

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ - СОФИЯ
УНИВЕРСИТЕТСКА БОЛНИЦА „АЛЕКСАНДРОВСКА”
КАТЕДРА ПО УРОЛОГИЯ**

**ДИАГНОСТИЧНА И ПРОГНОСТИЧНА РОЛЯ НА
ТУМОРНИТЕ МАРКЕРИ ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМ
НА ПРОСТАТНАТА ЖЛЕЗА**

Д-Р ЕЛЕНКО ПЕТКОВ ПОПОВ

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

**За присъждане на образователна и научна степен
„ДОКТОР”**

Научен ръководител:

Проф. Д-р Чавдар Крумов Славов, д.м.н.

София

2013

Използвани съкращения и означения:

ПСА, PSA – простато-специфичен антиген
ПК, РСa – простатен аденокарцином
Т – тестостерон
ДНТ – дихидротестостерон
AR – андрогенен рецептор
ДРИ – дигитално ректално изследване
ЯМР – ядрено-магнитен резонанс
ERSPC – The European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer
PLCO – The Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer
PIN – простатна интраепителиална неоплазия
ASAP – атипична пролиферация на малки ацини
TRUS – трансректална ултрасонография
УЗД – ултразвукова диагностика
TUR-P – трансуретрална резекция на простатата
КАТ – компютърно-аксиална томография
PET – позитронно-емисионна томография
РП - Радикална простатектомия
EBRT – лъчетерапия с външен лъч
СДПП – симптоми от долните пикочни пътища
HIFU – фокусиран високочестотен ултразвук
МАБ – максимална андрогенна блокада
5-АРИ – 5-алфа редуктазни инхибитори
ДПХ – доброкачествена простатна хиперплазия
тПСА – тотална ПСА
PSAD - плътност на PSA
PSAV – скорост на нарастване на PSA
PCPT – Prostate Cancer Prevention Trial
AMACR_ – алфа-метилацил-КоА-рацемаза
МПСИ - международен простатен симптоматичен индекс
ОРУ – остра ретенция на урината
NCCN – National Cancer comprehensive Network
%фПСА - процент свободен ПСА
SNP – мононуклеотидни полиморфизми
GWAS – целогеномно асоциативно проучване

Съдържание

Въведение.....	4
Литературен обзор.....	6
• Простатен карцином – епидемиология, етиология, честота, болестност и смъртност, диагностика и лечение.....	6
• PSA при скрининга, диагнозата, лечението и мониторирането на простатния аденокарцином: съвременни постижения и приложение, бъдещи тенденции за развитие.....	31
• Бъдещи биомаркери за рак на простатата.....	64
Изводи от обзора.....	80
Цел и Задачи.....	83
Методи на изследване.....	85
Материали и методи.....	86
Резултати.....	119
Обсъждане.....	155
Изводи.....	170
Приноси.....	174
Приложения.....	175
Библиография.....	178
Публикации научни съобщения и научно-изследователски проекти, свързани с дисертационния труд.....	196

Въведение

През осемдесетте и деветдесетте години на миналия век, простатния карцином се превърна от един от пренебрегваните проблеми на изследване в областта на онкологията в един от основните и водещи обекти на проучване от страна на генетици, уролози, биохимици, молекулярни биолози, онколози, лъче- и химиотерапевти. Съществуват четири основни причини за тази внушителна промяна (Foster, C.S et al 1999).

1. Първата от тях е осъзнаването на мащабите на епидемиологията и социалната значимост на аденокарцинома на простатата в световен мащаб. Това заболяване понастоящем е най-честия малигнитет при мъжете в почти всички страни, особено в Европа, Северна и Южна Америка (над 30% при мъжете на 50 години и 80% от мъжете на 80 години имат молекулярно доказуем простатен карцином). Карциномът на простатата е втората по честота причина за смъртност, свързана с онкологични заболявания, след рака на белия дроб.

2. Втората основна причина за засиления научен интерес е противоречивата роля и значение на PSA – скрининга, както и развитието на радикалната простатектомия и лъчетерапията като дефинитивни процедури, целящи ерадикирането на локализирания простатен карцином.

3. Високата честота на доброкачествената простатна хиперплазия и съпровождащата я заболяемост е третия основен фактор насочващ вниманието към изследване на заболяванията на простатната жлеза. Социалното и икономическото значение на ДПХ доведе до провеждането на множество изследвания, който доведоха до много по-задълбочено разбиране на биологичните процеси в простатата, особено взаимодействието епител-строма.

4. Последният, четвърти ключов фактор е развитието на модела на простатен карцином при плъхове от Dunning, и впоследствие

разработването на множество клетъчни линии, предоставящи богат избор от моноклонални, генотипно стабилни, различаващи се по свойствата си варианти на клетки от простатния епител. Сравнителният анализ на тези фенотипно различни клетъчни линии дава уникалната възможност да се идентифицират отделните фактори, които предопределят определени аспекти от биологичното развитие на простатния аденокарцином.

Тези четири фактора, в комбинация с невъобразимия напредък в областта на методите на клетъчната и молекулярната биология, водят до изясняване на фундаменталните процеси в етиопатогенезата на малигнената трансформация на простатния епител. Понастоящем проучванията върху аденокарцинома на простатата и резултатите от тях са водещи в много области на фундаменталната наука и карциногенезата.

Понастоящем не съществува консенсус относно истинската биологична прогресия на простатния карцином, неговите скрининг, диагностика, лечение и проследяване (Цветков, 1996). Тази несигурност отчасти се дължи на изкуствения и (вероятно) преходен пик в използването на PSA-скрининга за ранна диагноза на карцинома на простатата, както и поради разликите в протоколите за лечение и проследяване, особено между САЩ и Европа. За момента не съществуват независими прогностични маркери, които да предвидят биологичния прогрес на заболяването при отделния пациент, или да оценят имунологичния отговор на гостоприемника към генетично чуждите туморни клетки (Foster, 1992).

Специфичен проблем при простатния карцином е изследването на трансректалните тру-кут биопсии, които понастоящем представляват основния метод за хистологично диагностициране на простатния карцином. Този метод се базира до добиването на биопсични проби от различни зони на простатната жлеза, но неговата диагностична ефективност се намалява от наличната хетерогенност на неоплазмата, като

по този начин получените фрагменти не винаги са репрезентативни за целия тумор. Към решаването на този проблем се подхожда по два начина – 1. извършване на биопсията под образен контрол – най-често трансректален ултразвук; и 2. увеличаване на броя на добиваните биопсии и систематизиране на разпределението им с цел покриване на максимална част от обема на жлезата. Тези два подхода увеличават ефективността на метода, но също така са свързани с повишаване на дискомфорта за пациента и значителни финансови разходи. Освен това целта на молекулярното изследване на простатния карцином е да се предвиди биологичното поведение на заболяването преди предприемането на агресивно хирургично или радиологично лечение. Поради това от изключително значение са тези туморни маркери, които могат да бъдат изследвани в простатната тру-кут биопсия или в телесни течности (кръв, урина, простатен експримат), като по този начин те могат да бъдат от полза при вземането на началните, ключови терапевтични решения.

Литературен обзор

Простатен карцином – епидемиология, етиология, честота, болестност и смъртност, диагностика и лечение

Въведение

Простатния карцином е един от най-значимите здравни проблеми на нашето съвремие. С над 650,000 новодиагностицирани случая ежегодно, той съставлява 10 % от всички новодиагностицирани малигнени заболявания при мъжете по целия свят. В Европа, ежегодно се диагностицират около 200,000 мъже с простатен аденокарцином.

В България карциномът на простатната жлеза е най-честият карцином на пикочно-половата система при мъжете. Епидемиологичните проучвания на Националния онкологичен Център в нашата страна са представени на таблица 1 и таблица 2

Хормонално влияние

Вече повече от 65 години е широко разпространено разбирането че растежа на простатния карцином (PCa) е зависим от серумните концентрации на **тестостерона** (Т), базирано на експериментите на Huggins et al [Huggins C, Hodges CV. 1941; Huggins C, Stevens Jr RE, Hodges CV. 1941;] **че кастрацията води до регресия на простатния карцином (PCa)** докато приложението на Т води до по-бърз растеж на PCa. Но скорошни проучвания показват слаба или липсваща връзка между серумния Т и PCa [Roddam AW et al., JNCI 2008], правейки дълго приеманото разбиране на Т-зависимия модел на PCa проблематично, ако не и невъзможно [Morgentaler A. 2006; Carpenter WR, Robinson W, Godley RA JNCI 2008;]. В последните години все по-широко се възприема едно семпло но ключово уточняване на традиционния възглед за Т и PCa, именно че съществува лимит (сатурационна точка) на възможността на Т да стимулира растежа на PCa. Сатурационния Модел се основава на основополагащите биохимични принципи на андрогенното действие върху простатата, и той представлява стабилна рамка за разбиране на привидно противоречивите резултати от проучванията свързани с манипулация на Т ниво.

Сатурационният Модел е предлаган и преди [Morgentaler A. 2007; Morgentaler A, 2009;]; в резюме, Сатурационния Модел е отговорен за ключовия факт че растежа на PCa е изключително чувствителен към вариации в серумната концентрация на Т в диапазона на ниските, почти кастратни стойности, и е нечувствителен към Т вариации над тези ниски концентрации, каквито са и нормалните физиологични стойности в човека. Този модел постулира хипотезата че физиологичните концентрации на Т осигуряват излишък на Т и неговия вътреклетъчен простатен метаболит,

5 α -dihydrotestosterone (DHT), създавайки оптимални условия за нормален растеж на простатата. Обаче намаляването на Т нива под определена критична точка (Сатурационната точка) създава вътреклетъчна среда в която наличието на андрогени става лимитиращото стъпало контролиращо растежа на простатната тъкан. Този модел се базира на данни че свързването на андрогена с андрогенния рецептор (AR) следва подобна сатурационна крива.

Естрогените, включително фитоестрогените характерни за азиатската и ориенталската кухня, имат негативен ефект върху растежа на простатния карцином. Това може би отчасти обяснява по-ниската заболеваемост и смъртност от простатен карцином в тези страни.

Други хранителни съставки инхибиращи развитието и растежа на простатния карцином са витамините А, Е и D, антиоксиданта ликопен, някои микроелементи като селена.

Рискови фактори

Възрастта е основен рисков фактор за развитието на простатен карцином, като заболяването е изключително рядко под 40 години и честотата му нараства с напредване на възрастта, спрямо клинични и аутопсионни проучвания. Честотата на простатния карцином достига от 29 % в шестото десетилетие до над 75 % в осмото. Това нарастване се предхожда от подобен пик в честотата на характерната за простатния карцином премалигнена лезия – интраепителиалната простатна неоплазия – (PIN), който се наблюдава няколко години по-рано.

Географско разпространение – заболяването е значително по-често в Западните общества, особено Скандинавските страни и САЩ[Quinn M, Babb P. 2002]. Простатният карцином е рядък в Азия и Далечния Изток, но

риска при хора от този регион имигрирали в САЩ и Западна Европа се повишава над 20 пъти. Това подсказва определящото влияние на факторите на околната среда, като например диетата характерна за Западните общества [Schmid H-P, 2007].

Раса – Черната раса е по-застрашена от бялата, азиатците и жителите на Ориента рядко развиват простатен карцином. Най-високата честота в света е наблюдавана при чернокожите в Ямайка и САЩ, като в Ямайка е наблюдавана и най-високата смъртност.

Фамилна обремененост – смята се че 5-10 % [Carter BS et al. 1992] от случаите на простатен карцином са наследствени. Фамилните случаи на простатен карцином засягат хора в по-млада възраст (под 60 години) с фамилна обремененост, наблюдават се генетични абнормности. Сумарния риск за развитие на простатен карцином се повишава два пъти при наличие на един кръвен родственик с това заболяване, и над 4 пъти при наличие на двама родственици.

Други потенциални рискови фактори са половата свръхактивност, вирусни и бактериални инфекции, вазектомията, но за някои от тях няма сигурни статистически данни.

Честота

Честотата на диагностицирането на простатен карцином нараства през последните десетилетия, вероятно поради повишеното изследване на PSA при асимптомни мъже и пациенти със симптоми от страна на долните пикочни пътища (СДПП), както и поради използването на разширени протоколи за простатна биопсия [Jemal A et al. 2008].

В България карциномът на простатната жлеза е най-честият карцином на пикочно-половата система при мъжете. Епидемиологичните проучвания на

Националния онкологичен Център в нашата страна са представени на таблица 1 и таблица 2

Табл. 1 Епидемиологични данни за заболяемостта от простатен карцином в Р.България през 2010

	Общо	Новодиагностицирани през 2010
Заболеваемост от простатен карцином	259.4(на 100,000 мъже население)	39,9(на 100,000 мъже население)
Общо брой малигнени заболявания	3330.7 (на 100,000 души)	413,9(на 100,000 души)

Тези данни показват че аденокарцинома на простата съставлява приблизително 10 % от всички малигнени заболявания в нашата страна, което още веднъж показва социалната му значимост.

Болестност

Понастоящем се смята че риска за един мъж да бъде диагностициран с рак на простатната жлеза е 1 на 12 в резултат на клинични симптоми или изследване на PSA. Истинската болестност обаче се преценява значително по-трудно поради огромната честота на хистологично откриваемия простатен аденокарцином при аутопсия на пациенти, починали от други причини и значително по-малкия брой на клинично проявили се случаи на заболяването. Това разминаване води до концепцията за „латентен” простатен аденокарцином – биологично неагресивен и бавно прогресиращ, чието диагностициране и лечение на базата на PSA тестване вероятно е ненужна.

Смъртност

Счита се че 3 % от смъртните случаи при мъжете са следствие на простатния аденокарцином. Смъртността от простатен карцином нараства бавно през 70` и 80` години на миналия век с около 3 % годишно, но през последните две десетилетия се наблюдава тенденция за намаляване на броя на смъртните случаи с около 2 % годишно. Карциномът на простатата е втората по честота причина за смърт вследствие малигнено заболяване при мъжете след карцинома на белия дроб. Наблюдаваното в последните години намаляване на смъртността най-вероятно се дължи на напредъка в терапията на заболяването, вероятно ранното приложение на антихормонална терапия при напредналите стадии на заболяването, както и агресивното радикално лечение при локализираните стадии на простатния карцином. Вероятно е твърде рано този успех да се приписва на PSA базираните скринингови програми.

Табл. 2 Епидемиологични данни за смъртността от простатен карцином в Р.България през 2010

	Общо	на 100,000 мъже население
Смъртност от простатен карцином	890	24.1
Общ брой смъртни случаи	58903	1579.8

Ракът на простатата е и причина за над 2 % от смъртните случаи при мъжете през 2010

Скрининг и ранна диагностика

Популационният или масов скрининг се дефинира като масово изследване на асимптоматични мъже, изложени на риск от дадено заболяване. Той се инициира от провеждащия скрининга. За разлика от него опортюнистичния скрининг/ранната диагностика се основава на особеностите на индивидуалния случай, като се инициира от пациента и/или неговия лекар. Основната цел и на двата типа скрининг има два аспекта:

1. Намаляване на смъртността от простатен карцином. Целта не е да се откриват колкото може повече карциноми.
2. Важен показател е качеството на живот, което се измерва в спечелени години качество на живот - QUALY.

Тенденциите в смъртността от простатен карцином варират значително между различните страни. Намалени нива на смъртност се наблюдават в САЩ, Австрия, Обединеното Кралство, Франция, Швеция, вероятно поради подобрените възможности за диагностика и лечение. Такава тенденция не се наблюдава в Холандия например. Намалената смъртност от простатен карцином в САЩ в голяма степен се свързва с широко разпространената агресивна скринингова политика, но все още не съществува абсолютно доказателство че ПСА-скрининга намалява смъртността[Illic D 2007].

Дългоочакваните резултати от две големи проспективни проучвания бяха публикувани през 2009. Скрининговото проучване The Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer рандомизира 76,693 мъже в десет центъра в САЩ да провеждат ежегоден скрининг с ДРИ и ПСА или да

бъдат подложени на стандартни грижи като контролна група. След седем-годишно проследяване честотата на простатен карцином на 10.000 човеко-години е 116 (2,820 случая) в скрининговата група и 95 (2,322 случая) в контролната група [Andriole GL et al; 2009]. Смъртността от простатен карцином на 10000 човеко-години е 2.0 (50 случая) в скрининговата група, и 1.7 (44 случая) в контролната група. Изследователите от PLCO достигат до извода че смъртността е много ниска и в двете групи и няма съществена разлика между тях.

Проучването The European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) включва 162,243 мъже от седем страни на възраст между 55 и 69 години. Те са рандомизирани в група провеждаща ПСА скрининг на 4 години и контролна нескринирана група. След девет-годишно проследяване общата честота на простатен карцином е 8.2% в скрининговата група и 4.8 % в контролната група [Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al 2009]. Рискът от смърт поради простатен карцином е 0.80 в скрининговата група в сравнение с контролната. Абсолютната разлика в стойността на риска е 0.71 смъртни случая на 1000 мъже. Това означава че 1410 трябва да бъдат скринирани и 48 случая лекувани за да се предотврати една смърт от простатен карцином. Изследователите от ERSPC заключават че ПСА-базирания скрининг намалява смъртността от простатен карцином с 20 %, но на цената на значителна свръх-диагностика и свръх-лечение.

И двете проучвания пораждаат значително внимание и коментари. В проучването PLCO нивото на комплайънс е 85 % за ПСА и 86 % за ДРИ. Следва да се има в предвид обаче че нивото на контаминация в контролната група е много високо – 40 % през първата година, достигащо до 52 % през шестата година за ПСА, и вариращо между 41-46 % за ДРИ. Още повече комплайънсът за биопсия на простата е едва 40-52 % сравнено с 86 % в ERSPC. Поради тази причина PLCO едва ли някога ще може да

даде сигурен отговор дали скрининга може да повлияе на смъртността от простатен карцином.

В проучването ERSPC истинският ефект ще се прояви след 10-15 годишно проследяване, особено поради факта че наблюдаваното 41 % намаляване на случаите с метастази в скрининговата група ще прояви своя ефект. На базата на тези две рандомизирани проучвания почти всички големи урологични асоциации заключват че за момента масовия ПСА скрининг не е удачен. Вместо това трябва да бъде предлаган опортюнистичен скрининг/ранна диагностика на добре-информирани мъже

Два много важни въпроса остават неуточнени:

- На каква възраст трябва да се предложи скрининг
- На какъв интервал да се правят ДРИ и ПСА

Предлага се определяне на базова стойност на ПСА на 40 години, на базата на която се определя интервала за последващия скрининг [Börgermann S 2010]. Интервал от 8 години е удачен за мъже с ПСА под 1 нг/мл. При мъже над 75 години и ПСА под 3 нг/мл не е необходимо по-нататъшно изследване на ПСА тъй като при тях риска от смърт поради простатен карцином е твърде нисък [Carter HB 2008]

Простатен аденокарцином - патоанатомична характеристика, прекурсорни лезии и карциногенеза

Със огромна преднина най-честия вариант на малигнено заболяване на простатата е аденокарцинома – над 95 % от злокачествените органи на жлезата. Той произхожда от епитела на ацините или каналчестата система на простатата. Хистологично се наблюдава пенетриране на базалната мембрана от малигнените клетки, инвазиращи фибромускулната строма. Макроскопски се открива един или няколко белезникави твърди и плътни

възли, макар че съществува и мековат муцин-продуциращ вариант на простатен аденокарцином.

Простатната част на уретрата, нейната фибромускулна строма и каналчеста система могат да са обект на инвазия по съседство от преходноклетъчен карцином на пикочния мехур. Саркомите на простатата са изключително редки, като те могат да бъдат наблюдавани и в детска възраст. Вторични малигнитети (метастази) от други злокачествени заболявания са казуистика.

