrogen receptor modulators to prevent treatment-related osteoporosis. *Rev Urol*, 7(Suppl 3):30-35.

[91]: Fizazi K, Albiges L, Massard C, Escudier B, Lortol Y. (2012) Novel and bone-targeted agents for CRPC. *Ann Oncol*, 23(Suppl10):264-267.

[92]: Norum J, Traasdahl ER, Totth A, Nieder C, Olsen JA. (2015) Health Economics and Radium-223 (Xofigo®) in the Treatment of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer (mCRPC): A Case History and a Systematic Review of the Literature. *Glob J Health Sci*, 30;8(4):1-9.

[93]: Etzioni R, Penson DF, Legler JM, di Tommaso D, Boer R, Gann PH, Feuer EJ. (2002) Overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: lessons from U.S. prostate cancer incidence trends. *J Natl Cancer Inst*, 3;94(13):981-90.

[94]: Amin MB, Lin DW, Gore JL, Srigley JR, Samarasinghe H, Egevad L, Rubin M, Nacey J, Carter HB, Klotz L, Sandler H, Zietman AL, Holden S, Montironi R, Humphrey PA, Evans AJ, Epstein JI, Delahunt B, McKenney JK, Berney D, Wheeler TM, Chinnaiyan AM, True L, Knudsen B, Hammond ME. (2014) The critical role of the pathologist in determining eligibility for active surveillance as a management option in patients with prostate cancer: consensus statement with recommendations supported by the College of American Pathologists, International Society of Urological Pathology, Association of Directors of Anatomic and Surgical Pathology, the New Zealand Society of Pathologists, and the Prostate Cancer Foundation. *Arch Pathol Lab Med*, 138(10):1387-405.

[95]: Klotz L. (2013) Active surveillance for prostate cancer: overview and update. *Curr Treat Options Oncol*, 14(1):97-108.

[96]: Ross JS, Jennings TA, Nazeer T, Sheehan CE, Fisher HA, Kauffman RA, Anwar S, Kallakury BV. (2003) Prognostic factors in prostate cancer. *Am J Clin Pathol*, 120 Suppl:S85-100.

[97]: Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond ME. (2000) Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*, 124(7):995-1000.

- [98]: Romics I. (1998) A prosztatatarák prognosztikai tényezői (Az 1998-as Noszkay emlékelőadás alapján). *Magy Urol*, 10:103-109.
- [99]: Rubin MA, Bassily N, Sanda M, Montie J, Strawderman MS, Wojno K. (2000) Relationship and significance of greatest percentage of tumor and perineural invasion on needle biopsy in prostatic adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*, 24(2):183-9.
- [100]: Herman CM, Wilcox GE, Kattan MW, Scardino PT, Wheeler TM. (2000) Lymphovascular invasion as a predictor of disease progression in prostate cancer. *Am J Surg Pathol*, 24(6):859-63.
- [101]: Partin AW, Pound CR, Clemens JQ, Epstein JI, Walsh PC. (1993) Serum PSA after anatomic radical prostatectomy. The Johns Hopkins experience after 10 years. *Urol Clin North Am*, 20(4):713-25.
- [102]: Christensson A, Björk T, Nilsson O, Dahlén U, Matikainen MT, Cockett AT, Abrahamsson PA, Lilja H. (1993) Serum prostate specific antigen complexed to alfa-1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol*, 150:100.
- [103]: Fornara P, Sturm W, Fabricius PG, Schmiedt E. (1987) Klinische Relevanz der radioimmunologischen Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) beim Prostatakarzinom. *Urologie (A)*, 26:158.
- [104]: Okotie OT, Roehl KA, Han M, Loeb S, Gashti SN, Catalona WJ. (2007) Characteristics of prostate cancer detected by digital rectal examination only. *J Urology*, 70(6):1117-20.
- [105]: Romics I, Galamb L. (1992) Changes in prostate-specific antigen and prostatic acid phosphatase concentration following prostatic examination in benign prostatic hypertrophy and prostate cancer patients. *Eur Urol*, 21:83.
- [106]: Stamey TA. (1990) Die Rolle des prostataspezifischen Antigens bei der Diagnose und Behandlung des Prostataadenokarcinoms. *Urologie (A)*, 29:52.
- [107]: Hammerer P, Huland H. (1991) Zur Diagnostic des lokalisierten Prostatakarzinoms: Screening und praeoperatives staging. *Urologie (A)*, 30:378.
- [108]: Loch, T. Klinische Bedeutung von RT, PSA und TPS für die Früherkennung des Prostatakarzinoms. DGU Kongress, 1992.
- [109]: Partin AW, Yoo J, Carter HB, Pearson JD, Chan DW, Epstein JI, Walsh PC. (1993) The use of prostate specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage in men with localized prostate cancer. *J Urol*, 150(1):110-4.

- [110]: Siddal JK, Cooper EH, Newling DW, Robinson MR, Whelan P. (1986) An evaluation of the immunochemical measurement of prostatic acid phosphatase and prostatic specific antigen in carcinoma of the prostate. *Eur Urol*, 12:123.
- [111]: Keetch DW, McMurtry JM, Smith DS, Andriole GL, Catalona WJ. (1996) Prostate specific antigen density versus prostate specific antigen slope as predictors of prostate cancer in men with initially negative prostatic biopsies. *J Urol*, 156(2 Pt 1):428-31.
- [112]: Romics I, Frang D, Bodrogi I. (1997) Significance of examination of prostate-specific antigen and prostate-specific antigen density in patients with prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Int Urol Nephrol*, 29(4):449-55.
- [113]: Walz PH, Schoppmann T, Büscher C, Ennen J, Schriewer H. (1992) Influence of prostatic disease and prostatic manipulations on the concentration of prostate-specific antigen. *Eur Urol*, 22:20.
- [114]: Mikolajczyk SD, Marker KM, Millar LS, Kumar A, Saedi MS, Payne JK, Evans CL, Gasior CL, Linton HJ, Carpenter P, Rittenhouse HG. (2001) A truncated precursor form of prostate-specific antigen is a more specific serum marker of prostate cancer. *Cancer Res*, 61(18):6958-63.
- [115]: Sokoll LJ, Wang Y, Feng Z, Kagan J, Partin AW, Sanda MG, Thompson IM, Chan DW. (2008) [-2]proenzyme prostate specific antigen for prostate cancer detection: a national cancer institute early detection research network validation study. *J Urol*, 180(2):539-43.
- [116]: Gleason DF. (1966) Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep*, 50(3):125-128.
- [117]: Gleason DF, Mellinger GT. (1974) Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol*, 111(1):58-64.
- [118]: Griffiths DF, Melia J, McWilliam LJ, Ball RY, Grigor K, Harnden P, Jarmulowicz M, Montironi R, Moseley R, Waller M, Moss S, Parkinson MC. (2006) A study of Gleason score interpretation in different groups of UK pathologists; techniques for improving reproducibility. *Histopathology*, 48(6):655-662.
- [119]: Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, Egevad LL; ISUP Grading Committee. (2005) The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus

Conference on Gleason grading of prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 29(9):1228-1242.

[120]: Egevad L, Mazzucchelli R, Montironi R. (2012) Implications of the International Society of Urological Pathology modified Gleason grading system. *Arch Pathol Lab Med*, 2012 Apr;136: 426-434.

[121]: Billis A, Guimaraes MS, Freitas LL Meirelles L, Magna LA, Ferreira U. (2008) The impact of the 2005 International Society of Urological Pathology consensus conference on standard Gleason grading of prostatic carcinoma in needle biopsies. *J Urol*, 180(2):548-552.

[122]: Helpap B, Egevad L. (2006) The significance of modified Gleason grading of prostatic carcinoma in biopsy and radical prostatectomy specimens. *Virchows Arch*, 449(6):622-627.

[123]: Fine SW, Epstein JI. (2008) A contemporary study correlating prostate needle biopsy and radical prostatectomy Gleason score. *J Urol*, 179(4):1335-1338.

[124]: Tsivian M, Sun L, Mouraviev V, Madden JF, Mayes JM, Moul JW, Polascik TJ. (2009) Changes in Gleason score grading and their effect in predicting outcome after radical prostatectomy. *Urology*, 74(5):1090-1093.

[125]: Berney DM, Fisher G, Kattan MW, Oliver RT, Møller H, Fearn P, Eastham J, Scardino P, Cuzick J, Reuter VE, Foster CS; Trans-Atlantic Prostate Group. (2007) Major shifts in the treatment and prognosis of prostate cancer due to changes in pathological diagnosis and grading. *BJU Int*, 100(6):1240-1244.

[126]: Helpap B, Egevad L. (2008) Correlation of modified Gleason grading of prostate carcinoma with age, serum prostate specific antigen and tumor extent in needle biopsy specimens. *Annal Quant Cytol Histol*, 30(3):133-138.

[127]: Lotan TL, Epstein JI. (2010) Clinical implications of changing definitions within the Gleason grading system. *Nat Rev Urol*, 7(3):136-142.

[128]: Venkataraman G, Rycyna K, Rabanser A, Heinze G, Baesens BM, Ananthanarayanan V, Paner GP, Barkan GA, Flanigan RC, Wojcik EM. (2009) Morphometric signature differences in nuclei of Gleason pattern 4 areas in Gleason 7 prostate cancer with differing primary grades on needle biopsy. *J Urol*, 181(1):88-93.

- [129]: Richardsen E, Ukkonen T, Bjørnsen T, Mortensen E, Egevad L, Busch C. (2003) Overexpression of IGBFB2 is a marker for malignant transformation in prostate epithelium. *Virchows Arch*, 442(4):329-335.
- [130]: Rubio J, Ramos D, López-Guerrero JA, Iborra I, Collado A, Solsona E, Almenar S, Llombart-Bosch A. (2005) Immunohistochemical expression of Ki-67 antigen, cox-2 and Bax/Bcl-2 in prostate cancer; prognostic value in biopsies and radical prostatectomy specimens. *Eur Urol*, 48(5):745-51.
- [131]: Pollack A, DeSilvio M, Khor LY, Li R, Al-Saleem TI, Hammond ME, Venkatesan V, Lawton CA, Roach M 3rd, Shipley WU, Hanks GE, Sandler HM. (2004) Ki-67 staining is a strong predictor of distant metastasis and mortality for men with prostate cancer treated with radiotherapy plus androgen-deprivation: radiation therapy oncology group trial 92-02. *J Clin Oncol*, 22:2133-2140.
- [132]: Oxley JD, Winkler MH, Parry K, Brewster S, Abbott C, Gillatt DA. (2002) p53 and bcl-2 immunohistochemistry in preoperative biopsies as predictors of biochemical recurrence after radical prostatectomy. *BJU Int*, 89(1):27-32.
- [133]: Khor LY, DeSilvio M, Al-Saleem T, Hammond ME, Grignon DJ, Sause W, Pilepich M, Okunieff P, Sandler H, Pollack A; Radiation Therapy Oncology Group. (2005) MDM2 as a predictor of prostate carcinoma outcome. *Cancer*, 104:962-967.
- [134]: Shariat SF, Bensalah K, Karam JA, Roehrborn CG, Gallina A, Lotan Y, Slawin KM, Karakiewicz PI. (2007) Preoperative plasma HER2 and epidermal growth factor receptor for staging and prognostication in patients with clinically localized prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 13:5377-5384.
- [135]: Di Lorenzo G, Tortora G, D'Armiento FP, De Rosa G, Staibano S, Autorino R, D'Armiento M, De Laurentiis M, De Placido S, Catalano G, Bianco AR, Ciardiello F. (2002) Expression of epidermal growth factor receptor correlates with disease relapse and progression to androgen-independence in human prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 8(11):3438-44.
- [136]: Wikström P, Bergh A, Damber JE. (2000) Transforming growth factor-beta1 and prostate cancer. *Scand J Urol Nephrol*, 34(2):85-94.
- [137]: Halvorsen OJ, Haukaas S, Høisaeter PA, Akslen LA. (2000) Independent prognostic importance of microvessel density in clinically localized prostate cancer. *Anticancer Res*, 2000;20:3791-3799.