Аденокарцином на простатата

Повечето от аденокарциномите на простатата възникват в периферната зона на жлезата (над 75 %) и най-често са мултифокални (85 %). 20 % от аденокарциномите на простатата се развиват в преходната зона на жлезата и 5 % в ембриологично различаващата се централна зона. Туморът прораста през рехавата простатна капсула (липсваща в областта на апекса и основата на жлезата) в околната рехавя съединителна тъкан. на този етап заболяването се дефинира като локално авансирало. то може да ангажира уретралния сфинктер, кавернозните тела на пениса, семенните мехурчета, тригонума на пикочния мехур, включително дисталната част на уретерите. локалното разпространение често е по хода на автономните нерви (перинеурална инвазия). най честите локализации на регионалните и далечни метастази са тазовите лимфни възли и костите, въпреки че нерядко се наблюдават метастази в белите дробове, черния дроб, тестисите, мозъка. Характерно за костните метастази е че те имат остеобластен характер, по-рядко са остеолитични. Най-често се засяга аксиалния скелет – тазови кости, ребра, прешлени), по-рядко дългите кости на крайниците, ключиците, черепа.

Прекурсорни лезии при простатен карцином

Понастоящем две хистологични лезии се приемат за пре- или перималигнени по отношение на простатния аденокарцином - простатната интраепителиална неоплазия - PIN - и атипичната пролиферация на малки ацини (*atypical small acinar proliferation – ASAP*).

Простатната интраепителиална неоплазия се състои от архитектурно бенигнено изглеждащи простатни ацини и каналчета, покрит с епител съдържащ атипични клетки. базалния слой е налице, макар че базалната мембрана може да е фрагментирана. PIN се класифицира като такъв с нисък грейдинг (степен 1) и такъв с висок грейдинг (степен 2 и 3), базирайки се на наличието на нуклеоли и други характеристики на атипичните клетки. Високостепенния PIN се приема за прекурсор на инвазивния простатен аденокарцином и неговото откриване при шестточкова трансректална биопсия на простатата носи 30-40 % риск от откриване на простатен карцином при последваща биопсия. Високостепенен PIN се открива в 5-10 % от простатните тру-кут биопсии. Той не повлиява серумните нива на PSA. Понастоящем се препоръчва провеждането на повторни системни биопсии при откриването на PIN в тру-кут биопсия или при ТУР-П.

Атипичната пролиферация на малки ацини (atypical small acinar proliferation – ASAP) е другата хистопатологична лезия на простатната жлеза свързана с развитието на простатен аденокарцином. Ацините са малки, покрити с хистологично атипични епителни клетки, базалния слой може да липсва на места, но базалната мембрана е интактна. Както и при PIN вероятността за откриване на простатен аденокарцином при последващи биопсии е над 40 %. И тук се препоръчва извършването на системни повторни биопсии на простатата.

Простатен карцином – клинични прояви, симптоми и синдроми

След широкото въвеждане на PSA скрининга, повечето пациенти нямат далечни метастази при първата си среща с уролога. По-долу са изброени възможните клинични прояви, групирани по стадий на заболяването

Ограничен в жлезата простатен аденокарцином (Т 1-2)

- асимптомен пациент с повишен PSA или абнормна находка при ректално туширане
- симптоми от страна на долните пикочни пътища (вероятно поради съпътстваща доброкачествена простатна хиперплазия, водеща до субвезикална обструкция)
- хемоспермия
- хематурия
- перинеален дискомфорт (вероятно поради придружаващ хроничен простатит)

Локално авансирал карцином (Т 3-4)

- асимптомен пациент с повишен PSA или абнормна находка при ректално туширане
- симптоми от страна на долните пикочни пътища
- хематоспермия или хематурия
- перинеален дискомфорт
- симптоми на уростаза поради обструкция на уретерите
- малигнен приапизъм (рядко)
- проява на обструкция на ректума (рядко)

Метастатичен карцином (N+, M+)

- асимптомен пациент с повишен PSA или абнормна находка при ректално туширане
- оток на долните крайници в резултат на обструкция на тазовите лимфни колектори
- анорексия, загуба на тегло
- костна болка, патологични фрактури
- неврологични симптоми в долните крайници (компресия на гръбначния мозък)
- анемия
- диспнея, жълтеница, коагулопатии

Простатен карцином – трансректален ултразвук и биопсия

Най-често използваната диагностична алтернатива за откриването на простатния карцином в настоящия момент е трансректалната ултрасонография (TRUS), последвана от тру-кут биопсии под УЗД контрол (Куманов 1984, Младенов 1994,). Процедурата е най-често амбулаторна, като се използва някаква форма на локална анестезия – топикална, перипростатен блок. При невъзможност за трансректален ехографски контрол, биопсиите се извършват под дигитален контрол. Обикновено се назначават перорални широкоспектърни антибиотици – хинолони.

Показания за трансректална тру-кут биопсия:

- абнормно ДРИ и/или повишено ниво на PSA
- предхождащи биопсии показващи огнища на PIN и ASAP
- предходни нормални простатни биопсии, но продължаващо покачване на PSA или абнормно PSA
- търсене на витални малигнени клетки след първоначално дефинитивно лечение, при обсъждане на последващата терапия

Протокол на трансректалната простатната биопсия

Повечето автори предлагат взимането на 6-12 [Смилов 2010, Салтиров 2010, Орманов 2007, Hara R et al. 2008, Takenaka A et al 2008] биопсии, като най-често се използва класическото разделяне на секстанти. При необходимост от повторна биопсия поради двусмислен резултат от първоначалното изследване се вземат и допълнителни биопсии от латералните зони на жлезата, преходната зона и семенните мехурчета. Смята се че тези допълнителни биопсии откриват още 15 % от простатните карциноми. Отделно се биопсира целенасочено всяка съмнителна зона открита при ДРИ или чрез TRUS. Обикновено на трансректален ултразвук простатните карциноми са изоехогенни, което затруднява тяхното визуализиране.

Усложнения на простатната биопсия (Смилов 2007)

- вазо-вагална хипотония и колапс по време или непосредствено след процедурата
- 0.5 % риск от септицемия, която може да е живот-застрашаваща
- 0.5 % риск от масивна ректорагия
- често се наблюдава умерена хемоспермия и хематурия, което може да продължи до 3 седмици
- провеждането на простатна биопсия при пациенти на перорални антикоагуланти е противопоказано, подобно е положението при аспирин. Другите антитромботични препарати (например клопидогрел) не се считат като противопоказание
- изключително важно е пациента да знае че негативната биопсия не означава непременно липса на простатен карцином, както и че

положителната биопсия не означава непременно започване на лечение

В редки случаи простатния карцином бива диагностициран след TUR-P. В много редки подбрани случаи простатния карцином може да бъде диагностициран клинично без хистологична верификация. Например при много възрастни пациенти с PSA над 100 и недвусмислена находка при ДРИ и множество придружаващи заболявания, биопсията може да се счете като излишно инвазивна процедура.

Стадиране на простатния аденокарцином

Стадирането на простатния аденокарцином се извършва според TNM системата. Както при всички карциноми представката „с” се използва за означаване на клиничното стадиране и „р” за патоанатомичното стадиране.

T-стадия се оценява чрез ДРИ, образни методи (основно трансректална ултрасонография, ЯМР[Masterson TA, Touijer K. 2008; Heijmink SW et al. 2007;], КАТ). На настоящия етап образната диагностика не може убедително да визуализира фокалното и микроскопско екстрапростатно разпространение на заболяването[Fuchsjager M, et al. 2008]. Провеждането на трансректална биопсия също може да затрудни интерпретацията на находките на КАТ и ЯМР. В около 30- 40 % от случаите патоанатомичния T-стадий е по-висок от клиничния (основно поради наличието на фокални огнища на екстракапсулно разпространение).

N-стадия преоперативно се оценява чрез ЯМР, КАТ [Hoivels AM et al 2008;] и тънкоиглена биопсия на тазовите лимфни възли (рядко), PET

[Husarik DB 2008; Schiavina R, et al. 2008] Златният стандарт за оценка на състоянието на регионалните лимфни колектори е интраоперативната лимфна дисекция.

М-стадия се оценява чрез физикален преглед, рентгенография на гръден кош, костна сцинтиграфия [Even-Sapir E et al. 2006; Beheshti M, Vali R, Langsteger W 2007], изследване на креатинин, алкална фосфатаза, КАТ, ЯМР.

Грейдинг на простатния аденокарцином

Грейдингът на простатния карцином се извършва според скалата на Глисън [Billis A, et al. 2008; Harnden P et al. 2007]. Аденокарцинома се оценява от 1 до 5 според микроскопския си вид при сравнително слабо увеличение. Характеристиките на отделните клетки не играят роля в тази оценка. Оценката по Глисън се базира на архитектурата на простатните жлези и тяхното взаимоотношение спрямо околната фибро-мускулна строма. Тъй като повечето карциноми на простатната жлеза са мултифокални се поставят две оценки от 1 до 5, които се сумират. Тези две оценки отразяват най-често наблюдавания хистологичен вариант и втория по честота такъв. Ако в туморната тъкан се наблюдава само един тип архитектура на жлезите, нейната оценка просто се удвоява. Тази система на грейдиране се използва при тру-кут биопсии, материали от ГУР-П и радикални простатектомии.

Аденокарциноми със сбор по Глисън 2-6 се считат за добре диференцирани, 7 умерено диференцирани, и 8-10 – нискодиференцирани аденокарциноми. В практиката 75 % от случаите на простатен карцином имат сбор по Глисън 5,6 или 7; 10 % 2-4, и за щастие само 15 % - 8-10. Оценката по Глисън има добра възпроизводимост между различни

патолози, но в 30-40 % от случаите оценката по Глисън при материала от радикална простатектомия и по-висока от тази при тру-кут биопсията.

Основното значение на оценката по Глисън е че тя корелира много добре с прогнозата на пациента, стадий за стадий.

Терапия на локализирания в жлезата простатен карцином

Изчаквателно поведение – епидемиологичните данни за честотата и смъртността при простатния карцинома показват че при болшинството от случаите простатния карцином не достига клинично-изявено развитие и не води до видима загуба на продължителност и качество на живота. Това се дължи на факта че простатния карцином в повечето случаи има бавна еволюция, като болшинството от пациентите са на възраст над 70 години, често със значителна придружаваща патология. Тези факти създават базата за развитието на концепцията за "изчаквателно поведение" (watchful waiting) - приложението на внимателно наблюдение при някои мъже с неметастатичен простатен карцином без първоначално лечение.

Изчаквателното поведение е особено подходяща терапевтична алтернатива при следните групи пациенти с локализиран простатен карцином:

- пациенти със сбор по Глисън 2-4 на всякаква възраст (при тях страничните ефекти от всякакъв вид лечение надхвърлят потенциалните ползи)
- пациенти със сбор по Глисън 5 и 6 и възраст над 75 години
- пациенти със значителна придружаваща патология и очаквана продължителност на живота под 10 години
- стадий T1a на заболяването (само 17 % от тези случаи прогресират, в сравнение с 68 % при T1b)

Изчаквателното поведение следва да бъде обсъдено като терапевтичен вариант при всеки пациент със сума по Глисън под 7, тумор с малък обем на ДРИ, трансректална сонография и тру-кут биопсията [Wilt TJ et al. 2009; Bill-Axelsson A 2008].

Протоколи за изчаквателно поведение

Повечето автори препоръчват преглед на всеки 6 месеца, включващ анамнеза, физикален преглед (задължително ДРИ), изследване на серумния PSA. Промяна на лечебния процес се предприема при наличие на симптоми, говорещи за далечни метастази (костна болка, положителна костна сцинтиграфия), или, в по-честия случай, нарастване на серумното ниво на PSA. При изчаквателното поведение пациента има водеща роля, като той преценява дали да приеме различните варианти на *радикално* лечение, като приеме евентуалните странични ефекти, или да запази досегашното си качество на живот, като поеме риска да остави заболяването си нелекувано. В бъдеще това решение вероятно ще бъде значително улеснено от нови туморни маркери, даващи информация за природата и биологичната прогресия на малигненото заболяване при определения пациент.

В последните години някои автори препоръчват по-агресивна форма на изчаквателно поведение наречена „активно наблюдение“ [Klotz L. 2008; Soloway MS et al. 2008; Adolfsson J. 2008]. Тя цели да обхване по-млади мъже с ранни локализиращи форми на простатен карцином, които са подходящи за радикално лечение, но искат да го избегнат за момента. При тези мъже се изследва PSA на всеки 3 месеца, и се извършва тру-кут биопсия ежегодно, за да се търси прогресиране на заболяването. Данни за повишаване на PSA, сумата по Глисън или находката при ДРИ следва да доведат до бързо предприемане на радикално лечение. Основният риск при

тази стратегия е че по време на периода на наблюдение, заболяването може да се разпространи извън простатата, намаляващо значително шансовете за дефинитивно излекуване; освен това тази стратегия е свързана със значителен разход на време и ресурси. Поради тези факти на настоящия етап тя е приложима при строго селектиран ограничен кръг от пациенти, които са напълно наясно с всички рискове.

Радикална простатектомия - РП представлява ексцизия на цялата тъкан на простатната жлеза, включително нейната капсула, простатната част на уретрата и семенните мехурчета. Тя може да бъде извършена чрез ретроперитонеален достъп, перинеален достъп (рядко), лапароскопски (транс- или екстраперитонеално, робот-асистирана операция[Ficarra V et al. 2009]). Най-често се извършва едновременна тазова лимфна дисекция, която има роля при стадирането[Mattei A et al 2008]. РП е показана при лечението на пациенти с локализиран в жлезата простатен карцином, с очаквана продължителност на живота над 10 години, целяща дефинитивно излекуване[Stephenson AJ et al. 2009]. Тази оперативна процедура не е подходяща при локално авансирал простатен карцином, макар че в последните години значителен доказателствен материал оборва това твърдение в контекста на РП като част от мулти-модално лечение[Yossepowitch O et al 2007; Van Poppel H, Joniau S. 2008]. Пациентът трябва да бъде детайлно осведомен за другите терапевтичните алтернативи и потенциалните нежелани ефекти от РП, за да може да вземе истински информирано решение, преди предприемането на тази значителна по обем хирургична интервенция, която нерядко има значителен негативен ефект върху качеството на живот.

Външна лъчетерапия (external-beam radiotherapy EBRT) – в началото на 80` години бяха разработени нови линейни ускорители с възможност за

конформална и интензитетна модификация на лъчението – техника водеща до минимизиране на радиотоксичния ефект върху ректума и пикочния мехур, позволяващо ефективно лечение на простатния карцином с постигане на високи дози в таргетната зона. Външната лъчетерапия има за цел дефинитивно излекуване на пациента, и често се придружава с 3-месечен курс от адювантна хормонотерапия при високо-рискови случаи [D'Amico A 2008; Volla M et al 2009]. Курсът на лъчетерапия най-често е 6-седмичен с достигане на обща доза от 60-72Gy, кат напоследък има тенденция за увеличаване на дозата, успоредно с по-прецизното ѝ насочване в границите на простатата [Kuban DA et al. 2008; Viani GA 2009]. Тази процедура е подходяща и за пациенти с локално авансирал простатен карцином (Т 3), където тя е метода на избор. Противопоказани за външна лъчетерапия са пациенти с тежки СДПП, възпалително заболяване на червата (IBD – болест на Крон или хроничен улцерозен колит), предхождащо облъчване в областта на малкия таз. Усложненията включват СДПП (чести, но най-често преходни), хематурия, контрактура на пикочния мехур, значими до тежки симптоми от страна на гастро-интестиналния тракт [Zelevsky MJ et al. 2008], кръвениста диария, болка, стеноза на ректума, еректилна дисфункция в 30 – 50 % от пациентите, риск от второ малигнено заболяване в малкия таз - приблизително 1/70 [Abdel-Wahab M 2008].

Интерстициална трансперинеална брахитерапия – представлява имплантацията на радиоактивни партикули (най-често с I 125) в паренхима на простатната жлеза трансперинеално под трансректален ехографски контрол [Zelevsky MJ et al 2007; Potters L et al. 2008]. Брахитерапията е минимално инвазивна процедура, изисква обща анестезия, и се извършва на един или два етапа. Доставят се приблизително 150 Gy в зоната на простатната жлеза. Това лечение също се прилага при локализиран

простатен карцином и цели дефинитивно излекуване. Противопоказанията за брахитерапия включват: предходен ТУР-П (риск от инконтиненция), голяма по обем простатна жлеза (затрудняваща равномерната имплантация на радиоактивните частици), тежки СДПП.

Брахитерапията в комбинация с външна лъчетерапия имат много висока ефективност при някои пациенти с локално авансирани форми на заболяването (Т3), без данни за засягане на лимфните възли или далечни метастази (N0, M0), сбор по Глисън под 8 и PSA под 20. При тези пациенти комбинираната лъчетерапия цели дефинитивно излекуване [Zelevsky MJ et al. 2008].

Криотерапия и HIFU – това са два сравнително нови варианта на минимално-инвазивни процедури [Aus G. 2006]. Те имат две основни предимства: първото е по-ниската инвазивност в сравнение с РП и лъчетерапията, като те могат да предложат тяхна алтернатива ако дългосрочните проучвания докажат онкологичната им ефективност [Blana A et al. 2009; Uchida T et al. 2009]. Второто им основно предимство е че те са алтернатива за радикална терапия при локален рецидив след първоначална лъчетерапия, когато РП е трудно осъществима.

Криотерапия – криопробите се поставят в простатната жлеза чрез трансперинеален достъп под трансректален ехографски контрол, и чрез използването на аргон или течен азот водят до достигането на температури от порядъка на -20 до -40 С причиняващи коагулационна некроза в простатната жлеза. Необходимо е приложението на анестезия (най-често венозна), като тази процедура може да се извърши като еднократна хирургия. Усложненията са подобни на тези при лъчетерапията – еректилна дисфункция (40-80%); инконтиненция (4-27%), СДПП, тазова болка, ректо-уретрална фистула – рядко. Когато криотерапията се използва

като вторична терапия усложненията са подобни, но значително по-тежки и в значително по-висок процент от случаите.

HIFU (high-intensity focused ultrasound, фокусиран високочестотен ултразвук) – при тази процедура чрез високочестотен фокусиран ултразвук, доставян чрез трансректален трансдюсер, се достига температура от 85 С в прицелната зона от простатния паренхим, което води до коагулационна некроза. Зоните на некроза, продуцирана от HIFU имат продълговат характер, и след всеки разряд пробата се премества систематично така че да се обхване целия обем на простатата. Стената на ректума и околните тъкани остават незасегнати. Усложненията са подобни на тези при криотерапията.

Терапия на локално авансирания простатен карцином (Т3-4, N0, M0)

На настоящия етап предпочитаната терапевтичен протокол при лечението на локално авансирал простатен карцином включва комбинацията от външна лъчетерапия и хормонална терапия, която води до 15-30 % 10-годишна преживяемост.

Други алтернативи на лечение на локално авансирания простатен карцином включват хормонотерапията като единствен метод на лечение, изчаквателно поведение, палиативно лечение по отношение СДПП и свръхактивен пикочен мехур, включващо дезобструктивен ТУР-П, медикаментозна терапия, в редки случаи перкутанни нефростоми или уретерални стентове за облекчаването на налична уретерална обструкция.

Терапия на авансирания метастатичен простатен карцином

Основата на лечението при метастатичния простатен аденокарцином е хормонотерапията, следвана от цитотоксичната химиотерапия като метод

на втори избор, и нови терапевтични алтернативи като инхибитори на ангиогенезата, инхибитори на фактори на растежа, имунотерапия, генна терапия, които са в процес на разработване. Концепцията за хормоночувствителността на простатния карцином е предложена през 1941 от Huggins и Hodges, които наблюдават положителен лечебен ефект от кастрация при пациенти с рак на простатната жлеза.

Андрогенната депривация води до намаляване на PSA и клинично подобрене при над 70 % от пациентите. По-голямата част от тях обаче загиват в рамките на 5 години поради развитието на андроген-независим растеж на малигненото заболяване.