- [138]: Kattan MW, Shariat SF, Andrews B, Zhu K, Canto E, Matsumoto K, Muramoto M, Scardino PT, Ohori M, Wheeler TM, Slawin KM. (2003) The addition of interleukin-6 soluble receptor and transforming growth factor beta1 improves a preoperative nomogram for predicting biochemical progression in patients with clinically localized prostate cancer. *J Clin Oncol*, 21(19):3573-9.
- [139]: Shariat SF, Park S, Trinh QD, Roehrborn CG, Slawin KM, Karakiewicz PI. (2007) Plasminogen activation inhibitor-1 improves the predictive accuracy of prostate cancer nomograms. *J Urol*, 178(4 Pt 1):1229-36.
- [140]: de la Taille A, Salomon L, Colombel M, Abbou CC, Chopin D, Groux-Muscattelli B. (1999) Detection of circulating prostatic cells with RT-PCR PSA in prostatic cancer. *Prog Urol*, 9(6):1084-9.
- [141]: Nakashima J, Tachibana M, Horiguchi Y, Oya M, Ohigashi T, Asakura H, Murai M. (2000) Serum interleukin 6 as a prognostic factor in patients with prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 6(7):2702-6.
- [142]: Osunkoya AO, Hansel DE, Sun X, Netto GJ, Epstein JI. (2008) Aberrant diffuse expression of p63 in adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy and radical prostatectomy: report of 21 cases. *Am J Surg Pathol*, 32(3):461-467.
- [143]: Wu A, Kunju LP. (2013) Prostate cancer with aberrant diffuse p63 expression. *Arch Pathol Lab Med*, 137:1179-1184.
- [144]: Giannico G, Ross H, Lotan T, Epstein JI. (2013) Adenocarcinoma of the prostate with aberrant expression of p63: a radical prostatectomy study. *Mod Pathol*, 26(2):212A.
- [145]: Sadi MV, Walsh PC, Barrack ER. (1991) Immunohistochemical study of androgen receptor in metastatic prostate cancer. Comparison of receptor content and response to hormonal therapy. *Cancer*, 67: 3057-64.
- [146]: Grossmann ME, Huang H, Tindall DJ. (2001) Androgen receptor signaling in androgen- refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*, 93: 1687-97.
- [147]: Titus MA, Schell MJ, Lih FB, Tomer KB, Mohler JL. (2005) Testosterone and dihydrotestosterone tissue levels in recurrent prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 11(13):4653-7.
- [148]: Shiota M, Yokomizo A, Naito S. (2011) Increased androgen receptor transcription: a cause of castration-resistant prostate cancer and a possible therapeutic target. *J Mol Endocrinol*, 12;47(1):25-41.

- [149]: Newmark JR, Hardy DO, Tonb DC, Carter BS, Epstein JI, Isaacs WB, Brown TR, Barrack ER. (1992) Androgen receptor gene mutations in human prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 15;89(14):6319-23.
- [150]: Liu T, Li Y, Gu H, Zhu G, Li J, Cao L, Li F. (2013) p21-Activated kinase 6 (PAK6) inhibits prostate cancer growth via phosphorylation of androgen receptor and tumorigenic E3 ligase murine double minute-2 (Mdm2). *J Biol Chem*, 1;288(5):3359-69.
- [151]: Kaur R, Yuan X, Lu ML, Balk SP. (2008) Increased PAK6 expression in prostate cancer and identification of PAK6 associated proteins. *Prostate*, 1;68(14):1510-6.
- [152]: Quigley CA, De Bellis A, Marschke KB, el-Awady MK, Wilson EM, French FS. (1995) Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocr Rev*, 16(3):271-321.
- [153]: Schrantz N, da Silva Correia J, Fowler B, Ge Q, Sun Z, Bokoch GM. (2004) Mechanism of p21-activated kinase 6-mediated inhibition of androgen receptor signaling. *J. Biol Chem*, 279:1922-1931.
- [154]: Liang J, Zubovitz J, Petrocelli T, Kotchetkov R, Connor MK, Han K, Lee JH, Ciarallo S, Catzavelos C, Beniston R, Franssen E, Slingerland JM. (2002) PKB/Akt phosphorylates p27, impairs nuclear import of p27 and opposes p27-mediated G1arrest. *Nat Med*, 8:1153-1160.
- [155]: Cheng L, Lloyd RV, Weaver AL, Pisansky TM, Cheville JC, Ramnani DM, Leibovich BC, Blute ML, Zincke H, Bostwick DG. (2000) The cell cycle inhibitors p21WAF1 and p27KIP1 are associated with survival in patients treated by salvage prostatectomy after radiation therapy. *Clin Cancer Res*, 6(5):1896-9.
- [156]: Rigaud J, Tiguert R, Decobert M, Hovington H, Latulippe E, Laverdiere J, Larue H, Lacombe L, Fradet Y. (2004) Expression of p21 cell cycle protein is an independent predictor of response to salvage radiotherapy after radical prostatectomy. *Prostate*, 15;58(3):269-76.
- [157]: Yang RM, Naitoh J, Murphy M, Wang HJ, Phillipson J, deKernion JB, Loda M, Reiter RE. (1998) Low p27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. *J Urol*, 159(3):941-5.
- [158]: Cordon-Cardo C, Koff A, Drobnjak M, Capodieci P, Osman I, Millard SS, Gaudin PB, Fazzari M, Zhang ZF, Massague J, Scher HI. (1998) Distinct altered patterns of

p27kip1 gene expression in benign prostate hyperplasia and prostatic carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 90:1284-91.

[159]: Halvorsen OJ, Høstmark J, Haukaas S, Hoisaeter PA, Akslen LA. (2000) Prognostic significance of p16 and CDK4 proteins in localized prostate carcinoma. *Cancer*, 15;88(2):416-24.

[160]: Henshall SM, Quinn DI, Lee CS, Head DR, Golovsky D, Brenner PC, Delprado W, Stricker PD, Grygiel JJ, Sutherland RL. (2001) Overexpression of the cell cycle inhibitor p16INK4A in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia predicts early relapse in prostate cancer patients. *Clin Cancer Res*, 7(3):544-50.

[161]: Chakravarti A, DeSilvio M, Zhang M, Grignon D, Rosenthal S, Asbell SO, Hanks G, Sandler HM, Khor LY, Pollack A, Shipley W. (2007) Prognostic value of p16 in locally advanced prostate cancer: A study based on Radiation Therapy Oncology Group Protocol 9202 *J Clin Oncol*, 20; 25(21): 3082–3089.

[162]: Fan C, He L, Kapoor A, Gillis A, Rybak AP, Cutz JC, Tang D. (2008) Bmi1 promotes prostate tumorigenesis via inhibiting p16(INK4A) and p14(ARF) expression. *Biochim Biophys Acta*, 1782(11):642-8.

[163]: Quinn DI, Henshall SM, Sutherland RL. (2005) Molecular markers of prostate cancer outcome. *Eur J Cancer*, 41:858-887.

[164]: Lee CT, Capodiceci P, Osman I, Fazzari M, Ferrara J, Scher HI, Cordon-Cardo C. (1999) Overexpression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 is associated with tumor recurrence in human prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 5(5):977-83.

[165]: Jarrard DF, Modder J, Fadden P, Fu V, Sebree L, Heisey D, Schwarze SR, Friedl A. (2002) Alterations in the p16/pRb cell cycle checkpoint occur commonly in primary and metastatic human prostate cancer. *Cancer Lett*, 28;185(2):191-9.

[166]: Kudahetti SC, Fisher G, Ambroisine L, Prowse D, Kattan MW, Foster CS, Møller H, Oliver T, Fletcher A, Cooper C, Reuter V, Scardino P, Cuzick J, Berney DM; Transatlantic Prostate Group. (2010) Immunohistochemistry for p16, but not Rb or p21, is an independent predictor of prognosis in conservatively treated, clinically localised prostate cancer. *Pathology*, 42(6):519-23.

[167]: Kopper L, Tímár J. (2005) Genomics of prostate cancer: is there anything to "translate"? *Pathol Oncol Res*, 11(4):197-203.



- [168]: de la Taille A, Rubin MA, Chen MW, Vacherot F, de Medina SG, Burchardt M, Buttyan R, Chopin D. (2003) Beta-catenin-related anomalies in apoptosis-resistant and hormone-refractory prostate cancer cells. *Clin Cancer Res*, 9(5):1801-7.
- [169]: Ekici S, Ayhan A, Kendi S, Ozen H. (2002) Determination of prognosis in patients with prostate cancer treated with radical prostatectomy: prognostic value of CD44v6 score. *J Urol*, 167(5):2037-41.
- [170]: Zhao JH, Luo Y, Jiang YG, He DL, Wu CT. (2011) Knockdown of  $\beta$ -Catenin through shRNA cause a reversal of EMT and metastatic phenotypes induced by HIF-1 $\alpha$ . *Cancer Invest*, 29(6):377-82.
- [171]: Ranasinghe WK, Baldwin GS, Bolton D, Shulkes A, Ischia J, Patel O. (2015) HIF1 $\alpha$  expression under normoxia in prostate cancer--which pathways to target? *J Urol*, 193(3):763-70.
- [172]: Vergis R, Corbishley CM, Norman AR, Bartlett J, Jhavar S, Borre M, Heeboll S, Horwich A, Huddart R, Khoo V, Eeles R, Cooper C, Sydes M, Dearnaley D, Parker C. (2008) Intrinsic markers of tumour hypoxia and angiogenesis in localised prostate cancer and outcome of radical treatment: a retrospective analysis of two randomised radiotherapy trials and one surgical cohort study. *Lancet Oncol*, 9(4):342-51.
- [173]: Vis AN, Noordzij MA, Fitoz K, Wildhagen MF, Schröder FH, van der Kwast TH. (2000) Prognostic value of cell cycle proteins p27(kip1) and MIB-1, and the cell adhesion protein CD44s in surgically treated patients with prostate cancer. *J Urol*, 164(6):2156-61.
- [174]: Nikoleishvili D, Pertia A, Trsintsadze O, Gogokhia N, Managadze L, Chkhotua A. (2008) Expression of p27((Kip1)), cyclin D3 and Ki67 in BPH, prostate cancer and hormone-treated prostate cancer cells. *Int Urol Nephrol*, 40(4):953-9.
- [175]: Cheng L, Pisansky TM, Sebo TJ, Leibovich BC, Ramnani DM, Weaver AL, Scherer BG, Blute ML, Zincke H, Bostwick DG. (1999) Cell proliferation in prostate cancer patients with lymph node metastasis: a marker for progression. *Clin Cancer Res*, 5(10):2820-3.
- [176]: Dudderidge TJ, McCracken SR, Loddo M, Fanshawe TR, Kelly JD, Neal DE, Leung HY, Williams GH, Stoeber K. (2007) Mitogenic growth signalling, DNA replication licensing, and survival are linked in prostate cancer. *Br J Cancer*, 7;96(9):1384-93.