Прогностичните фактори, които говорят за очакван недостатъчен терапевтичен ефект от хормонотерапията включват:

- над 5 метастатични огнища при започване на терапията
- повишена алкална фосфатаза при започване на терапията
- анемия при започване на терапията
- влошено общо състояние
- ниско серумно ниво на тестостерон преди началото на терапия
- липса на подобрене на костните болки след 3-месечен период на хормонотерапия
- невъзможност за нормализиране на нивата на PSA след 6-месечен курс на терапия (обратно бързото достигане на нива на PSA под 0.1нг/мл е прогностичен фактор за дългосрочен ефект от андрогенната депривация)

Методи за андрогенна депривация:

- хирургична кастрация – билатерална орхиектомия
- медикаментозна кастрация – LH-RH агонисти, естрогени, водещи до потискане на ендокринната функция на тестисите

- анти-андрогени (стероидни или нестероидни) – блокиращи рецепторите за андрогени на прицелните клетки
- максимална андрогенна блокада – хирургична или медикаментозна кастрация[Akaza H et al; 2009] плюс анти-андроген
- 5-алфа редуктазни инхибитори – финастерид и дутастерид

Двете форми на кастрация имат еднаква ефективност, така че избора трябва да бъде направен на базата на предпочитанията на пациента.

Естрогените вече не се използват за тази цел, поради значителната честота на сърдечно-съдови нежелани ефекти. Максималната андрогенна блокада има теоретичното предимство на блокиране на адреналните андрогени, но клиничните мета-проучвания не успяват да докажат статистически значимо предимство на МАБ пред хирургичната или медикаментозната кастрация. За момента 5-АРИ не са одобрени за лечението на простатен карцином, но множество проучвания показват тяхната потенциална роля при превенцията му.

Терапия на андроген-независимия простатен карцином

При повишаване на нивото на PSA въпреки адекватната андрогенна блокада или при прогресия на клиничните симптоми въпреки благоприятния биохимичен профил (по-рядко) заболяването навлиза в андроген-независимата си фаза[Ганев 2007, Chi KN 2009; Schröder FH. 2008]. При тези обстоятелства е необходимо предприемането на допълнителни терапевтични интервенции. Ако до момента не е приложена максимална андрогенна блокада постигането ѝ води до ремисия в приблизително 25 % от случаите. Парадоксално при наличието на предхождаща максимална андрогенна блокада, изключването на анти-андрогенния препарат води до положителен резултат в 25 % от случаите.

Приложението на хормонални препарати от втори ред - естрогени, кортикостероиди - се използва само в изолирани случаи.

Системната цитотоксична химиотерапия е подходяща при лечението на андроген-независимите случаи на метастатичен простатен карцином под контрола на онколог[Bellmunt J 2009]. Системната химиотерапия е противопоказана при много възрастни пациенти, пациенти в увредено общо състояние, при наличието на значително засягане на костите, бъбречна недостатъчност, смущения в коагулацията и хемопоезата. Основните използвани цитостатици са митоксантрон, доксетаксел и естрамустин, като монотерапия или в комбинации между тях, включващи и кортикостероиди.

Палиативно лечение на простатния аденокарцином

Целта на палиативното лечение в терминалната фаза на заболяването е постигане на максимален комфорт и качество на живот на пациента, като то трябва да включва широк кръг от здравни специалисти.

Болката без съмнение е най-инвалидизиращия и тежък проблем при авансирания простатен карцином. Нейната патогенеза е слабо проучена, като е доказано наличието на повишена остеобластна и остеокластна активност. Лечението на болката се подчинява на общите правила за лечение на остра и хронична болка при онкологично болни, формулирани от СЗО.

Компресията на гръбначния мозък е следствие от епидуралното притискане от метастази в прешлените и по-рядко от патологични фрактури. Ако не бъде лекувана навреме тя води до долна параплегия и невъзможност за контролиране на тазовите резервоари. Терапията започва с висока доза кортикостероиди, и при нужда лъчетерапия или

неврохирургично лечение, като е необходимо максимално бързо оптимизиране на лечението на основното заболяване.

СДПП могат да наложат извършването на дезобструктивен ТУР-П. Удачно е и включването на антихолинергични препарати. В някои случаи е необходима дългосрочна уретрална или супрапубична катетеризация.

Уретралната обструкция може да е следствие на локално авансирал простатен карцином, и, ако е двустранна, води до обструктивна бъбречна недостатъчност.

Анемия, тромбоцитопения, коагулопатии – тези конституционални симптоми са характерни за терминалните стадии на заболяването и налагат симптоматично лечение

PSA при скрининга, диагнозата, лечението и мониторирането на простатния аденокарцином: съвременни постижения и приложение, бъдещи тенденции за развитие

Въведение

През последните 15 години, простато-специфичния антиген (PSA) се утвърди като един от най-важните туморни маркери в онкологията на солидните тумори, и стана незаменим при скрининга, диагнозата, лечението и мониторирането на аденокарцинома на простатата. След въвеждането на масовия скрининг базиран на PSA, се наблюдава стабилна тенденция за изместване на клиничния стадий на простатния аденокарцином, като понастоящем болшинството от диагностицираните тумори са ранни, непалпируеми, открити чрез PSA лезии (T1c), които при патологичното изследване са локализирани в простатата (Cooperberg MR et al 2004). Поради проблеми свързани със специфичността на PSA, са предложени множество модификации за да подобрят свойствата на този аналитичен метод, като коригираната спрямо възрастта PSA, плътност на

PSA, скоростта на нарастване на PSA, както и изследването на различни форми на PSA.

Биологична характеристика на PSA

PSA представлява ензим от групата на сериновите протеази, отнасяща се към групата на човешките каликреини, кодирани от група гени, разположени на късото рамо на 19 хромозома (19q13.4). Неговата молекула, която се запазва изключително стабилна в хода на еволюцията, представлява едноверижна химотрипсина-подобна серинова протеаза, изградена от 237 аминокиселини. Към това семейство освен PSA (означаван още като hK3) принадлежат още hK2, hK4 и hK15(простин), които също се експресират във висока степен в простатната тъкан. Структурно PSA представлява гликопротеин с молекулярно тегло 28 kDa, чиято основна функция е да втечнява семенния коагулум, като неговата протеолитична активност е насочена основно към основните гел-образуващи протеини на семенната течност – семеногелин 1 и 2, и фибронектин. PSA се произвежда от всички типове простатен епител – нормален, хиперпластичен, възпалително-променен, неопластичен. Чрез имунохистохимично изследване се установяват минимални количества PSA отделяни от ендометриума; епитела на млечната жлеза; тумори на млечната жлеза, надбъбрека, бъбрека, черния дроб. Въпреки тези минимални нива, открити при имунохистохимично оцветяване, те не довеждат до промяна в серумното ниво на PSA. Нивото на простато-специфичния антиген в лумена на каналчетата на жлезата, където той се секретира от епителните клетки на простатата и изпълнява своята физиологична функция, може да достигне 10 – 50 мкмол/л. За разлика от това, екстрацелуларното ниво на PSA в кръвообращението е значително по-ниско, от порядъка на 0.1-2.5 нмол/л, което представлява една 10^{-7} от нивото му в семенната течност. PSA и hK2 са обект на значителен научен

интерес и множество проучвания, като и при двата биомаркера е наблюдавано повишаване на серумното ниво рано в процеса на онкогенезата на простатния аденокарцином, с постепенно нарастване паралелно с прогресията на заболяването.

Ключов елемент в биологичната природа на PSA са регулаторните механизми на неговата протеазна активност. Активността на сериновите протеази бива контролирани от четири различни регулаторни механизма – 1) зимогенна активация, 2) алостерична регулация, 3) протеолитично вътрешно разграждане и 4) протеазни инхибитори. Зимогенната активация, която е изключително характерна за сериновите протеази, се осъществява чрез конформационни промени. Необратимата конверсия от неактивна в активна форма на ензима се осъществява когато молекулата достигне определени субцелуларни структури, или дадени условия на екстрацелуларната среда. Този процес може да е автокаталитичен, или да изисква допълнителното участие на други ензимни и неензимни молекули. След отделянето на активационната пептидна последователност, която при PSA и hK2 е относително къса, зрялата PSA добива ензимна активност чрез триизмерна конформационна промяна. Механизмът на алостерична регулация включва участието на цинк и други бивалентни йони. Моделът на инхибиция показва че всяка молекула PSA бива инхибирана чрез свързване с две цинк-свързващи места, като тази реакция достига еквимоларно равновесие в микромолярни концентрации. Значението и ролята на този механизъм *in vivo* е неясна. При третия регулационен механизъм PSA губи своята ензимна активност поради превръщането на зрялата активна, едноверижна PSA в многоверижна или фрагментирана молекула чрез вътрешно разцепване. Това вътрешно разграждане включва протеолиза на карбокси-края на аминокиселинни остатъци на Лиз145 и/или Лиз 182. Това предполага наличието на плазмино-подобна ензимна

активност при инактивацията на молекулата на PSA, въпреки че ензимите отговорни за това не са идентифицирани до момента. Четвъртият регулаторен механизъм, който е описан в началото на деветдесетте години на миналия век, представлява взаимодействието на PSA с протеазни инхибитори, повечето от които се синтезират от черния дроб и присъстват в плазмата в концентрация значително надхвърляща тази на PSA екстрацелуларно (10.000 до 100.000 пъти повече в еквимоларно съотношение). Особено значение има взаимодействието на PSA с два класа протеазни инхибитори. Първият клас е представен от така наречения серпинов тип (serpin – serine protease inhibitor), като прототипа на този клас е алфа-1-антитрипсина (наричан още алфа 1-протеазен инхибитор). Този клас включва алфа-1-антихимотрипсина (АСТ), имащ основно значение при изследването на PSA, както и други протеазни инхибитори като инхибитора на плазминогеновата активация (PAI 1 и 3), протеин С инхибитора и антитромбина. Другият клас протеазни инхибитори включва алфа-2-макроглобулина (AMG) и подобни на него протеини, които демонстрират значителен афинитет към молекулата на PSA. In vitro кинетиката на взаимодействието на PSA с AMG е около 20 пъти по-бърза от тази при формирането на комплексите PSA-АСТ. Освен това, в сравнение със протеазите от серпинов тип, AMG взаимодейства с PSA по различен начин при което молекулата на PSA бива напълно енкапсулирана. Това затруднява изследването на характерните антигенни епитопи на PSA и оттам екзактното определяне на нивото на комплексите PSA-AMG. За тази цел се проучват два различни подхода – 1) промяна на конформационната форма на комплекса и 2)отделяне на молекулата на PSA от комплекса чрез хидролиза в алкално рН. На настоящия етап експерименталните резултати показват че серумното ниво на комплекса PSA-AMG е много ниско, под прага на детекция на съвременните методи, поне при локализираните случаи на простатен карцином. Смята се че това

в значителна степен се дължи на бързата елиминация чрез ефективни клирънсови механизми, което може да представлява важен метаболитен път за елиминиране на активната PSA от екстрацелуларните течности.

Експресията на PSA зависи основно от лиганд-зависимата (и може би лиганд-независимата) активация и междуклетъчно взаимодействие чрез андрогенния рецептор. Повишаването на серумното ниво при патологичните процеси в най-голяма степен се дължи на нарушаване на архитектурата на дукталната система на простатната жлеза, която има за цел да предпазва организма от въздействието на активната PSA и да поддържа серумното му ниво в минимални концентрации. В здравата простатна жлеза съществува строго разпределение на клетъчните елементи, включително епителните клетки, базалния слой клетки и базалната ламина. Екстрацелуларното отделяне на PSA при авансиралите случаи на простатен карцином, при които се нарушава цитоархитектониката, може да достигне над 10.000 увеличение на количеството постъпващо в системното кръвообращение. Друг фактор, определящ екстрацелуларното ниво на PSA, са метаболитните промени и клирънсовите механизми – тоталната PSA има време на полуживот 2.2-3.2 дни, а свободната изоформа на PSA се елиминира от кръвта предимно чрез гломерулна филтрация и има полуживот приблизително 12 часа. Поради това тежка увреда на бъбречната функция значително повишава %fPSA, което може да бъде клинично значимо например при мъже на хронична диализа, потенциални кандидати за бъбречна трансплантация. Комплексните форми на PSA са прекалено големи за да бъдат елиминирани чрез бъбреците. Клирънсовия механизъм на PSA-АСТ е неизвестен, но е доказан че нивото на елиминиране на PSA-АСТ при локализиран простатен карцином е много ниско.

Причини за промени в нивото на PSA

Съществуват няколко основни причини за повишаване на серумното ниво на PSA, включващи ДПХ, простатния карцином, възпалението или инфекцията на простатата, както и травмата на простатата и перинеума (Младенов 2008, Ruckle HC 1994, Neal DE et al 1992, Irani J et al 1997). Въпреки че нивото на PSA на грам тъкан е по-високо при малигнената простатна тъкан в сравнение с бенигнените състояния, ДПХ е най-честата причина за повишаването на серумното ниво на PSA. В допълнение на факта че произвежда повече PSA на грам простатна тъкан, инвазивния простатен карцином може да разруши простато-кръвната бариера и да доведе до още по-значително повишаване на серумното ниво на PSA.

От практическа гледна точка, инструменталното манипулиране или „травма“ на простатата, последваща цистоскопия, простатна биопсия, трансуретрална резекция (TURP), грубо дигитално ректално изследване (DRE), или еякулация може да доведе до преходно повишаване на серумните нива на PSA. В едно проучване (Oesterling JE, Rice DC, Glenski WJ, et al 1997), при мъже след провеждането на простатна биопсия нивото на PSA се увеличава средно с 7.9 ng/mL, при пациенти след TURP нарастването е средно с 5.9 ng/mL. Средното време за възстановяване на базовите стойности на PSA след биопсия е приблизително 15-17, а след TURP - 18 дни. Промените в PSA след ригидна или флексибилна цистоскопия са по-слабо изразени, съответно 0.1 и 0.5 ng/mL. Въпреки че се смята че DRE води до преходни и минимални нараствания на серумното ниво на PSA, смята се че тези промени нямат особено клинично значение (Crawford ED, et al 1992,). По подобен начин еякулацията води до минимално покачване на серумното ниво на PSA за приблизително 48-72 часа (Tchetgen M, et al, 1996). Обобщено, смята се че серумното ниво на PSA след цистоскопия и DRE е акуратно и достоверно, PSA трябва да се

изследва минимум 48-72 след еякулация, и е необходим период от най-малко 4-6 седмици след провеждането на простатна биопсия или TURP.

Факторите, намаляващи нивото на PSA, включват медикаментозната и хирургическата кастрация, както и приложението на 5-алфа-редуктазни инхибитори (финастерид, дутастерид), които намаляват серумното ниво на PSA с 50%, и всички гранични стойности на PSA и дериватите му трябва да бъдат съответно коригирани. Нивото на PSA и дериватите ѝ може да се промени артифициално в резултат от начина на обработка и съхраняване на пробите. Woodrum съобщава че нивото на fPSA намалява с 1%/час време на коагулация, 2-3%/ден при съхранение при 4 или 23 градуса и намалява с 0.9% и 0.4%/месец при съхранение съответно при -70 и -20 градуса. Тези данни показват че рутинното добиване на серум и съхранението при 4 градуса в рамките на 24 часа е приемливо за рутинното изследване на PSA и дериватите ѝ. при нужда от по-дългосрочно съхранение, пробите следва да бъдат замразени на – 70 градуса.

PSA деривати

Понастоящем показанията за биопсия на простатата са разнообразни и противоречиви, като литературата разглеждаща този въпрос е огромна по обем. Таблица представлява синтезиран списък на основните показания за простатна биопсия с кратък коментар.

Таблица 3. индикации за простатна биопсия, базирани на стойностите на PSA и дериватите ѝ

Показание за биопсия	Коментар	Библиография
-----------------------------	-----------------	---------------------

Тотална PSA	Откриване на простатен карцином в 20%-30% ако PSA е 4-10 ng/mL и DRE е нормално	Catalona WJet al. 1993;. Catalona WJ, , et al.. 1991;Brawer MK, et al.. 1993;. Brawer MK, , et al. 1992;Smith DS, Catalona WJ, Herschman JD.. 1996;Brawer MK et al.. 1999.
Скорост на нарастване на PSA (PSAV)	Скорост на нарастване на PSA > 0.75 ng/mL/година, изисква множествени изследвания на PSA в течение на няколко години, проблеми свързани с биологичната и лабораторна присъща грешка на метода	Schmid HP, McNeal JE, Stamey TA. 1993; Carter HB et al. 1992;
Плътност на PSA (PSAD)	PSAD > 0.15, изисква трансректално ултразвуково изследване на простатата (TRUS), значително намаляване на броя на ненужните	Benson MC, et al.. 1992; Bazinet M, , et al. 1994 Ohori M, Dunn JK, Scardino PT. 1995. Benson MC, , et al. 1992;.

	биопсии. Потенциален източник на грешка е субективността на УЗ.	
Коригирана с възрастта PSA	PSA нива 6.5 (възраст > 70), 4.5 (възраст 60-70), 3.5 (възраст 50-60), и 2.5 (възраст 40-50). Подобряване на сензитивността при по-младите мъже, намаляване на сензитивността при по-възрастните.	Dalkin BL, Ahmann FR, Kopp JB 1993; Oesterling JE et al. 1993; Etzioni R, et al. 1996.
Свободна/тотална PSA (% fPSA)	Намаляване с 20% на честотата на ненужните простатните биопсии при възприета стойност на % free PSA от 25%. При % free PSA 0%-10% и PSA 4-10 ng/mL, откриване на простатен карцином в > 50%.	Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. 1998; Catalona WJ, Partin AW, Finlay JA, et al.. 1999; Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al.. 2000 Lee CT, Scardino PT.. 2001; Stenman UH, , et al. 1991 Woodrum DL, Brawer MK, Partin AW, et al.. 1998;
Комплексна PSA	Използване само на един	Brawer MK, , et al 2000;

	аналитичен метод. Съобщава се повишена специфичност спрямо тоталната PSA. Значителна вариабилност на метода.	Partin AW, Brawer MK, Bartsch G, et al.. 2003; Maeda H, Arai Y, Aoki Y, et al.. 1999; Okegawa T, Noda H, Nutahara K, et al. 2000; Brawer MK, Meyer GE, Letran JL, et al.. 1998;
--	---	--

Тотална PSA

Въпреки че серумно ниво на тотална PSA надхвърлящо 4 ng/mL е общоприетата граница за препоръчване на простатна биопсия, въвеждането на тази стойност е спорно (табл. 3). При използването на тази гранична стойност теста има 67.5% - 80 % сензитивност според различните автори и 60-70% специфичност. В последните години се натрупват все повече данни че сензитивността се подценява, докато специфичността се надценява. В множество големи скринингови проучвания позитивната прогностична стойност (PPV) при пациент с PSA 4-10 ng/mL и нормално DRE е приблизително 30% (Catalona WJ et al. 1993;. Catalona WJ, , et al.. 1991;Brawer MK, et al.. 1993;. Brawer MK, , et al. 1992;Smith DS, Catalona WJ, Herschman JD.. 1996;Brawer MK et al.. 1999.)

Въпреки че сензитивността на PSA е доста внушителна, положителната прогностична стойност на PSA все още е под въпрос. При нива на PSA между 4.0-10.0 ng/mL, PPV е 18% до 25% (средно 21%), и когато PSA е > 10 ng/mL, PPV е 58% до 64% (средно 61%) (Catalona WJ, et al.1993;. Catalona WJ, et al.1991;. Bretton PR. 1994;). Поради това са предприети

огромни усилия за подобряване на показателите на PSA като скринингов метод.

Табл. 4. Честота и стадий на простатния карцином при стойности на ПСА над „нормалното” ниво

Ниво на ПСА нг/мл	Риск от наличие на простатен карцином (%)	Стадий на откриване на заболяване то	Възможности за лечение
3-7	25	Много ранен	Дефинитивно излекуване в 80 %
7-30	65	Ранен	Дефинитивно излекуване в 50 %
30-100	90	Авансирал	Няма възможност за дефинитивно излекуване, лимфни метастази
Над 100	100	Късен	Няма възможност за дефинитивно излекуване, костни метастази

Плътност на PSA

Плътноста на PSA (PSAD), серумното ниво на PSA разделено на обема на жлезата, е една от насоките за подобряване на специфичността на PSA. Venson и други автори считат че стойност на PSAD > 0.15 ng/mL увеличава специфичността на откриването на простатен карцином в сравнение с изследването на тотална PSA (Младенов 1997, Bazinet M, , et

al. 1994 Ohori M, Dunn JK, Scardino PT. 1995. Benson MC, , et al. 1992;.), въпреки че оптималната гранична стойност е обект на спорове. В тези проучвания средните стойности на PSAD при пациенти с простатен карцином и ДПХ са съответно 0.581 и 0.044, като нито един пациент с ДПХ няма стойност на PSAD > 0.117. Още повече 97% от пациентите с PSAD над 0.1 имат карцином на простатата (Benson MC et al. 1992;). Въпреки тези обещаващи резултати изчислението на този дериват на PSA включва употребата на методи със значителен потенциал за субективизъм (използването на трансректален ултразвук за оценка на обема на жлезата) или грешки на метода (Brawer MK, et al. 1993;). Едно голямо мултицентрово проучване (Catalona WJ, , et al. 1994;), сравняващо тоталната PSA и PSAD за ранна диагностика на простатен карцином показват че при пациенти с тотална PSA 4-10 ng/mL, 47% от случаите на простатен карцином ще бъдат пропуснати при използване на гранична стойност на PSAD 0.15. Други автори препоръчват употребата на PSAD на преходната зона (TZ-PSAD) (Djavan B, , et al.. 1999;), дефинирано като съотношение на серумния PSA и обема на преходната зона на простатната жлеза. Въпреки че първоначалните резултати бяха окуражаващи, този показател носи същия потенциал за грешка както PSAD (Lin DW, et al. 1998). В заключение въпреки че се счита че PSAD и TZ-PSAD подобряват специфичността на метода и могат да доведат до избягване на до 37% от ненужните биопсии, при тях рискът от пропускане на клинично значими простатни карциноми е неприемливо висок.

Скорост на нарастване на PSA

Нивото на нарастване на PSA с хода на времето(скорост на нарастване на PSA [PSAV]) е предложена като допълнение към изследването на PSA, целяща да подобри неговите показатели, особено неговата PPV. Счита се че нарастване на серумното ниво на PSA над 0.75

ng/mL/година идентифицира мъжете които ще развият или вече са развили простатен карцином (Schmid HP, McNeal JE, Stamey TA. 1993; Carter HB et al. 1992;). Използвайки тази гранична стойност специфичността на метода нараства на над 90% с 72% сензитивност при идентифицирането на окултни простатни карциноми при мъже с тотален PSA < 10.0 ng/mL. Следва да се отбележи че за да се извлече максимална полза от изследването на PSAV са необходими минимум 3 изследвания на тотален PSA на интервали между 1.7-2.0 години (Carter HB et al 1995; Carter HB, Pearson JD. 1997). Значителните интраиндивидуална (биологична) и аналитична вариабилност на нивата на тоталния PSA, особено при относително къси интервали между отделните изследвания при пациенти със сравнително ниски стойности на PSA влошават статистическите показатели на изследването на PSAV (Ornstein DK, et al. 1997; Prestigiacomo AF, Stamey TA. 1996 Nixon RG, et al. 1997 ;Nixon et al. 1997;). Освен това мъже носещи простатен карцином и имащи стойности на PSA < 4.0 ng/mL, често имат PSAV < 0.75 ng/mL на година (Fang J, et al. 2002). Производна на PSAV е времето за удвояване на нивото на PSA (PSADT). PSAV и PSADT са обект на множество скорошни проучвания и намират своето значение при прогнозата и мониторирането на новодиагностицираните случаи на простатен карцином и особено след проведено дефинитивно лечение.

Коригирана спрямо възрастта PSA

Коригираната спрямо възрастта PSA е въведена с цел да се понижи граничната стойност на PSA за насочване към биопсия при по-младите мъже и да се увеличи при по-възрастните (Dalkin BL, Oesterling JE, et al. 1993). Причината за тези модификации в граничните стойности на PSA е стремежа да се увеличи специфичността на теста при мъжете над 60 години, като в същото време се увеличи сензитивността му при мъжете под

60. Когато бъдат сравнени тоталната PSA с гранична стойност 4.0 ng/mL (независимо от възрастта) при мъже над 50 години и употребата на коригираната спрямо възрастта PSA (с гранични стойности дефинирани от Oesterling et al (Oesterling JE, et al.. 1993)), коригираните спрямо възрастта стойности водят до минимално увеличение на PPV от 37% на 42%, на намаляват честотата на откриване на простатен карцином от 5.7% на 3.8% (Etzioni R., 1996); стандартната гранична стойност на PSA от 4.0 ng/mL би спасила значително повече години живот в сравнение с употребата на коригираните спрямо възрастта стойности. Друго много голямо проучване включващо 6600 мъже над 50 години установява че повишаването на граничните стойности на PSA при по-възрастните мъже води до 44% по-малко биопсии, но на цената на пропускане на до 47% от случаите на орган-локализиран простатен карцином (Etzioni R., 1996). Взето като цяло, въпреки че тази модификация може да увеличава сензитивността на теста при млади мъже, тя води до намаляване на сензитивността му при по-възрастни пациенти.

Изоформи на PSA

PSA съществува в серума под формата на множество молекулярни форми, и способността на тези изоформи да отдиференцират простатния карцином и бенигнените заболявания на простатата е най-ефективната модификация на PSA известна до момента. Важно при изследването на %fPSA е съблюдаването на стриктните правила за обработка на пробите, целящо запазването на имунореактивността на fPSA. При температура 2-8°C в рамките на 24 часа се губи 30% от активността на fPSA и 15% от тази на tPSA. Поради този факт дългосрочното съхранение на пробите се извършва при – 70°C, като повтарящите се цикли на размразяване и замразяване не влияят на качеството им. Смята се наличието на PIN не променя %fPSA. Въпреки отличната сензитивност на метода – 90-95%,

неговата специфичност все още е слаба – под 40%. Свободната изоформа на PSA се прилага с успех и като прогностичен признак на патоанатомичния стадий след радикална простатектомия. При изследването на група пациенти със сравнително еднакви преоперативни показатели (T1c, PSA 4-10 нг/мл), по-високия %fPSA корелира със значително по-благоприятна хистология (дефинирана като орган-локализиран простатен карцином, обща оценка по Gleason под 7, тумора обхваща под 10% от жлезата). При използване на гранична стойност от 15%, при 75% от мъжете с над 15% fPSA се открива благоприятен хистологичен резултат, сравнено с 34% при пациентите с %fPSA под 15. това се потвърждава и от проведения мулти-вариабилан анализ, при който %fPSA се очертава като най-силния прогностичен признак на патоанатомичния стадий след РП.

Напредъкът в методите на имунологично изследване позволи създаването на метод за изследване на серумното ниво на комплексна PSA (cPSA)(Allard WJ 1998; Morris DL, et al 1998; Wu JT et al 1998;). Методите използвани понастоящем позволяват откриването на свободната молекула на PSA при концентрации около 0.01 нг/мл, с под 0.2 % кръстосана реактивност с cPSA и неоткриваема такава с hK2. По подобен начин комплексите на PSA с антихимотрипсин биват захващани чрез едновременната употреба на анти-PSA моноклонално антитяло и анти-АСТ антитяло, като по този начин се елиминира fPSA. Причината, поради която пациентите с простатен карцином показват завишени серумни стойности на cPSA, не напълно изяснена. Данни, получени при *in vitro* изследвания при условия, подобни на тези в системното кръвообращение, показват че нивото на образуване на PSA-АСТ и PSA-AMG комплекси е много ниско. Това индиректно показва че образуването на тези комплекси се извършва предимно перицелуларно в простатната жлеза, преди PSA да

попадне в циркулацията. Като потвърждение на тази теория е факта че простатния епител синтезира и антихимотрипсин, което е доказано чрез FISH-техники. Освен това повечето простатни карциноми експресират и транскрипират копия на мРНК за АСТ. Горепосочените описаните особености са значително по-слабо изразени при ДПХ. От всичко това може да се предполага че клетките на простатния карцином синтезират значително повече cPSA в сравнение с бенигнените варианти на простатния епител, което в комбинация с нарушаването на интегритета на базалната мембрана при малигнената трансформация позволява на тези високо-молекулярни комплекси да преминават в системната циркулация.

Множество проучвания показват увеличаване на специфичността и диагностичната стойност на cPSA спрямо самостоятелното изследване на tPSA с много по-голяма стойност на ROC-AUC (Brawer MK, et al. 2000; Partin AW, et al. 2003 Maeda H, et al. 1999 Okegawa T, , et al. 2000). (Таблица 5).

Таблица 5. Специфичност на различните изоформи на PSA при определени нива на сензитивност (168)

Сензитивност (%)	Специфичност на гранични стойности на тотална PSA		Специфичност на гранични стойности на Комплексна PSA		Специфичност на гранични стойности на съотношението свободна/тотална PSA	
	(ng/mL)	(%)	(ng/mL)	(%)	(ng/mL)	(%)
100	1	3.1	0.89	6.2	67	0
97.5	2.28	12.9	1.67	14.7	32	8.9
95	3.06	21.8	2.52	26.7	28	15.6

90	3.4	25.3	2.94	33.8	24	26.2
85	3.86	31.1	3.34	38.7	22	32.4
80	4.11	35.6	3.98	51.6	19	46.2

Други проучвания обаче откриват минимална полза от еднократното изследване на cPSA спрямо tPSA, особено в популации с приблизително еднакво разпределение на стойностите на tPSA между пациентите с простатен карцином и тези с бенигнни заболявания (Stamey TA, Yemoto CE 2000; Lein M, et al. 2001; Jung K, et al. 2000;). В едно проучване се установява че интраиндивидуалната вариабилност на cPSA е най-голяма (25.4%) в сравнение с всички други производни на PSA, което води до статистическия извод че за да има значима разлика между две изследвания на cPSA (с 95% доверителен интервал) е необходимо нарастване с 70.4%(Bunting PS, et al. 2002;).

В заключение приложението на изоформите на PSA в значителна степен подобри отдиференцирането на бенигнените заболявания на простатата от простатния карцином и ще продължи да променя употребата на PSA като скринингов метод, особено след въвеждането на новохарактеризираните изоформи на PSA, като proPSA и BPSA (описани по-надолу). Въпреки това оптимизмът относно приложението на тези изоформи на PSA трябва да бъде смекчен от факта че вариациите в техните гранични стойности довеждат до значително разграничаващи се резултати, както и това че съобщенията относно употребата на тези изоформи се базират на различни методи за изследване, които са обект на значителна вариабилност.

PSA в ниските граници (< 4 ng/mL)

Честотата на простатен карцином при мъже със серумно ниво на PSA 2.0-4.0 ng/mL е обект на множество публикации (Thompson IM et al. 2004; Schroder FH et al. 2000; Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK: 1997;), както и на наскоро приключилото голямо проучване Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT) (Thompson IM et al. 2003;), които доказват високата честота на простатен карцином при нива на PSA < 4 ng/mL. Тези открития са в основата на няколко ключови публикации относно диагностичната стойност на PSA и неговото значение при ранната диагноза на простатния карцином.

Всички участници в проучването PCPT биват подложени на простатна биопсия в края на проучването, като при 15% от участниците в плацебо групата с PSA < 4 ng/mL и нормално DRE се открива окултен простатен карцином (Thompson IM et al. 2004). Разпределението на честотата на простатен карцином спрямо нивото на PSA при тези пациенти е както следва : < 0.5 ng/mL = 6.6%; 0.5-1.0 ng/mL = 10.1%; 1.1-2.0 ng/mL = 17.0%; 2.1-3 ng/mL = 23.9%; и 3.1-4 ng/mL = 26.9%. анализа на специфичността и сензитивността не показва оптимална гранична стойност за PSA, а по-скоро едно постепенно нарастваща с нивото на PSA честота на простатния карцином. (Таблица 6).

Таблица 6. Честота на простатния карцином и сензитивност/специфичност на PSA при нива < 4.0 ng/mL (110)

Ниво на PSA (ng/mL)	Честота на простатен карцином	Сензитивност	Специфичност
3.1 - 4.0	26.90%	20.50%	93.80%
2.1 - 3.0	23.90%	32.20%	86.70%

1.1 - 2.0	17.00%	52.60%	72.50%
0.6 - 1.0	10.10%	83.40%	38.90%
< 0.5	6.60%	Не е изследвана	Не е изследвана

Неяснотите относно индикациите за препоръчването на простатна биопсия в тази популация остават нерешени. Те включват следните въпроси: (1) Каква е вероятността простатните карциноми при нива на PSA 2-4 ng/mL да бъдат клинично "значими"? (2) каква е вероятността мъжете с нива на PSA 2-4 ng/mL да прогресират до "абнормни" стойности (> 4 ng/mL)? и (3) Дали ранното откриване и лечението на тези карциноми на простатата при ниски нива PSA ще доведе до подобряване на контрола на заболяването, преживяемостта и качеството на живот, сравнено с карциномите открити при нива на PSA > 4 ng/mL?

Две големи проучвания са насочени към отговор на въпроса дали простатните карциноми идентифицирани при ниво на PSA < 4 ng/mL са клинично значими. Първото проучване (Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK: 1997) включва 914 мъже с PSA 2.5-4.0 и нормално DRE при скрининговото изследване. Триста тридесет и двама от тези мъже (36%) са подложени на простатна биопсия, като общия брой положителни простатни биопсии е 22%. Всички новооткрити случаи на простатен карцином са били клинично локализирани, като при пациентите при които е проведена радикална простатектомия в 81% простатния карцином е ограничен в жлезата при патоморфологичното изследване, и само 17% са с минимален обем и нисък грейдинг, поради което биха могли да се сметнат за клинично незначими. Второто проучване (Thompson IM et al 2003;) включва анализ на материали от радикална простатектомия при пациенти с преоперативно ниво на PSA 0-3.9 ng/mL, откривайки че поне 50% от тези неоплазми са клинично значими, което се дефинира като обща оценка по

Gleason 7 и повече или наличието на компоненти с Gleason 4/5. В същото проучване 84% от простатните карциноми са локализиращи в жлезата.

Gann (Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ. 1995;) проучва въпроса дали мъжете с ниски изходни стойности на PSA достигат абнормни стойности и дали при тези мъже евентуално бива диагностициран простатен карцином впоследствие, като той съобщава че при мъже с нива на PSA 2.0-3.0 ng/mL в сравнение с нива на PSA < 1.0 ng/mL, релативния риск за диагностициране на простатен карцином е повишен приблизително 5.5; тези находки потвърждават че мъже с изходни стойности на PSA в относително ниските граници 2.0-3.0 ng/mL представляват рискова популация за наличието на окултен карцином или развитие на инвазивна простатна неоплазма, което също подкрепя понижаването на граничната стойност за препоръчване на простатна биопсия. Отговорът на въпроса дали ранното откриване на простатен карцином при PSA < 4 ng/mL води до подобряване на контрола на заболяването и преживяемостта е по-трудно и слабо застъпено понастоящем, въпреки че резултатите от едно проучване по този въпрос предполагат че общата честота на дефинитивно излекуване не се отличава съществено отколкото при нива на PSA > 4 ng/mL при еквивалентни патоморфологични и характеристики на тумора (Carter HB.. 2000;).

Друг много важен въпрос при ниските нива на PSA е ползата от употребата от дериватите на PSA. Няколко мулти-институционални проучвания подкрепят употребата на % свободна PSA при мъже с ниско ниво на тотална PSA (Генадиев 2006, Haese A, 2002;, Makinen T et al 2001;, Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK: 1997;, Djavan B, et al.. 1999;). Като пример, Catalona (Catalona WJ et al. 1999;) ретроспективно изследва 368 замразени проби от серум от мъже подложени на простатна биопсия при серумно ниво на PSA 2.5-4.0 ng/mL и нормално DRE. Отчетено спрямо

брой биопсии, повече простатни карциноми биват откривани при използване на %свободна PSA отколкото при просто понижаване на граничната стойност на тоталната PSA. Въпреки тези обещаващи резултати, способността на изследването на fPSA да разграничава простатния карцином от бенигнените простатни заболявания е значително по-слабо изразена при стойности на тоталната PSA < 4 ng/mL в сравнение с областта на серумни нива на PSA 4-10 ng/mL (Catalona WJ, et al. 1999;). Обобщено намаляването на граничната стойност на PSA до 2.0 или 2.5 ng/mL, особено при по-млади мъже, изглежда не само увеличава откриването на клинично значими, орган-ограничени, простатни карциноми, но също така идентифицира една субпопулация от пациенти с повишен риск от развитие на простатен карцином, въпреки че ефекта върху преживяемостта, както и от употребата на различните изоформи на PSA при ниски нива на PSA, предстои да бъде доказано.

Друг важен въпрос са честотата и времето на започването на PSA скрининга. Американското Дружество за Рака (The American Cancer Society (ACS)) препоръчва ежегоден скрининг чрез PSA и DRE започващ от 50-годишна възраст при всички мъже с очаквана продължителност на живот над 10 години (Smith RA, 2004;). При мъжете с повишен риск, като например Афро-американците и тези с роднина от първа линия, диагностициран с простатен карцином се препоръчва този скрининг да започне на 45 годишна възраст. Мъже с изключително висок риск, покриващи критериите за херeditарен простатен карцином следва да започнат скрининга след 40 години. По отношение на тези високорискови пациенти, ACS постановява че при PSA < 1.0 ng/mL не е необходимо допълнително изследване до 45-годишна възраст. Ако > 1.0 ng/mL, но < 2.5 ng/mL се продължава ежегодния скрининг. При PSA ≥ 2.5 ng/mL е необходимо допълнително изследване и провеждане на простатна биопсия

(Smith RA, 2004;). Подобен алгоритъм на PSA-скрининга е залегнал в препоръките на Американската Урологична Асоциация (American Urological Association) (Carroll et al 2001;) и National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines (Panel NCCNPC 2005). Въпреки че тези проучвания са интригуващи и засягат изключително важни проблеми като честота на провеждане на PSA-базиран скрининг, съществуват реални опасения че честотата на ранно диагностициране ще намалее при скринингови схеми с по-рядко изследване на PSA, и обратното хипердиагностика при прекалено често изследване. Препоръките на ACS подчертават че мъже търсещи лекарска помощ, желаещи да бъдат изследвани не трябва да бъдат разубеждавани, и да бъдат недостатъчно информирани

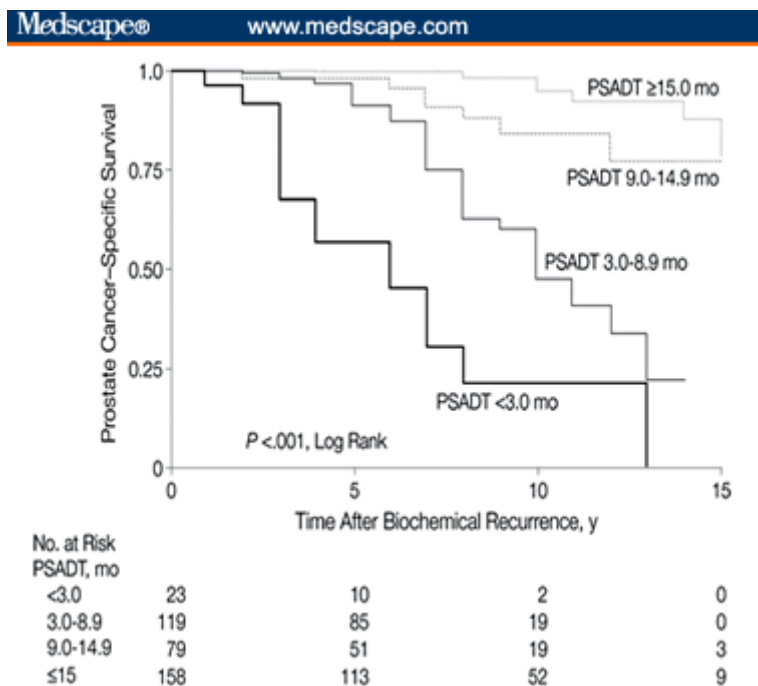
Кинетика на PSA преди и след лечение целящо дефинитивно излекуване

Скоростта на нарастване на PSA, или времето да удвояване на нивото на PSA (PSADT), е ефективен метод за прогнозиране на прогресията на заболяването, особено след първоначалната диагноза, при рецидив на заболяването след първоначалното лечение целящо дефинитивно излекуване, и дори при случаите на хормон-резистентен авансирал простатен карцином (Roberts SG et al. 2001; Patel A et al. 1997; D'Amico AV et al. 2003; D'Amico AV 2002; D'Amico AV 2004; D'Amico AV 2003; Pound CR et al. 1999; Freedland SJ et al 2005;-129).