- [177]: Szende B, Romics I, Torda I, Bély M, Szegedi Z, Lovász S. (1999) Apoptosis, mitosis, p53, bcl(2), Ki-67 and clinical outcome in prostate carcinoma treated by androgen ablation. *Urol Int*, 63(2):115-9.
- [178]: Park JY. (2010) Promoter hypermethylation in prostate cancer. *Cancer Control*, 17(4):245-55.
- [179]: Watson AJ, Sabharwal A, Thorncroft M, McGown G, Kerr R, Bojanic S, Soonawalla Z, King A, Miller A, Waller S, Leung H, Margison GP, Middleton MR. (2010) Tumour O6-methylguanine-DNA methyltransferase inactivation by oral lomeguatrib. *Clin Cancer Res*, 16(2): 743-749.
- [180]: Williams SG. (2006) Characterization of the behavior of tree definitions of prostate specific antigen-based biochemical failure in relation to detection and follow-up biases: comparison with the American Society for Therapeutic Radiology and Oncology consensus definition. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1;64(3):849-55.
- [181]: Hussain M, Goldman B, Tangen C, Higano CS, Petrylak DP, Wilding G, Akdas AM, Small EJ, Donnelly BJ, Sundram SK, Burch PA, Dipaola RS, Crawford ED. (2009) Prostate-specific antigen progression predicts overall survival in patients with metastatic prostate cancer: data from Southwest Oncology Group Trials 9346 (Intergroup Study 0162) and 9916. *J Clin Oncol*, 20; 27(15): 2450–2456.
- [182]: Eder IE, Bektic J, Haag P, Bartsch G, Klocker H. (2004) Genes differentially expressed in prostate cancer. *BJU Int*, 93:1151-55.
- [183]: Waltregny D, Leav I, Signoretti S, Soung P, Lin D, Merk F, Adams JY, Bhattacharya N, Cirenei N, Loda M. (2001) Androgen-driven prostate epithelial cell proliferation and differentiation in vivo involve the regulation of p27. *Mol Endocrinol*, 15:765-782.
- [184]: Zhang YW, Morita I, Ikeda M, Ma KW, Murota S. (2001) Connexin43 suppresses proliferation of osteosarcoma U2OS cells through post-transcriptional regulation of p27. *Oncogene*, 20:4138-4149.
- [185]: Gorbe A, Becker DL, Dux L, Stelkovic E, Krenacs L, Bagdi E, Krenacs T. (2005) Transient upregulation of connexin43 gap junctions and synchronized cell cycle control precede myoblast fusion in regenerating skeletal muscle in vivo. *Histochem Cell Biol*, 123:573-583.

- [186]: Guo Y, Sklar GN, Borkowski A, Kyprianou N. (1997) Loss of the cyclin dependent kinase inhibitor p27(Kip1) protein in human prostate cancers correlates with tumor grade. *Clin Cancer Res*, 3:2269-2274.
- [187]: M Kuczyk, Machtens S, Hradil K, Schubach J, Christian W, Knüchel R, Hartmann J, Bokemeyer C, Jonas U, Serth J. (1999) Predictive value of p27Kip1 protein expression for recurrence-free and long-term survival of prostate cancer patients. *Br J Cancer*, 81:1052-58.
- [188]: Doganavsargil B, Simsir A, Boyacioglu H, Cal C, Hekimgil M. (2006) A comparison of p21 and p27 immunoexpression in benign glands, prostatic intraepithelial neoplasia and prostate adenocarcinoma. *BJU Int*, 97:644-648.
- [189]: Lawlor MA, Rotwein P. (2000) Coordinate control of muscle cell survival by distinct insulin-like growth factor activated signaling pathways. *J Cell Biol*, 151:1131-1140.
- [190]: Ostrovsky O, Bengal E. (2003) The mitogen-activated protein kinase cascade promotes myoblast cell survival by stabilizing the cyclin-dependent kinase inhibitor, p21WAF1 protein. *J Biol Chem*, 287:21221-21231.
- [191]: Signoretti S, Waltregny D, Dilks J, Isaac B, Lin D, Garraway L, Yang A, Montironi R, McKeon F, Loda M. (2000) P63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. *Am J Pathol*, 157:1769-1775.
- [192]: Ronison IB. (2003) Tumor cell senescence in cancer treatment. *Cancer Res*, 63:2705-2715.
- [193]: Di Como CJ, Urist MJ, Babayan I, Drobnjak M, Hedvat CV, Teruya-Feldstein J, Pohar K, Hoos A, Cordon-Cardo C. (2002) P63 expression profiles in human normal and tumor tissues. *Clin Can Res*, 8:494-501.
- [194]: Grossmann ME, Huang H, Tindall DJ. (2001) Androgen receptor signaling in androgen-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*, 21;93(22):1687-97.
- [195]: Jerónimo C, Henrique R, Oliveira J, Lobo F, Pais I, Teixeira MR, Lopes C. (2004) Aberrant cellular retinol binding protein 1 (CRBP1) gene expression and promoter methylation in prostate cancer. *J Clin Pathol*, 57(8):872-6.
- [196]: Jerónimo C, Henrique R, Hoque MO, Mambo E, Ribeiro FR, Varzim G, Oliveira J, Teixeira MR, Lopes C, Sidransky D. (2004) A quantitative promoter methylation profile of prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 15;10(24):8472-8.