D'Amico (D'Amico AV et al 2004;) изследва скоростта на нарастване на PSA в годината предхождаща диагностицирането на простатния карцином, установявайки че PSAV е отражение на агресивността на заболяването. В това проучване скоростта на нарастване на PSA е изследвана при 1095 пациенти с простатен карцином в годината преди поставяне на диагнозата, като при всички тях впоследствие е извършена радикална простатектомия.

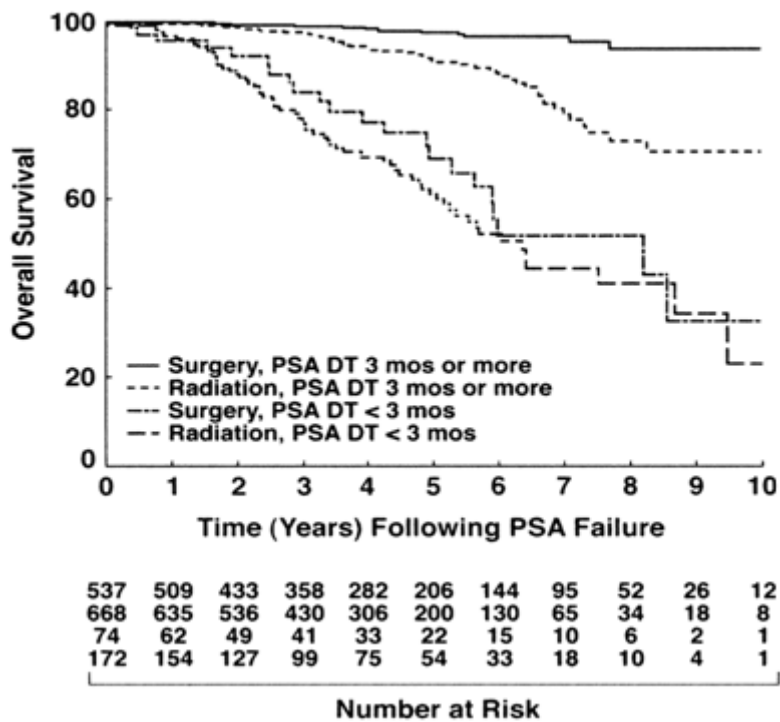
установено е че скоростта на нарастване на PSA през тази година може да служи като прогностичен признак не само за степента на локално разпространение на процеса и времето до появата на рецидив, но също така (и може би по-важно) свързаната с раковото заболяване и общата преживяемост след радикална простатектомия. Като пример при пациент с $PSAV > 2 \text{ ng/mL/година}$ риска от смъртен изход свързан с простатния карцином е над 10 пъти по-висок в сравнение с пациент с $PSAV < 2 \text{ ng/mL/година}$.

Кинетиката на PSA, особено PSADT, е проучвана и във връзка с времето на настъпване на рецидив след радикална простатектомия или лъчетерапия. Различни гранични стойности на PSADT са използвани като прогностичен маркер за прогресията на заболяването и преживяемостта. В едно наскоро публикувано изследване, Freedland (Freedland SJ et al 2005) проучва 379 пациенти с биохимичен рецидив след радикална простатектомия, като ги проследява за наличието на клиничен рецидив и обща преживяемост. Той съобщава че при мъжете с PSADT по-малко от 10 месеца не само се наблюдава значително по-кратък интервал до появата на метастази в сравнение с пациенти с PSADT над 10 месеца, но с намаляване на времето за удвояване на PSA прогресивно са намалява свързаната с простатния карцином преживяемост, което е представено на фигура 1.



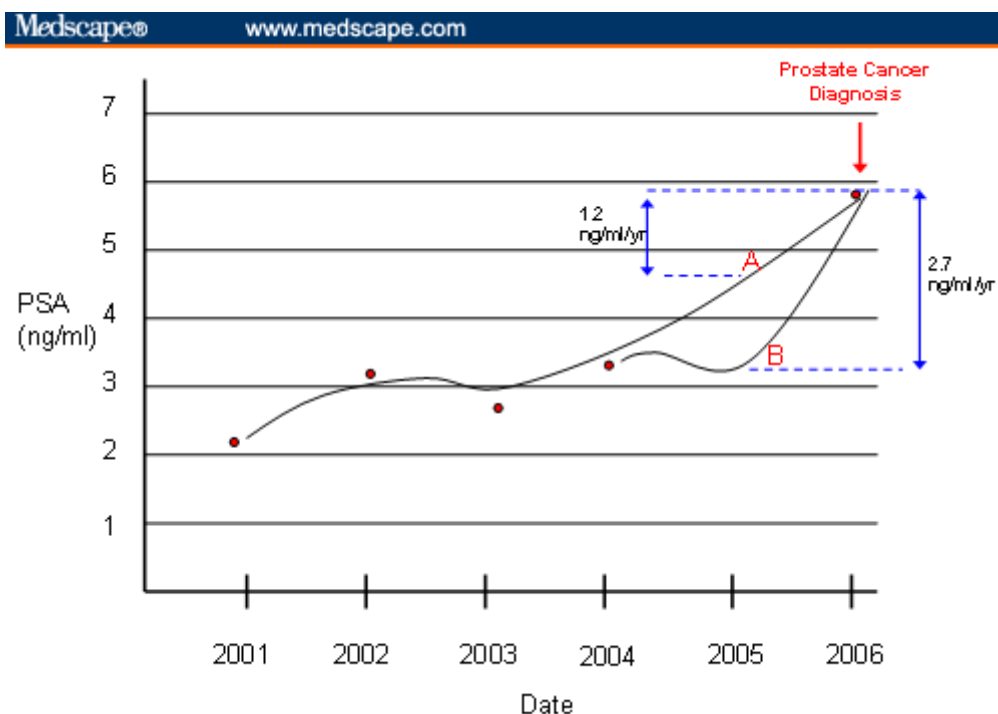
Фигура 1. Свързана с простатния карцином преживяемост в зависимост от PSADT при мъже с биохимичен рецидив след радикална простатектомия.

Естествено при тези анализи на пациенти след радикална простатектомия са използвани и други класически утвърдени, клиникопатологични параметри на заболяването, като например оценката по Gleason, но PSADT е използван като независим прогностичен признак при мултивариабилния анализ. Подобно е проучването на D'Amico (D'Amico AV et al. 2003) включващо 2751 пациенти при които е използвана лъчетерапия с външен лъч като метод на дефинитивно лечение, при което се установява че PSADT под 3 месеца статистически значимо е свързан с повишена смъртност вследствие на простатния карцином (Фигура 2).



Фигура 2. Обща преживяемост при мъже с биохимичен рецидив след радикална простатектомия и външна лъчетерапия в зависимост от PSADT.

Значителен проблем при всички изследвания на динамиката/кинетиката на PSA е методологията на изчисляване на PSAV и/или PSADT. Особено важни са въпросите за необходимия интервал между отделните измервания на PSA и броя на необходимите стойности за да може да се изчисли PSAV и PSADT. Фигура 3 подчертава нуждата от стриктни критерии за изчисляването на PSAV.



Фигура 3. Пример за изчисляване на скорост на нарастване на PSA (PSAV), без налична стойност на PSA в годината предхождаща диагнозата.

Кривата А представлява потенциалния ход на PSAV в годината преди диагнозата приемащ стойност на PSAV 1.2-ng/mL/година. Крива В представя алтернативен вариант за кинетиката на PSA при същия пациент със стойност на PSAV 2.7-ng/mL/година, стойност свързана със значително по-лоша прогноза относно прогресията на заболяването.

Този пример ясно подчертава нуждата от стриктна методология за изследване на кинетиката на PSA. На настоящия етап повечето мъже, които биват диагностицирани с простатен карцином, имат единствено няколко стойности на PSA, като дадена стойност е над граничната и е довела до насочването за биопсия и поставянето на диагнозата. Ако тези наблюдения относно кинетиката на PSA бъдат потвърдени от данните относно скоростта на нарастване на PSA при мъже изследвани в продължение на няколко години преди да бъдат диагностицирани с простатен карцином, и бъдат потвърдени от големи клинични проучвания, тези маркери значително ще променят дизайна на новите клинични

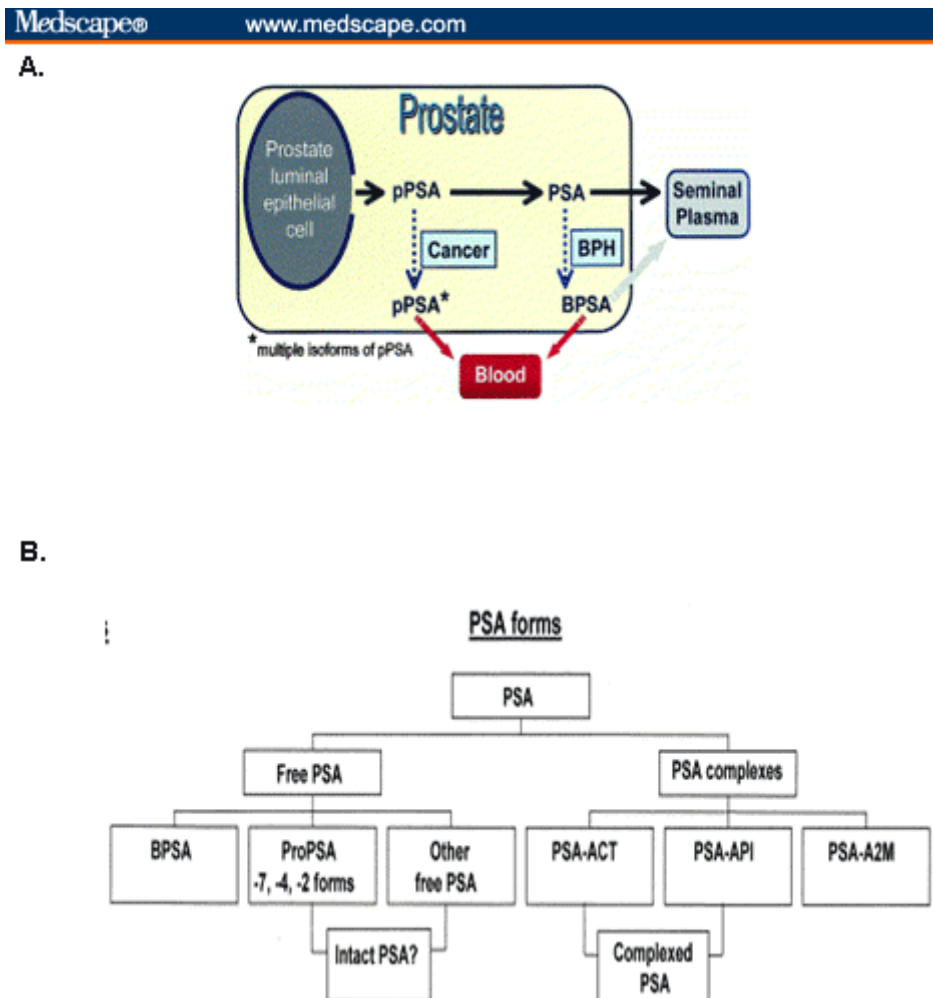
проучвания, препоръките за скрининг за простатен карцином и избора на метод и оптимален момент за дефинитивно лечение.

Употребата на PSA за дефинирането на радикално излекуване след лъчетерапия и използването на PSA за дефинирането на биохимичен рецидив след лъчетерапия или оперативна интервенция е обект на множество спорове и неясноти, обект на множество проучвания (Critz FA, et al. 1999; Zietman AL, Tibbs MK, et al. 1996; Amling CL et al. 2001;). По същия начин нивото и скоростта на намаляване на PSA след андрогенна блокада, химиотерапия или приложението на експериментални лечебни методи е описано в множество публикации (Smith DC, Pienta KJ. 1997; Matzkin H, et al. 1992; Miller J et al 1992;). Понастоящем PSA не е възприет като сурогатен маркер за ефективността на различните терапевтични алтернативи при авансирал простатен карцином (Committee, FDA. 2005). Обаче базата данни относно приложението на изследването на кинетиката на PSA, чрез PSADT или PSAV, непрекъснато нараства, засилвайки позицията на тези маркери при изчисляването на релативния риск, създаването на прогностични модели и създаването на концепции за нови клинични проучвания.

Бъдещи перспективи: други изоформи на PSA и серинови протеази

Най-обещаващото направление в развитието на туморните биомаркери при простатния карцином е свързано с откриването и характеризирането на нови изоформи на PSA и свързаните с нея серинови протеази. PSA циркулира в серума в свободна (несвързана) и комплексна (свързана с протеазни инхибитори, така наречената cPSA) форми (Lilja H et al. 1991;). Свободната fPSA се състои от 2 основни форми на "неактивна PSA": (1) pPSA, проензим (т.е. прекурсор), изоформа на PSA свързана с простатния карцином (Mikolajczyk SD et al. 1997; Mikolajczyk SD, 2001); и (2) BPSA, изоформа подложена на вътрешно разцепване или

дезинтегрирана, свързана предимно с ДПХ и преходната зона на простатата (Mikolajczyk SD 2000;). Изоформите на PSA свързани с алфа1-антихимотрипсина (ACT) и с алфа1-протеазния инхибитор (API) заедно съставляват измеримата комплексна PSA (cPSA) (Фигура 4).



Фигура 4. А. Разпределение на различните изоформи на PSA. В. Формиране на различните изоформи на PSA.

Прекурсорната форма на PSA, pPSA, може да бъде измерена в серума и дава обещаващи резултати относно способността ѝ да разграничава простатния карцином и бенигнените заболявания на простатата (Mikolajczyk SD et al. 1997; Mikolajczyk SD, 2001, Mikolajczyk SD, 2001, Peter J 2001;). pPSA съдържа една допълнителна 7-аминокиселинна последователност в сравнение със зрялата активна PSA и

поради това се нарича [-7]pPSA. Тази 7-аминокиселинна последователност се отцепва под въздействието на hK2 за да се отдели активна PSA, (Takayama TK, Fujikawa K, Davie EW 1997; Rittenhouse HG, Finlay JA, Mikolajczyk SD, et al.. 1998;), въпреки че непълното отцепване на тази аминокиселинна верига може да доведе до образуването на други разклонени форми на PSA (Mikolajczyk SD, 2001, Peter J 2001; Zhang WM, et al. 1995;). Едно скорошно мултиинституционално проучване изследва pPSA, свободната PSA (fPSA), и cPSA в 1091 проби относно тяхната сравнителна способност за ранно диагностициране на простатен карцином (Catalona WJ et al.. 2003). В границите на tPSA 2.0-4.0 ng/mL, изследването на pPSA показва най-висока специфичност при диагностицирането на простатен карцином, значително по-висока от тази на %fPSA или cPSA. В областта на ниво на tPSA 2.0-10.0 ng/mL, съотношението pPSA към fPSA (%pPSA) показва най-висока ROC-AUC и дава статистически значимо по-добри резултати в сравнение с %fPSA и cPSA ($P = .040$ и $< .001$, съответно). Друго скорошно проучване включва изследване на серумни проби при 93 мъже с нива на tPSA 4.0-10.0 ng/mL подложени на 12-точкова простатна биопсия. Когато изследването на pPSA бъде прибавено към изследването на tPSA и %fPSA, общата специфичност на теста е 23%, 33%, и 44% съответно за приложението на tPSA, %fPSA, и всичките три маркера заедно в комбинация, отново показвайки че pPSA повишава точността на вече утвърдените методи (Khan MA, Partin, et al 2003;). Наличните до момента методи и съответно базираните на тях публикации се основават на измерването на общата концентрация на всички изоформи на pPSA – [-7], [-5], [-2], [-4]. Началните резултати от няколко наскоро завършили експериментални проучвания с малък обем предполагат че нивото на [-2] изоформата на pPSA корелира най-тясно с агресивните форми на простатен карцином, но за момента това има само научна стойност. При имунохистохимично оцветяване за тази изоформа на pPSA

се наблюдава интензивно оцветяване в зоните с аденокарцином и HGPIV, слабо оцветяване на нормалния простатен епител и липса на оцветяване на атрофичните жлези, стромата на простатната жлеза, както и на коло-ректалния епител. Интензитета на оцветяването не корелира с грейдинга на тумора. Използването на % pPSA допълнително повишава сензитивността и специфичността на PSA – в областта на серумно ниво на tPSA 2-6 нг/мл изследването на % pPSA дава 90% сензитивност като спестява 31% от ненужните биопсии (сравнено с 20% при %fPSA и 19% при cPSA).

BPSA, която се формира при вътрешно разцепване на активната PSA, е изоформа открита в преходната зона на простатната жлеза при ДПХ и отскоро се проучва като потенциален маркер за разграничаване на простатния карцином от бенигни заболявания. Тя корелира в значителна степен с възрастта на пациента и обема на преходната зона, като представлява един изключително удобен маркер за ДПХ, и оттам за диференцирането му от простатния аденокарцином. Смята се че един от най-перспективните бъдещи методи, базирани на дериватите на PSA, е изследването на съотношението pPSA/BPSA. Khan (Khan MA, et al 2004;) изследва 161 мъже със стойности на %fPSA под 15%, наблюдавайки че ROC-AUC е значително по-добра при използване на съотношението pPSA към BPSA отколкото използването само на %fPSA или на tPSA. Така наречената интактна PSA (iPSA) се получава чрез протеолиза от активната PSA също е проучвана като маркер за ранна диагноза на простатен карцином, като първоначалните данни показват че съотношението iPSA към fPSA подобрява сензитивността и специфичността спрямо различни други утвърдени комбинации от приложението на tPSA и fPSA (Steuber T et al. 2002;, Nurmikko P, et al. 2001).

Човешкият каликреин 2 (hK2) принадлежи към същото семейство серинови протеази като PSA и споделя приблизително 80% от неговата

аминокиселинна последователност PSA (Young CY et al. 1992;). Неговата биологична роля се състои в отцепване на аминокиселинна последователност от pPSA, водещо до превръщането и в активна PSA. За разлика от PSA, експресията на hK2 се повишава плавно не само от ДПХ през локализирания простатен карцином до инвазивния аденокарцином (Darson MF et al. 1999;), но също така плавно нараства от високодиференцираните към нискодиференцираните варианти на простатния карцином (Tremblay RR, et al 1997;). Смята се че експресията на hK2 корелира с патоморфологичния стадий на простатния карцином (Haese A, Graefen M, Becker C, et al. 2003; Haese A, Graefen M, Steuber T, et al. 2001; Haese A, Becker C, Noldus J, et al. 2000;). Освен това hK2 бива секретирани и от нискодиференцираните простатни карциноми, които често не произвеждат PSA. Смята се че повишаването на серумното ниво на hK2 се дължи основно на участъци на простатен карцином с оценка по Глисън 4 или 5. Няколко изследователски групи изследват hK2, самостоятелно или в комбинация с tPSA и/или fPSA, при ранната диагностика на простатния карцином. Няколко публикации специфично разглеждат изследването на нивото на тотален hK2 (Becker C, Piironen T, Pettersson K, et al. 2000; Becker C, Piironen T, Pettersson K, et al 2000), въпреки че повечето проучвания изследват съотношението hK2/fPSA или hK2 умножено по %fPSA (Magklara A, et al. 1999; Kwiatkowski MK, et al. 1998; Recker F, et al. 1998; Partin AW et al. 1999; -164). Например Nam (Nam RK, et al 2000;) съобщава че средното ниво на общия hK2 и съотношението hK2 към fPSA са значително по-високи при пациенти с простатен карцином, в сравнение с мъже с бенигни заболявания на простатата. Подобни са заключенията на Becker (Becker C, et al. 2000) получени при изследването на 604 мъже с PSA > 3.0 ng/mL подложени на скрининг за простатен карцином. В това проучване използването на стойността на серумния hK2 умножена по %fPSA показва значително подобрена сензитивност и специфичност в

сравнение с tPSA или само %fPSA. В проучванията на скандинавските учени (Haese A, Graefen M, Steuber T, Becker C et al 2001), които са най-обширните относно hK2, средното серумно ниво на hK2 при случаите с орган-локализиран простатен карцином е 80 pg/ml (вариращи от 20-250 pg/ml), докато при локално авансирания простатен карцином, където pT>T3a, средното това ниво е 120 pg/ml (вариращо от 30-470 pg/ml)(P=0.004). Алгоритъмът hK2 по %fPSA дава средна стойност 0.47 (0.06-1.60) при орган-локализираните простатни карциноми, сравнено с 0.67 (0.09-3.92) при карциноми с pT>3a. В същата група пациенти разликата в нивото на tPSA не е сигнификантна – средно стойност 5.78 нг/мл при pT2a/b (0.27-10 нг/мл) и 6.12 нг/мл (0.87-9.87 нг/мл) при pT>3a. За момента обаче се смята че въпреки наличните статистически данни, те се базират на ограничена група пациенти с кратък период на проследяване. Поради това на настоящия етап изследването на hK2 не може да се използва като самостоятелен прогностичен маркер за патоморфологичния стадий на простатния карцином при индивидуалния пациент.