- [197]: Kang GH, Lee S, Lee HJ, Hwang KS. (2004) Aberrant CpG island hypermethylation of multiple genes in prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia. *J Pathol*, 202(2):233-40.
- [198]: Mishra DK, Chen Z, Wu Y, Sarkissyan M, Koeffler HP, Vadgama JV. (2010) Global methylation pattern of genes in androgen-sensitive and androgen-independent prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther*, 9(1):33-45.
- [199] Feldman BJ, Feldman D. (2001) The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer*, 1(1):34-45.
- [200]: Melixetian M, Helin K. (2004) Geminin: a major DNA replication safeguard in higher eukaryotes. *Cell Cycle*, 3(8):1002–1004.
- [201]: Ananthanarayanan V, Deaton RJ, Yang XJ, Pins MR, Gann PH. (2006) Alteration of proliferation and apoptotic markers in normal and premalignant tissue associated with prostate cancer. *BMC Cancer*, 17;6:73.
- [202]: Meng MV, Grossfeld GD, Williams GH, Dilworth S, Stoeber K, Mulley TW, Weinberg V, Carroll PR, Tlsty TD. (2001) Minichromosome Maintenance Protein 2 Expression in prostate: Characterization and association with outcome after therapy for cancer. *Clin Cancer Res*, 7(9):2712-8.
- [203]: Romics I, Bánfi G, Székely E, Krenács T, Szende B.(2008) Expression of p21(waf1/cip1), p27 (kip1), p63 and androgen receptor in low and high Gleason score prostate cancer. *Pathol Oncol Res*, 14(3):307-11.
- [204]: Nagao K, Yamamoto Y, Hara T, Komatsu H, Inoue R, Matsuda K, Matsumoto H, Hara T, Sakano S, Baba Y, Matsuyama H. (2011) Ki67 and BUBR1 may discriminate clinically insignificant prostate cancer in the PSA range <4 ng/ml *Jpn J Clin Oncol*, 41(4)555–564.
- [205]: Richardsen E, Uglehus RD, Due J, Busch C, Busund LT. (2010) COX-2 is overexpressed in primary prostate cancer with metastatic potential and may predict survival. A comparison study between COX-2, TGF-beta, IL-10 and Ki67. *Cancer Epidemiol*, 34(3):316-22.
- [206]: Gustavsson H, Welen K, Damber JE. (2005) Transition of an androgen-dependent human prostate cancer cell line into an androgen-independent subline is associated with increased angiogenesis. *Prostate*, 1;62(4):364-73.

- [207]: Sugibayashi R, Kiguchi Y, Shimizu T, Suzuki T, Hamada H, Takeda K. (2002) Up-regulation of p21(WAF1/CIP1) levels leads to growth suppression of prostate cancer cell lines. *Anticancer Res*, 22(2A):713-9.
- [208]: Weiss RH. (2003) p21Waf1/Cip1 as a therapeutic target in breast and other cancers. *Cancer Cell*, 4(6):425-9.
- [209]: Fizazi K, Martinez LA, Sikes CR, Johnston DA, Stephens LC, McDonnell TJ, Logothetis CJ, Trapman J, Pisters LL, Ordoñez NG, Troncoso P, Navone NM. (2002) The association of p21((WAF-1/CIP1)) with progression to androgen-independent prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 8(3):775-81.
- [210]: Omar EA, Behlouli H, Chevalier S, Aprikian AG. (2001) Relationship of p21(WAF-I) protein expression with prognosis in advanced prostate cancer treated by androgen ablation. *Prostate*, 1;49(3):191-9.
- [211]: Zhuo M, Zhu C, Sun J, Weis WI, Sun Z. (2011) The beta-catenin binding protein ICAT modulates androgen receptor activity. *Mol Endocrinol*, 25(10):1677-88.
- [212]: Yu X, Wang Y, DeGraff DJ, Wills ML, Matusik RJ. (2011) Wnt/ $\beta$ -catenin activation promotes prostate tumor progression in a mouse model. *Oncogene*, 21;30(16):1868-79.
- [213]: Bryden AA, Hoyland JA, Freemont AJ, Clarke NW, Schembri Wismayer D, George NJ. (2002) E-cadherin and beta-catenin are down-regulated in prostatic bone metastases. *BJU Int*, 89(4):400-3.
- [214]: Bismar TA, Humphrey PA, Grignon DJ, Wang HL. (2004) Expression of beta-catenin in prostatic adenocarcinomas: a comparison with colorectal adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol*, 121(4):557-63.
- [215]: Jaggi M, Johansson SL, Baker JJ, Smith LM, Galich A, Balaji KC. (2005) Aberrant expression of E-cadherin and beta-catenin in human prostate cancer. *Urol Oncol*, 23(6):402-6.
- [216]: Aaltomaa S, Kärjä V, Lipponen P, Isotalo T, Kankkunen JP, Talja M, Mokka R. (2005) Reduced alpha- and beta-catenin expression predicts shortened survival in local prostate cancer. *Anticancer Res*, 25(6C):4707-12.
- [217]: Horvath LG, Henshall SM, Lee CS, Kench JG, Golovsky D, Brenner PC, O'Neill GF, Kooner R, Stricker PD, Grygiel JJ, Sutherland RL. (2005) Lower levels of nuclear