Всички тези данни показват че hK2 може да е ефективно допълнение към изследването на PSA; засега обаче не са провеждани проспективни мулти-институционални проучвания за потвърждаването на тези изводи.

През 1992 Moreno (Moreno JG, et al 1992) въвежда концепцията за откриване на клетки от простатен карцином, циркулиращи в системното кръвообращение, чрез използване на обратно – транскриптазна полимеразно-верижна реакция (RT-PCR) за изследване на мРНК на PSA. През 1994 Katz (Katz AE et al., 1994) прави паралел между патоморфологичния стадий на простатния карцином и наличието на циркулиращи ракови клетки. Ограниченията на този PCR-метод са свързани основно с тяхната сложност и субективността на електрофорезата в гел. Идентифицирането на мРНК за PSA достига пълната си

чувствителност само при използването на радионуклиди за автордиография при електрофорезата в гел, което е времеемко и свързано с лъчево натоварване на лабораторния персонал. Друг вариант за визуализиране на резултата от RT-PCR реакцията е предложен от Hoshi и сътр. (Hoshi S, et al 1999,) и включва използването на колориметричната имуносорбентна ензимно-базирана ELIZA реакция. Използвайки ELIZA за визуализиране на хибридният продукт от RT-PCR, тези автори постигат значително по-бързо и чувствително визуализиране на реакцията – за провеждането на ELIZA са необходими 2 часа в сравнение с 12 часа нужни за електрофорезата в гел и последващия Southern-blotting, като молекулярната чувствителност на ELIZA е 10 до 50 пъти по-висока от тази на електрофорезата в гел. Изключително важно е прецизното подбиране на праймерите за RT-PCR, като се има в предвид високата степен на идентичност на PSA с другите продукти на гените от групата на човешките каликреини. При съпоставяне на резултатите от изследването на PSA мРНК и цитологичното и имунохистохимичното изследване на простатни биопсии, оперативен материал от радикални простатектомии и аспирационни биопсии от тазови лимфни възли (Hoshi S et al 1999,), както и материали от други човешки неоплазми и здрави тъкани, се доказва много висока сензитивност и специфичност на PSA мРНК. От всички изследвани материали, наличие на PSA мРНК, освен в случаите на простатен карцином, се наблюдава в някои клетъчни линии от рак на тестиса, като и при пациенти с ДПХ, като оптичния еквивалент на оцветяване на ELIZA и в двата случая е сигнификантно по-нисък от този при простатен карцином.

Deguchi (Deguchi T, Doi t, Ehara H et al 1993) открива клетки експресиращи PSA мРНК във всички изследвани от него материали от лимфни възли, при които има цитологични и имунохистохимични данни за

наличие на метастази. RT-PCR има по-висока сензитивност от тези традиционни методи и открива експресия на PSA мРНК в една подгрупа от проби от лимфни възли (4 от 39), които дават негативна имунохистохимична реакция за PSA. Тези данни се потвърждават при ретроспективен анализ на материали от лимфни възли, поставени в парафинови блокчета, взети от пациенти при които е извършена тазова лимфаденектомия с цел стадиране. При използването на традиционните методи в тези лимфни възли не се откриват данни за наличието на туморни клетки, докато при използването на RT-PCR се открива експресия на PSA мРНК в 16 (29%) от изследваните 56 проби.

В заключение, въпреки че на настоящия етап PSA е най-важния туморен маркер в цялата човешка онкология, новооткритите биомаркери дават изключително обещаващи резултати, приложени самостоятелно или в комбинация с PSA. Ако прогреса на тези нови туморни молекулярни маркери достигне нивата наблюдавани при приложението на PSA и неговите изоформи, те вероятно ще продължат тенденцията на революциониране в областта на простатния карцином, неговата прогноза, диагноза, проследяване и лечение. Областта на серумната протеомика и високоефективни молекулярни анализи дават изключителни резултати и в бъдеще най-вероятно ще представляват новия хоризонт на по-специфични и сензитивни маркери при простатния карцином (Petricoin EF III et al. 2002; Adam BL et al. 2002;). Изключително се залага и на използването на мултивариабилния анализ, под формата на номограми инкорпориращи няколко отделни предикативни фактора като преоперативно ниво на PSA, клиничен TNM стадий, оценка по Глисън на простатната биопсия и много други утвърдени или нови биомаркери. С навлизането на новите биомаркери на простатния карцином показанията за провеждане на простатна биопсия ще продължат да се разширяват отвъд класическите

PSA и DRE с цел подобряване на прогностичните способности и диагностична стойност. Въпреки че броя на тези биомаркери продължава да нараства главоломно, трябва винаги да се има в предвид нуждата от разработване на унифицирани стандарти за тяхното характеризиране, така че те да могат да бъдат сравнявани при различните проучвания и да установим техните предимства по отношение на сензитивност, специфичност, прогностична стойност - ключовите характеристики на всеки туморен маркер.

Бъдещи биомаркери за рак на простатата

Клиничният потенциал на биомаркерите за рак на простатата е огромен и, ако се прояви напълно, има капацитета да направи революция в диагностиката и лечението на това злокачествено заболяване.

Въпреки първоначално обещаващи добри резултати, клиничната ефективност на PSA не отговори на очакванията на медицинското съсловие. Неговите присъщи ограничения означават, че основната му клинична роля е да се прилага като един от няколко индикатори за простатна биопсия наред с аномалния дигитален ректален преглед (DRE) и пикочните симптоми. Клиничната полезност на по-новите биомаркери се състои както в оценяването на нови терапии, така също и в тяхното използване за проследяване на ефикасността на лечението в клиничната практика и съставянето на индивидуални терапии в бъдеще. По-конкретно тези биомаркери могат да се използват за проследяване на прогресирането на болестта.

Потенциални клинични приложения на биомаркери за рак на простатата

- Прогноза на рецидив на заболяването след радикална простатектомия.
- Прогноза за лошо повлияване при лъчетерапия.
- Прогноза за хормоно устойчив рак на простатата.
- Прогноза за лоша реакция към андрогенно аблационната терапия при пациенти с нелокализирано заболяване.
- Маркер за прогресиране на хормонно-рефракторна болест
- Прогноза за преживяемост на пациента
- Като инструмент за подобряване на прогностичната класификация на рака на простатата, позволяващ разграничаване между безболезнени и агресивни тумори и определяне на пациентите, които ще имат най-голяма полза от терапевтична намеса.

Нови перспективи в развитието на туморните маркери при аденокарцином на простатата

Оценката на клетъчни характеристики, които точно прогнозира прогреса на заболяването при отделния пациент е едно от основните предизвикателства на съвременната урологична патология. Традиционно хистопатолозите опитват да предвидят биологичното поведение на заболяването, сравнявайки морфологичните характеристики на малигнената тъкан с нейния нормален доброкачествен еквивалент.

Недостатъците на приложението на PSA и дериватите ѝ, както и особеностите в биологичния прогрес на простатния карцином, доведоха до бум в проучванията насочени към търсенето на нови туморни маркери при аденокарцинома на простатата. В последните години постепенно се

натрупва база данни, подкрепяща бъдещото приложение на няколко нови перспективни диагностично прогностични маркери.

1) АМАСР – a-methylacyl-CoA-racemase

АМАСР е ензим, който играе ключова роля в бета-окислението на разклонените мастни киселини и техните производни; той катализира конверсията на няколко R-метилацил-КоА мастни киселини в техните S-стереоизомери (Kumar-Sinha, C. et al 2004). Тази му роля в процесите на един от най-мощните генератори на свободни радикали е в съответствие с теорията за оксидативния стрес като основен фактор на канцерогенезата в простатната жлеза (De Marzo AM et al 2003).

Най-значимото откритие относно АМАСР е факта че неговата активност е постоянно завишена при простатен карцином. Анализът на нивата на мРНК на гена за АМАСР показва 9-кратно повишение в биопсия от карцином на простатата в сравнение с нормална простатна тъкан. Задълбочено имунохистохимично изследване показва че активността на АМАСР е повишена и при PIN с висок грейдинг. Смята се че АМАСР е маркер за наличието на простатен карцином, но не непременно за неговата агресивност – не се открива корелация между нивото на ензимна активност и Gleason – скората. Изключително важно за приложението на този туморен маркер е възможността за прилагането му при tru-cut биопсии – в биопсиите съдържащи фокуси на простатен карцином се наблюдава средно 6.6-кратно увеличение на активността на АМАСР в сравнение с бенигнената тъкан. В същата серия резултатите показват че 12 от 13 биопсии, съдържащи огнища на карцином, имат силно завишена активност на АМАСР, докато само 4 от 37 бенигнени простатни биопсии показват повишена активност. Тези данни говорят за 92.3 % сензитивност и 89.2 % специфичност на теста, което показва че метода е приложим като

бърз и точен тест при вземането на tru-cut биопсия на простатата. В момента се провеждат проучвания, които да изяснят връзката между AMACR и ролята му в бета-окислението и канцерогенезата на простатната жлеза.

2. DD3^{PCa3} (differential display code 3)

В настоящия момент DD3^{PCa3} е най-специфичния маркер при малигнените заболявания на простатата. Неговата експресия е значително повишена в над 95 % от пробите от простатен карцином. Той е разположен на хромозома 9q21-22. При изследване на множество нормални човешки тъкани (млечна жлеза, пикочен мехур, тестис, гастроинтестинален тракт, мускулна тъкан) не се наблюдава експресия на този ген. Експресия на този ген не се наблюдава и при изследването на някои от най-честите типове човешки епителни тумори – млечна жлеза, ендометриум, маточна шийка, тестис. Всъщност единствените два типа тъкан при човека в които се наблюдава слаба експресия на DD3^{PCa3} са простатната жлеза и бъбрека. Експресията на DD3^{PCa3} е изключително ниска при нормалния простатен епител и бенигнената простатна хиперплазия, докато при карциномна трансформация на простатния епител тя е значително повишена. В една серия от оперативни материали от радикална простатектомия 53 от 56-те проби изследвани с Northern blot са били силно положителни за DD3^{PCa3} (Schalken J, Hessels D, Verhaegh G 2003)

Липсата на определен пептиден продукт от действието на гена DD3^{PCa3} представлява значително препятствие пред използването му като диагностичен и скринингов метод, особено чрез използване на класически метод базиран на реакцията антиген-антитяло. В тази ситуация единствения субстрат подходящ за проучване е мРНК (Jack Groskopf, et al

2006). Високата степен на повишаване на експресията на гена и неговата висока специфичност предполагат изключително висока клинична ефективност на изследването на DD3^{PCa3} като диагностичен метод за простатен карцином, като неговото ниво освен в туморна тъкан може да бъде изследвано и в урина, простатен експримат, кръв. Неотдаващите резултати от проучването REDUCE показват, че PCA3 изследвано след две години от мъже с отрицателна биопсия в значителна степен прогнозира резултата на четвъртата година при мъже, които получават 5- α редуктазен инхибитор ($p < 0.001$) (Aubin SM et al 2011). Тези резултати са потвърдени и показват, че PCA3 превъзхожда PSA при откриване на рак на простатата и предлага по-добра диагностична точност, когато се комбинира с PSA и други клинични променливи (Aubin SM et al 2010). Нещо повече, съществува хипотезата, че PCA3 може да установи по-агресивните видове рак на простатата и недиагностицирани видове рак. В светлината на наличните данни от научните проучвания и целесъобразността на неинвазивния уринарен диагностичен тест при PCA3 този биомаркер се проявява като един обещаващ тест за откриване на рак на простатата. Въпреки това обаче, независимо от търговски наличния уринарен PCA3 тест за прилагане в съчетание с PSA оценка (PROGENSA PCA3), PCA3 тестът все още предстои да бъде широко възприет в клиничната практика при пациенти с повторни отрицателни биопсии (Groskopf J et al 2006).

PCA3 като диагностичен инструмент

Редица проучвания оценяват PCA3 нивата в урината като за целта се използва широко разнообразие от диагностични тестове, включително АРТМА, флуоресцентен метод на разсейване във времето (TRF) RT-PCR (полимеразна верижна реакция в реално време) и усилване на рибонуклеиновата поредица (uPM3). Във всяко проучване се взема проба от урина след DRE и се измерва PCA3 и се нормализира до PSA mRNA

ниво, за да се получи PSA резултат. Данните от тези проучвания показват, че PCA3 резултатите дават сравнително високо ниво на чувствителност (58-92%) и специфичност (66-89%) с област под получената работната крива от 0.66-0.87.

В едно проучване, което включва анализ на подгрупа от 94 пациенти с PSA нива по-ниски от 4.0 ng/ml, PCA диагностичната проба на урина се свързва със 74% чувствителност и 91% специфичност (Fradet Y et al).

Освен това оценката на PCA3 при 223 мъже, подложени на втора биопсия на простатата след предишна отрицателна биопсия с устойчиво високи PSA нива показва, че PCA3 нивата в урината са значително по-точен прогнозен критерий за ранен рак на простатата отколкото серумния PSA (ROC:0.68; 95% CI:0.60-0.76).

PCA3 като прогностичен биомаркер

Скорошни данни предполагат, че PCA3 може да има клинична полезност за установяване на пациенти с малки по обем и степен тумори, като по този начин се предотврати свръх лечението на безсимптомното заболяване (Nakanishi et al 2008). В едно проучване на мъже, които са записани за биопсия на простатата (59 на брой) или радикална простатектомия (83 на брой) се открива, че PCA3 резултата в значителна степен съответства на общия туморен обем във взетите при простатектомия образци ($p=0.008$) и също така се свързва с резултата на Глийсън при простатектомия (6 vs ≥ 7 ; $p=0.005$), въпреки че не се свързва с други клинични и патологични признаци. Също така е очевидна една съществена разлика в PCA3 резултата при съпоставяне на малките по PSA обем и нисък клас видове рак (тумори с обем < 0.5 мл, резултат по Глийсън -6) и значителните злокачествени тумори ($p=0.007$).

Подобно на горните резултати в едно голямо европейско проучване на 463 мъже, планирани за повторна биопсия се установява, че PCA3 резултатът от пробата на урина е по-висок при мъже в по-напреднала клинична фаза, по-силно изразен клиничен резултат и съществен по размер рак на простатата при биопсията в сравнение с индолентния/безболезнен рак на простатата. Освен това, мъже с висока степен на PIN имат по-висок среден PCA3 резултат. Тези предварителни констатации гарантират по-нататъшното валидиране на резултатите в широко-мащабни проучвания, но предполагат, че PCA3 може да повиши вероятността от откриване на рак на простатата при повторна биопсия и да се избегне повторна отрицателна биопсия.

Потенциална клинична ползност на PCA3 като биомаркер за рак на простатата

- Търговски наличен като неинвазивен диагностичен тест на урина
- все още предстои да се внедри широко в клиничната практика при пациенти, които имат повторни отрицателни биопсии
- Може да открие ранна фаза на рак на простатата по-точно от серумния PSA.
- Предварителните данни говорят за връзка между PCA3 и агресивността на рака
- Може да има клинична полза при уточняването на мъже с високодиференцирани тумори с малък обем
- След като по-нататъшните проучвания определят точните прагове на PCA3 за откриване на рак на простатата, ще е възможно по-точно тълкуване на резултатите, като по този начин нараства вероятността от откриване на рак на простатата при повторна биопсия, с което се избягват повторно отрицателните биопсии.

3. GSTP1 (glutathione-S-transferase P1)

GSTP1 е детоксикиращ ензим, като катализира процесите на конюгация на между потенциално опасните свободни радикали и електрофили и глутатион – SH-аминокиселина – основен защитен механизъм срещу оксидативния стрес. Експресията на GSTP1 намалена в почти 100 % от изследваните проби от простатен карцином, като това почти винаги е пряко следствие от хиперметирането на CpG островите в промотерния регион на GSTP1 гена. Инактивирането на този ген оставя клетките незащитени спрямо увреди на ДНК в резултат на оксидативния стрес и податливи към натрупването на грешки в генома и оттам мутации. Теорията за хроничния оксидативен стрес като основен етиопатогенетичен фактор за развитието на простатния карцином бива подкрепена от все повече и повече доказателствен материал. В този контекст своето място намира и намалената експресия на GSTP1 в клетки от простатен карцином.

При проучване на хиперметирането на GSTP1 промотера чрез лазерна микродисекция (De Marzo AM 2003) такава не се открива при нормалния простатен епител (0 от 22), наблюдава се при 6.3 % от случаите с PIA (4 от 64 случая), при 68.8 % от простатните жлези с HG-PIN участъци (22 от 32 случая) и в 90.9 % от случаите с инвазивен аденокарцином (30 от 33 случая). Оказва се че хиперметирането на промотерния регион на GSTP1 е една от най-често наблюдаваните молекулярни промени при простатния карцином. Проучена е и възможността за изследване на хиперметирането на CpG островите при GSTP1 в урина и в простатен експримат като скринингов тест за ранна диагностика на простатния карцином (Croccito L et al, 2004)(Cairns P et al, 2001). Въпреки че чувствителността и положителната предиктивна стойност

при изследването на телесни течности, а не на туморна тъкан, не са особено високи, този тест има много висока негативна предиктивна стойност (72 %) и почти абсолютна специфичност. Тези характеристики правят теста изключително полезно допълнение към съвременните алгоритми за диагностика на простатния карцином, които водят до значителна хипердиагностика с множество ненужни инвазивни биопсични процедури.

4. CHEK2

CHEK2 е ген отговорен за резистентността към малигнени заболявания в множество органи и системи. Активирането на *CHEK2* киназата в отговора на настъпила увреда на ДНК, предотвратява навлизането на клетката в митотичния цикъл. Наблюдавана е взаимовръзка на определен алел на *CHEK2* с предразположението към карцином на простатата в Северна Америка и Европа (Meijers-Heijboer, H., et al. 2002)

. В Полша са установени три полиморфни варианта на *CHEK2*, който, взети заедно, се откриват в 5.5% от популацията (Cybulski, S., et al, 2004). Единия от тези варианти I157T, свързан със замаяната на изолевцин с треонин, е свързан с повишен риск от карцином на простатата, на млечната жлеза, коло-ректален карцином и карцинома на щитовидната жлеза.

5. Гени свързани с андрогенната хомеостаза. Роля на полиморфизмите на CYP1B1, SRD5A2 и CYP19 при рака на простата.

CYP1B1. В етиологията на рака на простатата основно модулиращо действие има хормоналното въздействие на андрогените, въпреки че неговата роля в последните години е подложена на цялостна преоценка (Bosland, M.C., 2000).

Ензимът CYP1B1 има роля в катализирането на хидроксилирането на тестостерона. Първоначалните данни сочат че някои често срещани полиморфни варианти могат да увеличат активността на ензима и оттук да играят роля в карциногенезата на простатата (Chang, B.L., et al. 2003). Относно ролята им в андрогенния метаболизъм, поне четири независими проучвания откриват връзка между един или повече генетични варианта на гена CYP1B1 и повишен риск от простатен карцином (Dong, J.T. 2006) (Chang, B.L., et al. 2003). (Fukatsu, T., et al. , 2004) (Tanaka, Y., et al. , 2002). (Tang, Y.M., et al. 2000)

CYP19. Генът *CYP19* кодира синтеза на ензима ароматаза, катализиращ необратимата конверсия на андростенедион до естрон и на тестостерона до естрадиол. Ароматазата се намира в гонадите и в екстрагонадни тъкани, включително мастната тъкан и простатата. мРНК на ароматаза се открива както при ДПХ, така и при карцинома на простатата. (Hiramatsu, M., et al. , 1997). Ароматазните инхибитори (Anastrozole (Arimidex®), Letrozole (Femara), Exemestane (Aromasin), Aminoglutethimide) изпълняват своята анти-туморна активност изчерпвайки нивата на циркулиращи стероиди.

Наскоро бе открита асоциация между варианта на *CYP19* T201M и честотата на простатния карцином (Mononen, N., et al. , 2006). Интересно е че тази мутация се открива само при пациенти с ограничено в жлезата заболяване, както и при такива с ниски стойности на ПСА при диагнозата.

SRD5A2. SRD5A2 е локализиран на хромозома 2(2p23) и кодира ензима 5 α -редуктаза тип 2. Този мембранно-свързан ензим катализира необратимти преобразуване на тестостерона в основния простатен андроген дихидротетостерон (ДХТ). Афинитета на ДХТ към андрогенния рецептор на простатните клетки е пет пъти по-висок от този на тестостерона. Доказано е че активността на 5 α -редуктазата е най-ниска при азиатците, следвани от бялата раса и е най-висока при черната раса, което

отговаря на относителния риск за развитие на простатен карцином в зависимост от расовата принадлежност.

Генетичните вариации на *SRD5A2* вероятно са свързани с риска от развитие на простатен карцином и прогреса на заболяването. Първоначалните данни доведоха до последващ мета-анализ на три варианта на *SRD5A2*: ТА-динуклеотиден повтарящ се полиморфизъм откъм 3' края, заменяне на валин с левцин в кодон 89 (V89L), и субституция на аланин с треонин в кодон 49 (A49T).

Съществуват множество други локуси, полиморфни варианти в които се предполага че са свързани с простатната карциногенеза. В хода на две от най-съвременните и обширни цело-геномни проучвания на рака на простатата, особен интерес предизвиква локуса 8q24 в хода на две независими целогеномни проучвания (Yeager, M., et al., 2007) (Haiman, S.A., et al., 2007). Според едно от тези проучвания кумулативния риск, носен от този генотип е 32% за бялата раса и достига до 68% при афро-американците. Наличието на независими групи от алели в 8q24 които заедно допринасят за повишаването на риска от простатен карцином, може да се обясни от техния кумулативен ефект върху общовалидни биологични механизми. Например тези отделни SNPs могат независимо един от друг да повлияват регулацията на един и същи близко разположен онкоген като прото-онкогена *tus*. Това обяснение е в унисон с факта че соматичните амплификации на ниво 8q са едно от най-често наблюдаваните генетични събития при карцинома на простатата.

6. Ki67 labeling index - Ki67LI

Изследването на пролиферативния индекс за Ki67 (Ki67 labeling index - Ki67LI) се утвърждава като един от основните маркери за пролиферативната активност на простатния карцином и оттам за неговата биологична прогресия. Интересен е факта че експресията на Ki67 не се влияе в значителна степен от хетерегенността на тумора, което го прави особено подходящ за приложение при изследването на tru-cut биопсиите. Ki67 – протеинът представлява ядрен антиген свързан с клетъчната пролиферация и бива експресиран от всички клетки в процес на пролиферация (фази G1, S, G2 и M на клетъчния цикъл), но не и от клетките в покой (фаза G0). Имунохистохимичната реактивност на Ki67 се наблюдава в клетъчното ядро, като оцветителния индекс за Ki67 се дефинира като процента положителни клетки при изброяването на поне 500 съседни клетки в зоната на най-изразено оцветяване (Bubendorf L, Tria C, Gasser T 1998). Като гранична стойност за оцветителния индекс за Ki67 се приемат различни стойности – 1.5%, 3.5% и 7.5% позитивни клетки. Доказана е значителна корелация между високия Ki67LI и високи стойности на Gleason score ($p=0.0006$). Анализът на преживяемостта ясно показва че туморите с висок Ki67LI имат значително по-агресивно поведение и са свързани със значително по-лоша прогноза ($p=0.007$). При мулти-вариабилен анализ на различни прогностични маркери на настоящия етап (Gleason score, процент на туморната тъкан в биопсичния материал, p53 имунохистохимично оцветяване и др.) показва че Ki67LI е независим прогностичен маркер по отношение биологичния прогрес на простатния карцином (Bubendorf L, Tria C, Gasser T 1998). Висок Ki67LI корелира с напреднал локален растеж на тумора (T3 и T4, $p=0.003$), висок Gleason score (над 7, $p=0.017$), високи изходни стойности на PSA (над 10, $p=0.0003$), анеуплоидия, неуспех от лъчетерапията ($p=0.0009$). По отношение на рецидивите след лъчетерапия, при Ki67LI < 1.5 % не са наблюдавани такива при 4-годишно проследяване, докато при Ki67LI >

3.5% честотата е 67 % за същия период (Khoo VS et al 1999), като единствено базисната стойност на PSA има по висока статистическа значимост като прогностичен маркер относно успеха на радиотерапията. При проучването на Ki67LI при пациенти след радикална простатектомия се наблюдава хетерогенност на оцветяването със средна стойност 7.5 % , не се открива корелация между Ki67LI и статуса на регионалните лимфни възли. Зависимостта между локалното разпространение на тумора (T-стадия) и Ki67LI не достига статистическа значимост, като има ясна тенденция към по-високи стойности на Ki67LI при локално авансиралите тумори. Високите стойности на Ki67LI показват статистическа значима корелация с намаляване на интервала до настъпването на рецидив ($p=0.02$). При мултивариабилен анализ относно преживяемостта след радикална простатектомия се оказва че само Ki67LI и локалния растеж на тумора имат независима прогностична стойност. Статусът на регионалните лимфни възли и Gleason score, както и чистотата на резекционните линии са останалите параметри, които статистически значимо повлияват прогнозата при пациентите след дефинитивно хирургично лечение на простатния карцином, но не могат да бъдат използвани като независими предиктори. Всички тези факти правят много вероятно бъдещото включване на изследването на Ki67LI в рутинната обработка на простатни биопсии, най-вече тези след радикална простатектомия.

7. TMPSS2-ERG

TMPS2-ERG е първото генно пренареждане, което може да се установи при пациенти с рак на простатата. То се получава от фузията на ETS гена на транскрипционния фактор с андрогенно - контролирания ген TMPS2. Свързани с ETS генни сливания са налице при приблизително 50% от

пациентите с рак на простатата, а от тях около 90% са TMPRSS2-ERG, които обикновено липсват при доброкачествената тъкан на простатата.

Въпреки че редица проучвания са изследвали корелацията между TMPRSS2-ERG и прогнозата при рака на простатата, резултатите са противоречащи (Tomlins SA et al., 2009), като е вероятно това да се дължи на малкия обем на извадката и недостатъчното проследяване. Един по-агресивен фенотип и лоша прогноза се свързва с TMPRSS2-ERG в няколко проведени проучвания. Например в едно шведско проучване на мъже с локализиран рак на простатата, последвано от очаквано /внимателно/ изчакване се наблюдава връзка между TMPRSS2-ERG специфичната смъртност от рак на простатата (кумулятивното съотношението на разпространение е 2.7 при $p < 0.01$) (Demichelis F).

Потенциална клинична ползност на TMPRSS2-ERG като биомаркер за рак на простатата

- Първото генно пренареждане, което се открива при пациенти с рак на простатата
- Свързаните с EST генни сливания се откриват у приблизително 50% от пациенти с рак на простатата; като от тях над 90% са TMPRSS2-ERG
- Неинвазивен тест на урина
- Потенциален биомаркер за диагностициране и стратифициране на пациенти с рак на простатата
- EST сливанията могат да се установят с процент на специфичност в PSA -скринираните групи в порядък от $>90\%$.

Заклучение

Въпреки своите ограничения и слаба специфичност, PSA остава текущата основна наличност като биомаркер при диагностициране и прогноза за рака на простатата. Но вече нови, търговски налични и одобрени биомаркери, от рода на PCA3, предлагат възможността за подобрена чувствителност и специфичност. CTCs изглежда предлагат по-добра прогностична стойност в сравнение с PSA и се оказват полезни като заместващ маркер в клинични проучвания.

Тези нови инструменти могат в крайна сметка да улеснят не само диагнозата, стратификацията на риска от развитие на рак и прогнозата за прогресиране и метастази, но също да дават прогноза за рецидив на заболяването и да проследяват ефективността на лечението при това злокачествено заболяване. Освен това настъпването на нови терапевтични подходи от рода на химиопревенция и генна терапия ще изисква по-надежден набор от маркери за развитието им. С набирането на скорост при изследване на нови молекулярни биомаркери, широкото приложение на нови маркери, които да заместят или допълват използването на PSA вероятно ще се случи в скоро време. Въпреки това необходимостта от силно специфични биомаркери за рак на простатата вероятно ще направят необходимо използването на биомаркерен панел, за да се постигне една програма за цялостен скрининг, която е достатъчно чувствителна и специфична с оглед на предоставянето на добра прогностична стойност.

Основни изводи

От въвеждането на PSA изследването в края на осемдесетте години, разпространението на рака на простатата се е увеличило, но процента на смъртност започна да спада.

Въпреки и да е полезен биомаркер за откриване на рак на простатата, ранния PSA скрининг не успя да намали значително смъртността конкретно при рак на простатата

Ключов приоритет е разработването на надеждни биомаркери, които могат да установят рак на простатата, който изисква незабавна и агресивна терапия

- PCA3 е търговски наличен като уринарен диагностичен тест, но все още не се използва широко в клиничната практика при пациенти, които имат повторни отрицателни биопсии.
- Понастоящем има валидирана система за откриване на CTCs в кръвната проба
- TMPRSS2-ERG може да се окаже следващия търговски наличен уринарен скринингов тест за установяване на агресивността на рака на простатата; по-нататъшните изследвания ще изяснят този въпрос

Други молекули в разработването на биомаркери включват: uPA, TGF- β 1, IL-6, PSS, PSMA, GSTP1 метилация, hK2, cPSA, pro-PSA, IGF-1, специфични антитела при рак на простатата и AMACR. Всички те са показали в различна степен обещаващи резултати като потенциални скринингови и прогностични биомаркери за рак на простатата.

Необходимостта от биомаркери за рак на простатата с висока чувствителност и специфичност в бъдеще вероятно ще наложат използването на биомаркерни панели за постигане на точна диагноза и прогноза за развитието на болестта

Изводи от литературния обзор

- Основната дилема в настоящото поведение по отношение на простатния карцином е невъзможността да се отдиференцират клинично значимите случаи на заболяването (случаите с метастатичен потенциал, които биха предопределили продължителността и качеството на живота на пациента) в стадии, когато те са локализирани в жлезата, преди наличието на инвазивно и метастатично развитие. В тази група са пациентите, които биха имали максимален ефект от агресивната, потенциално дефинитивна терапия.

- От друга страна болните с клинично несигнификантни простатни карциноми (анатомични локализирани, които още не са развили потенциално метастатичен фенотип) не изискват агресивно поведение по отношение на диагностиката и лечението, като чрез спестяването на пациентите на ненужни лечебно-диагностични мероприятия значително се намалява свързаната с тях заболеваемост

- Оценката на клетъчни характеристики, които точно прогнозира прогреса на заболяването при индивидуалния пациент е едно от основните предизвикателства на съвременната урологична патология. Традиционно хистопатолозите опитват да предвидят биологичното поведение на заболяването, сравнявайки морфологичните характеристики на малигнената тъкан с нейния нормален доброкачествен еквивалент. Въпреки че този подход доведе до идентифицирането на някои общи структурни характеристики на простатния карцином като нозологична единица, той е напълно неадекватен за прогнозиране на хода на заболяването при отделния пациент в момента на диагнозата

- На настоящия етап проучванията върху диаметрално разположените крайности на неоплазиите на простатния епител (най-ранните идентифицируеми огнища на *in situ* неоплазия от една страна и агресивния

инвазивно-метастатичен простатен аденокарцином) биват обединявани с оглед дефинирането на интимните клетъчно-молекулярни механизми, предопределящи произхода и развитието на преканцерозата и раковото заболяване.

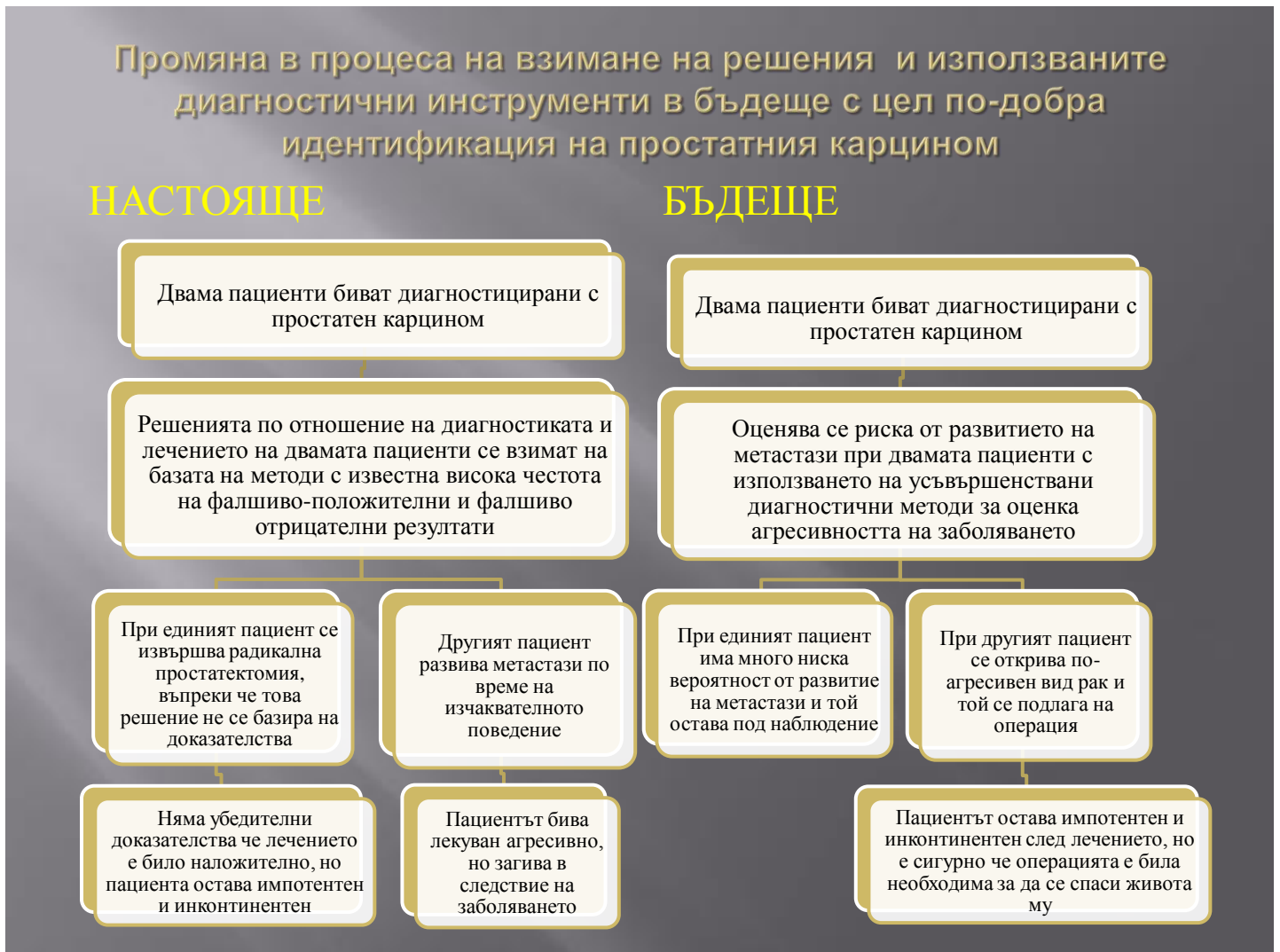
- Обособени са няколко гена, чиято мутация или модифицирана експресия позволява прецизно прогнозиране на биологичния прогрес на малигнитета. Предполага се че някои от тези гени ще се превърнат в бъдещ обект на молекулярно-генетични терапевтични интервенции и контролиране на потенциално метастатичния карцином на простатата

- От въвеждането на PSA изследването в края на осемдесетте години, честотата на рака на простатата се е увеличила, но процента на смъртност започна да спада. Въпреки и да е полезен биомаркер за откриване на рак на простатата, ранния PSA скрининг не успява да намали значително смъртността конкретно при рак на простатата. Ключов приоритет е разработването на надеждни биомаркери, които могат да установят рак на простатата, който изисква незабавна и агресивна терапия

- Тези нови инструменти могат в крайна сметка да улеснят не само диагнозата, стратификацията на риска от развитие на рак и прогнозата за прогресиране и метастази, но също да дават прогноза за рецидив на заболяването и да проследяват ефективността на лечението при това злокачествено заболяване. Освен това настъпването на нови терапевтични подходи от рода на химиопревенция и генна терапия ще изисква по-надежден набор от маркери за развитието им. С набирането на скорост при изследване на нови молекулярни биомаркери, широкото приложение на нови маркери, които да заместят или допълват използването на PSA вероятно ще се случи в скоро време. Въпреки това необходимостта от силно специфични биомаркери за рак на простатата вероятно ще направят необходимо използването на биомаркерен панел, за да се постигне една

програма за цялостен скрининг, която е достатъчно чувствителна и специфична с оглед на предоставянето на добра прогностична стойност.

Дефиниция на проблема



Фиг 5 Визуално представяне на настоящите и бъдещите алгоритми за поведение при простатен карцином

Цел и задачи

Цел

Проспективно проучване на ролята на настоящи и експериментални туморни маркери и прогностични модели в скрининга, диагностиката, лечението и прогнозата на аденокарцинома на простатната жлеза.

За постигането на тези цел си поставихме следните задачи:

Задачи:

1. Да проучим демографската и клиничната характеристика на контингента от пациенти по проблема простатен аденокарцином в нашата институция.

2. Да разгледаме актуалните методи за ранна диагностика, скрининг и стадиране на простатния аденокарцином

3. Да проучим индикациите и резултатите от хирургично лечение.

4. Да проучим съвременните индикации и протоколи, предимства и недостатъци на трансректалната простатна биопсия

5. Създаване на био-банка биобанка от пациенти с рак простатата и контроли с оглед настоящи и бъдещи проучвания в областта на онкогенетиката на простатния карцином.

6. Да проучим прогностичното и диагностичното значение на туморните маркери и уни- и мултивариабилните прогностични модели при пациенти насочени за извършване на биопсия по повод съмнение за наличие на карцином на простатната жлеза.

7. Да проучим прогностичното и диагностичното значение на туморните маркери и уни- и мултивариабилните прогностични модели при пациенти с карцином на простатната жлеза насочени за извършване на радикална простатектомия в нашата институция

8. Въз основа на получените резултати да предложим диагностичен и терапевтичен алгоритъм за взимането на , както и такъв за следоперативно наблюдение на оперираните вече пациенти.

9. Създаване и разпространение на унифицирани клинични протоколи и информационна карта на пациентите с оглед създаването на единна база данни и провеждането на мултидисциплинарни проучвания и дългосрочно наблюдение на пациентите с простатен карцином.