beta-catenin predict for a poorer prognosis in localized prostate cancer. *Int J Cancer*, 20;113(3):415-22.

[218]: Thomas R, Kim MH. (2008) HIF-1 $\alpha$ : A key survival factor for serum-deprived prostate cancer cells. *Prostate*, 15; 68(13): 1405–1415.

[219]: Dai Y, Bae K, Siemann DW. (2011) Impact of hypoxia on the metastatic potential of human prostate cancer cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1;81(2):521-8.

## 11. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

### 11. 1. Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények

**Banfi G**, Teleki I, Nyirady P, Keszthelyi A, Romics I, Fintha A, Krenacs T, Szende B. (2015) Changes of protein expression in prostate cancer having lost its androgen sensitivity. *Int Urol Nephrol*, 47:(7)1149-1154. **IF: 1,519**

Romics I, **Banfi G**, Szekely E, Krenacs T, Szende B. (2008) Expression of p21(waf1/cip1), p27(kip1), p63 and androgen receptor in low and high Gleason score prostate cancer. *Pathol Oncol Res*, 14:(3)307-311. **IF: 1,260**

**Bánfi G**, Glasz T, Székely E, Romics I. A prosztataspecifikus antigén-vizsgálat első évtizede klinikánkon (1994–2004) [Investigation of prostate specific antigen in the first decade of its use, in our clinic (1994-2004)]. (2007) *Orv Hetil*, 148:(3)121-124.

**Bánfi G**, Kiss F, Kádár A, Romics I. A prosztataspecifikus antigén-szint meghatározásának első öt éve során szerzett tapasztalataink összefoglalása. (2003) *Magy Onkol*, 47:(2)165-168.

### 11. 2. Egyéb – nem az értekezés témájában megjelent – eredeti közlemények

**Bánfi G**. Húgyúti gyulladások. (2014) *Magyar Orvos*, 22:(6-7)17-20.

Bécsi Á, **Bánfi G**, Glasz T, Majoros A, Nyirády P. (2014) Hydronephrosist okozó ritka uréterdaganat. *Magy Urol*, 26:(3)101-103.

**Bánfi G**. Infekciókontroll az urológiában. (2013) *IME: Informatika és menedzsment az egészségügyben*, 12:(1)36-39.

Selinski S, Lehmann ML, Gerullis H, **Banfi G**, Romics I, Golka K. (2012) Urinary bladder cancer risk in relation to a single nucleotide polymorphism (rs2854744) in the insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP3) gene. *Arch Toxicol*, 86:(2)195-203. **IF: 5,215**

Selinski S, Lehmann ML, Gerullis H, **Banfi G**, Romics I, Golka K. (2012) Rs11892031[A] on chromosome 2q37 in an intronic region of the UGT1A locus is associated with urinary bladder cancer risk. *Arch Toxicol*, 86:(9)1369-1378. **IF: 5,215**

Szendrói A, Kulka J, Szász AM, Bata P, **Bánfi G**, Miklós I, Romics I. (2012) Papillaris vesedaganaton belüli metaplasticus csontképződés és csontvelő kialakulása. *Uroonkológia*, 9:(4)90-92.

Kelemen Zs, **Bánfi G**, Nyirády P. A férfi húgycső szűkülete. (2011) *Magy Urol*, 23:(2)82-101.

Selinski S, Blaszkewicz M, Gerullis H, **Banfi G**, Romics I, Golka K. (2011) Genotyping NAT2 with only two SNPs (rs1041983 and rs1801280) outperforms the tagging SNP rs1495741 and is equivalent to the conventional 7-SNP NAT2 genotype. *Pharmacogenet Genomics*, 21:(10)673-678. **IF: 3,485**

Lehmann ML, Selinski S, Gerullis H, **Banfi G**, Romics I, Golka K. (2010) Rs710521[A] on chromosome 3q28 close to TP63 is associated with increased urinary bladder cancer risk. *Arch Toxicol*, 84:(12)967-978. **IF: 4,041**

Mavrogenis S, **Bánfi G**, Siller Gy, Kohlen R, Varga J, Holman E, Romics I. A Rovatinex® javítja a kömentesség esélyét SWL-t követően - egy placebokontrollált, randomizált klinikai vizsgálat eredményei. (2010) *Magy Urol*, 22:(2)78-84.

Barabas J, Kelemen Z, **Banfi G**, Nemeth Z, Romics I, Nyirady P. (2009) Penis covering and simultaneous urethral replacement by scrotal skin for severe penile and urethral necrosis. *Int Urol Nephrol*, 41:(3)537-540. **IF: 1,053**



Kelemen Zs, Sáfrány Gy, Mészáros G, Jósavay J, Mavrogenis S, Sterlik G, **Bánfi G**, Nyirády P, Joós L, Romics I. (2008) Elsődleges ellátás és helyreállító műtétek Fournier-gangrénás esetben. *Magy Urol*, 20:(4)195-210.

Nyirady P, Kelemen Z, **Bánfi G**, Rusz A, Majoros A, Romics I. (2008) Management of congenital penile curvature. *J Urol*, 179:(4)1495-1498. **IF 3,952**

Nyirády P, Perovic S, Kelemen Zs, **Bánfi G**, Keszthelyi A, Romics I. (2008) Az epispadiasis felnőttkori kezelése. *Magy Urol*, 20:(4)211-218.

Nyirády P, Kelemen Z, Kiss A, **Bánfi G**, Borka K, Romics I. (2008) Treatment and Outcome of Vaseline-Induced Sclerosing Lipogranuloma of the Penis. *Urology*, 71:(6)1132-1137. **IF: 2,242**

**Bánfi G**, Nyirády P, Riesz P, Kelemen Zs. (2007) Húgycső sérüléssel társuló péniszfraktúra. *Magy Urol*, 19:(1)70-74.

Kelemen Zs, **Bánfi G**, Mavrogenis S, Kiss J, Nyirády P. (2007) Medencetörés okozta húgycsőszűkület megelőzésének és kezelésének lehetőségei. *Magy Urol*, 19:(1)25-34.

Nyirády P, Borka K, **Bánfi G**, Kelemen Zs, Romics I. (2007) Lichen sclerosis és hímvesszőrák összefüggése. *Magy Urol*, 19:(1)15-18.

Riesz P, Nyirády P, Szűcs M, Szendrői A, Majoros A, **Bánfi G**, Kiss A, Lotz G, Törzsök P, Kelemen Z, Romics I. (2007) Hímvessző-daganatos betegek kezelésével szerzett tapasztalataink [Experiences in treatment and follow up of 50 patients with penile cancer]. *Orv Hetil*, 148:(37)1751-1756.

Kelemen Z, Nyirády P, **Bánfi G**, Péntes E, Barabás J. (2006) Húgycsőszűkület megszüntetése szájnyálkahártya beültetésével. *Magy Urol*, 18:(1)37-46.

Kelemen Zs, Nyirády P, **Bánfi G**, Joós L, Borka K. (2006) A hímvessző vastagítása vazelinnal – következmények és azok ellátása. *Magy Urol*, 18:(1)16-27.

Nyirády P, Borka K, **Bánfi G**, Kelemen Z. (2006) Lichen sclerosus az urológiai gyakorlatban. *Orv Hetil*, 147:(44)2125-2129.

Nyirády P, **Bánfi G**, Kelemen Zs. (2006) A férfi kettős húgycső vizsgálata és kezelése felnőttkorban. *Magy Urol*, 18:(1)1-8.

Kelemen Zs, Rusz A, Nyirády P, Fekete F, **Bánfi G**, Romics I. (2005) A hímvessző veleszületett, egyedüli tünetként jelentkező görbületének műtétei. *Magy Urol*, 17:(3)127-136.

Kelemen Zs, Nyirády P, Németh Zs, Joós L, Keszthelyi A, **Bánfi G**, Barabás J. (2005) Hímvesszőre húzott fémgyűrű súlyos következményei. *Magy Urol*, 17:(4)229-233.

**Bánfi G**, Kelemen Zs, Illyés Gy, Keszthelyi A, Romics I. (2004) Nagy kiterjedésű scrotalis Buschke-Loewenstein-tumor esete. *Uroonkológia*, 1:(3)78-80.

Nádas Gy, **Bánfi G**, Borka K, Romics I. (2004) A pénisz Kaposi-sarcomája. *Uroonkológia*, 1:(3)81-83.

Pánovics J, **Bánfi G**. (2003) Húgyúti gyulladákos betegségek terhességben. *Hippocrates (Bp.)*, 5:(6)389-390.

Szabó K, **Bánfi G**, Romics I. (2003) Prokalcitonin-szint vizsgálata PCT-Q gyorseszteszt alkalmazásával urológiai intenzív osztályon ápolott betegeknél. *Magy Urol*, 15:(4)215-223.

## 12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban köszönettel tartozom főnökömnek, Nyirády Péter Professzornak, aki szakmai és baráti segítségével egyaránt lehetővé tette ennek a munkának a megszületését. Meg kell említenem előző professzoromat, Prof. Romics Imrét, akinek évekig tartó, kitartó biztatása is szükséges volt a dolgozathoz. Köszönöm Prof. Kelemen Zsoltnak, hogy tanácsaival segített úgy az urológiai-, mint a szaknyelvi buktatók kikerülésében. Köszönettel tartozom továbbá a Semmelweis Egyetem Urológiai Klinikája összes munkatársának, akik türelemmel viselték a dolgozat megszületése közben jelentkező nehézségek megoldása közbeni gyarlóságaimat. Ezúton is megköszönöm Szende Béla Professzornak és munkacsoportjának, hogy a kórszövettani kérdések megoldásában segítettek.

Végül, köszönöm családom töretlen támogatását. Öcsémnek, Dr. Bánfi Botondnak szakmai tanácsait, szüleimnek, hogy akkor is hittek a Ph.D. megszületésében, amikor én egyáltalán nem voltam erről meggyőződve, valamint fiaimnak, hogy a munka megszületéséhez szükséges, sokszor tőlük megvont közös időnkőről türelemmel lemondtak.