Използвани методи на изследване

1. *Клинични методи*
2. *Образни методи*
3. *Лабораторни методи*
4. *Хирургични методи*
5. *Хистологични методи*
6. *Прогностични методи базирани на големи реферативни проучвания – номограми, таблици, стратифициране по рискови групи*
7. *Статистически методи*

Материали и методи

Характеристика на клиничния контингент

За да отговорим на задачите поставени в настоящия труд клиничния контингент е разделен на три групи пациенти и здрави контроли, диагностицирани, лекувани и проследени в Клиника по Урология към УМБАЛ "Александровска", Катедра по Урология, Медицински Университет – София в периода 11.2006-12.2010 г. в тясна мултидисциплинарна колаборация с Катедрата по Обща и Клинична Патология на УМБАЛ "Александровска" – МУ София и Център по Молекулярна медицина – Медицински Университет – София

Група 1 – Пациенти подложени на простатна биопсия в нашата институция за периода 11.2006 – 12.2010 – 425 мъже на възраст от 50-105 години (средна възраст 69.04 години), разпределението по възрастови групи е представено на следната графика:

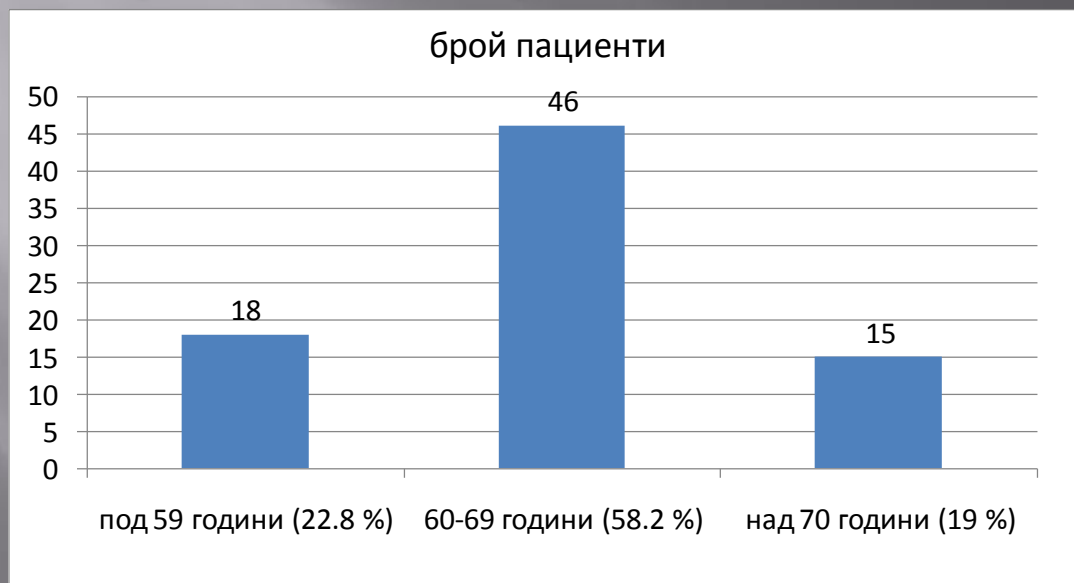
Възрастово разпределение на пациентите подложени на биопсия на простата



Фиг 6 Възрастово разпределение на пациенти подложени на биопсия на простатата

Група 2 – Пациенти с доказан простатен карцином, преценени като подходящи за радикална простатектомия и оперирани в нашата институция за периода 1.2007 – 12 .2010 – 79 мъже на възраст от 53 до 78 години (средна възраст 64,55 години), разпределението по възрастови групи е представено на следната графика)

Възрастово разпределение на пациентите подложени на радикална простатектомия



Фиг 7 Възрастово разпределение на РП

Група 3 – Група от пациенти с доказан простатен карцином (214 пациента, средна възраст 67.65 години(38-86 години)) и контролна група от пациенти с ДПХ и здрави мъже над 50 години(161 пациента, средна възраст 67.65 години(50-91години), от които са взети проби за генетичен анализ – кръв, урина, биопсична тъкан

Източници на информация – основен източник на информация са придружаващите извършването на биопсия и радикална простатектомия истории на заболяването. При започване на проучването бе създадена статистическа карта на пациента (приложение 1), която бе превърната от автора в електронна таблица

Дизайнът на проучването е проспективен с контролна група от здрави мъже, което проучване цели да проучи съвременните подходи и бъдещите алтернативи и варианти за приложение на туморни маркери и прогностични модели при скрининга, диагностиката и лечението на простатния аденокарцином.

Методи на проучването

1. Клинични методи:

- **Анамнеза на настоящите оплаквания** – данни за СДПП, хематурия, костни болки, предходни манипулации на долните пикочни пътища,
- **Фамилна анамнеза** – данни за случаи на простатен карцином при мъжете в семейството, данни за други малигнени заболявания в роднини по кръвна линия– карцином на коло-ректума, карцином на млечната жлеза при жените в семейството, карцином на яйчника,
- **Данни за придружаващи заболявания** – изключително важни за преценката на по-нататъшното терапевтично поведение
- **Статус** – общ статус, насочено дигитално ректално изследване на простатната жлеза

2. Образни методи:

- **Ехография на пикочната система** – дава информация за състоянието на бъбречен паренхим, наличие на уростаза, дебелина на стената на пикочен мехур, наличие на ПЗП в пикочния мехур, обем остатъчна урина, приблизителен обем на простатната жлеза

- **Трансректална ехография на простатната жлеза** – рядко се използва като самостоятелен метод – по-често е първа стъпка в извършването на простатна биопсия
- **КАТ и ЯМР на малък таз** при доказан простатен карцином с оглед стадиране – оценка на нивото на локална инвазия и наличието на тазова лимфаденопатия; и двата метода се отличават с ниска сензитивност, поради което непрестанно се търсят алтернативи и методики за подобряването им
- **Целотелесна костна сцинтиграфия** – метод за търсене на костни метастази при доказан простатен карцином; извършва се или като самостоятелно изследване (целотелесна костна сцинтиграфия с Tc-m-99-метилен дифосфат, или в комбинираната фузионна техника SPECT/CT която комбинира целотелесен КАТ и костна сцинтиграфия

3. Лабораторни методи:

- **tПСА** – извършено в сертифицирани лаборатории, при налична само една стойност под 10 нг/мл задължително повторно изследване след 10 – дневен антибактериален курс
- **фПСА и %фПСА** – при стойности на ПСА между 4 и 10 нг/мл, за показание за извършване на биопсия е приета стойност под 25 % на %фПСА
- **рутинни кръвни и уринни изследвания** преди извършването на простатна биопсия и/или радикална простатектомия
- **добиване на проби урина, кръв и/или тъкан** за създаване на биобанка от болни с простатен карцином и здрави контроли, последващ генетичен анализ и търсене на нови туморни маркери за простатния карцином

4. Хирургични методи:

- **Трансректална системна биопсия на простата** - В нашата кохорта пациенти ние използваме системна трансректална тру-кут биопсия с извършване на 6-12 (средно 8.9 биопсични материала). Показанията за извършване на първична биопсия на простатната жлеза в нашата институция са аналогични на общоприетите:

- Ниво на тотален ПСА над 4 нг/мл
- Положително ДРИ
- Ниво на %фПСА под 25 при тПСА 3-10 нг/мл
- тПСА над 3 нг/мл при мъже под 55 години

Към тези показания при извършването на повторни биопсии се включват и следните:

- наличие на ASAP в инициалната биопсия
- наличие на множествени огнища на високостепенен ПИН
- продължаващо клинично съмнение за аденокарцином при негативна инициална биопсия (покачващ се ПСА, перзистираща находка на ДРИ или ТРУС)

Подготовката за осъществяване на биопсия включва следните елементи:

- ако има само една стойност на ПСА, и тя е под 20 нг/мл, изследването задължително се повтаря след 10-дневен антибиотичен курс в комбинация с фПСА

- изчислява се риска от позитивна инициална биопсия според рисковия калкулатор на ESRPC, като тези данни се използват в по-нататъшния процес на обсъждане с пациента и вземане на решения

- При прием на индиректни антикоагуланти те се спират 5 дни преди манипулацията и се заместват с ниско-молекулен хепарин, като се проконтролира хемокоагулограмата преди биопсията

- Други медикаменти с антикоагулантно и антитромботично действие (НСПВС, аспирин, клопидогрел и др.) се спират една седмица преди манипулацията

- Стандартна антибактериална профилактика в нашия център е с Ципрофлоксацин 2 x 500 мг, като приема започва от деня на биопсията и продължава 5 дни. Антибиотик на втори избор при данни за свръхчувствителност към хинолони са цефалоспорини 2-ра генерация или комбинирани препарати бета-лактам + бета-лактамазен инхибитор (Цефуроксим, Амоксицилин+клавулонова киселина, Ампицилин + сулбактам). В случаите когато има рискови ф-ри за развитие на инфекциозен ендокардит се провежда стандартната профилактика с аминопеницилин и аминогликозид

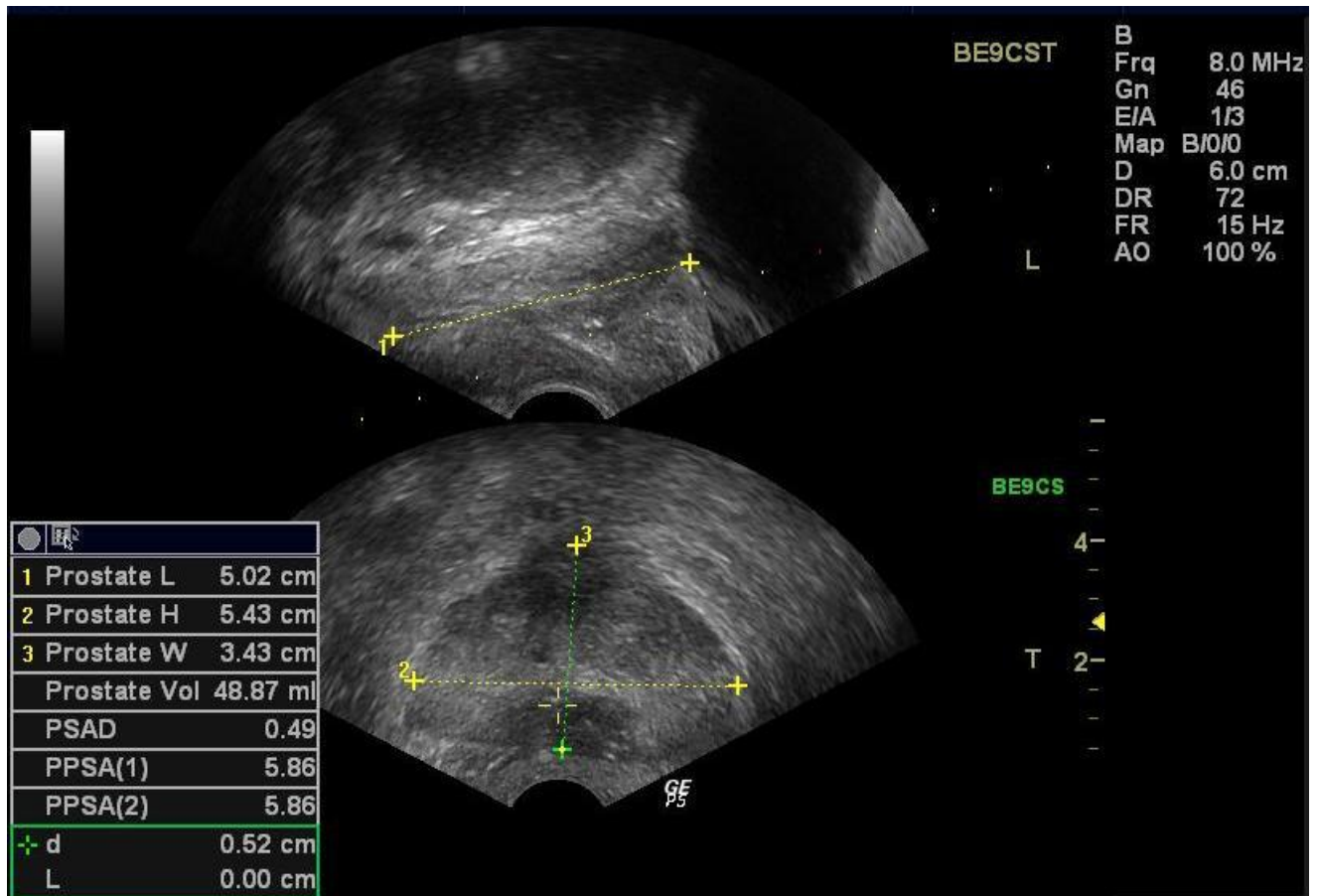
- При наличието на други рискови фактори за развитие на инфекциозни усложнения след биопсията (ПУК, признаци на активна уроинфекция, наличен диабет и др.), следва да се направи всичко възможно за тяхното оптимално компенсиране

- Клизма се извършва само ако при ректалното туширане, непосредствено предхождащо манипулацията, се установи че ампулата на ректума е пълна с твърди фекални материи, които пациентът не е успял да елиминира при дефекация. В останалите случаи дефекация на пациента в рамките на един час преди манипулацията е достатъчна.

- При наличие на анамнеза за медикаментозна алергия, особено към антибиотици и анестетици, при нужда се провежда антиалергична подготовка

Биопсията на простата се извършва в латерална декубитална позиция, и започва с ТРУС. Използва се апарат GE Logiq P5 Premium, с трансректален бипланарен трансдюсер ВЕ9С (фиг 8). Преди въвеждането на трансдюсера в ампулата на ректума се инститира лидокаинов гел. Огледът започва с

измерване размерите на жлезата (ширина/височина/дължина). Търсят се суспектни зони с наличие на хипоехогенност, оценява се симетрията и контура на жлезата, особено границите на периферната зона. Използваме и оценка с цветен и пауър-Доплер, но опита ни с тези две модалности на ТРУС е ограничен.



Фиг 8 Бипланарна трансректална ехография на простата



Фиг 9 трансверзална ТРУС на простатната жлеза с класическа суспектна хипоехогенна зона

Под ТРУС контрол се извършва и локалната анестезия под формата на перипростатен блок. Перипростатният блок се извършва по стандартната техника с инфилтриране на 5 мл 1% лидокаин от всяка страна в областта на ъгъла между простатната жлеза и семенното мехурче (т.н. симптом на Маунт Еверест). Използва се пункционна игла 22 G 20 см. Перипростатният блок практически няма усложнения при спазване на правилата за извършването му (липса на анамнеза за свръхчувствителност към Лидокаин, верифициране че анестетика не попада вътресъдово чрез аспирация).

Взимането на биопсичните материали се извършва с автоматична биопсична система Бард-Магнум, 18 G 22 см с големина на биопсичната камера 21 мм. Манипулацията се извършва при стерилни условия въпреки че се преминава през ректума, който е само механично почистен. При

инициална биопсия целта ни е да вземем максимално количество тъкан от периферната зона, като се акцентира на зоните с най-голяма честота на наличие на простатен карцином, които същевременно са и зоните на най-често пропуснати карциноми при първоначална биопсия – предните рогове (дорзо-латералния контур на жлезата) и апекса на простата. Използваме 12-точковия протокол на Gore, който включва класическа шест-точкова биопсия по Stamey плюс още шест пункционни точки максимално латерално. Често медиалния ред биопсични късчета е представен само от две биопсии – база и апекс (модифициран 10-точково протокол).

Допълнително се биопсира всяка съмнителна зона (на ТРУС или на ДРИ). Броя биопсични късчета може да се модифицира спрямо големината на жлезата. В случаи със силно суспектни клинични данни за простатен карцином – ПСА над 50, силно позитивно ДРИ, и пациенти със сериозни придружаващи заболявания се ограничаваме до 6-8 пункции. Самата игла при всяка пункция се позиционира непосредствено до простатната капсула, така че да може да обхване и ръб от екстрапростатни тъкани, като се цели цялата дължина на биопсичното късче да е в периферната зона. След въвеждането на иглата във водача не трябва да има движение на трансдюсера, тъй като това е високорисково за лезии на ректалната стена и значима хеморагия.

След приключване на манипулацията пациентът остава легнал за 5-10 минути, след което постепенно сяда и се изправя, с оглед да се избегне вазо-вагална реакция. Пациентът остава под наблюдение между 3-5 часа, след което при липса на усложнения се дехоспитализира. Дават се указания за прием на течност минимум 2 литра в следващите дни, почивка и предимно домашен режим, дават се указания за спешно търсене на медицинска помощ при фебрилитет над 38 С или масивна хематурия и/или ректорагия.

Биопсичните материали се изпращат в 10 % буфериран формалин, поставени всеки в отделен контейнер, и маркирани според локализацията им. Друга необходима информация на биопсичния фиш е нивото на ПСА; данни за предходни биопсии ако има такива; данни за предходна хормонална терапия, която би могла да промени оценката по Глисън.

Усложнения при простатна биопсия

Усложненията при извършването на простатна биопсия са редки, но имайки в предвид изключително високата честота на тази манипулация и тежестта на усложненията в много редки случаи те трябва да се профилактират, избягват активно и да се лекуват навременно

1. Минималните усложнения по време на и непосредствено след манипулацията са изключително чести – 40 – 60% - болка от разтягането на аналния канал, минимална ректорагия по трансдюсера и водача, минимална хематурия при първото уриниране, те са безобидни и трябва да преминат в периода на активно наблюдение на пациента след биопсията, преди да бъде пуснат въздух.
2. Хематурия която продължава до 2-3 дни сме наблюдавали в 15-20 % от нашите пациенти. Тя по правило е самоограничаваща се и не налага допълнителни мерки освен обяснение и успокояване на пациента. По тежка хематурия наложила хоспитализация, фиксиране на ПУК, и други консервативни методи за хемостаза сме наблюдавали в 3 пациенти (0.7 %). Рискът за хематурия е по-висок при вземане на биопсии близо до срединната линия (където може да се засегне уретрата) и при биопсиране на базата на простата, когато иглата премине през стената на пикочния мехур. Тези две ситуации следва да се избягват при проследяване хода на биопсичната игла на ТРУС.

3. Лека, самоограничаваща се ректорегия се наблюдава при около 10-15 % от пациентите. При 3-ма пациенти се наложи хоспитализация по повод масивна ректорегия (0.7 %), като при двама (0.047 %) от тях се наложи хирургична намеса (аноскопия и прошиване на съд при един и тампонада при друг) и кръвопреливане, като възстановяването им беше пълно в рамките на 3 дни. И при двамата пациенти бяха взети по 10 биопсични материала, което показва че тежките форми на ректорегия вероятно нямат връзка с броя пункции.
4. Хематоспермия се наблюдава в значителен брой от пациентите (40-60%) като тя продължава няколко седмици. Честотата ѝ е трудно да се определи точно поради факта че много мъже от нашата кохорта не са сексуално активни или нямат семеизпразване в седмиците след биопсията. Хематоспермията е безобидно самоограничаващо се състояние, но полово активните пациенти следва да бъдат предупреждени за да се избегне психологическа травма и ненужни притеснения
5. Инфекциозните усложнения след извършване на простатна биопсия се утвърдиха като най-проблематичните през последните години. Данни за фебрилитет до 38 С, продължаващ 2-3 дни след манипулацията сме наблюдавали при 27 пациенти (6,3 %), без да се налагат допълнителни диагностични или лечебни мероприятия. При 7 пациенти (1.6 %) имаше данни за фебрилитет над 38 С и активна уроинфекция след 5-тия ден, като при всички тях състоянието се овладя с 10 дневен курс Амоксицилин-клавуланова киселина или Гентамицин. 3-ма пациенти бяха хоспитализирани с картината на бактериемия (0.7%), и след съответен курс интравенозни антибиотици и поддържащи средства се възстановиха бързо и без последствия. При всички тях бе изолиран щам E. коли резистентен на ципрофлоксацин.

Повишаване на МПСИ и ОРУ – за отчетливо повишаване на МПСИ и затрудняване на уринирането съобщават 38 (8.9 %) пациента, като то е бързо преходно и най-вероятно е свързано с отока и кръвонасядането на жлезата след манипулацията. Важен съвет към пациентите е никога да не прекъсват терапията си за ДПХ след биопсията. При 4 пациенти (0.9%) след биопсията се разви ОРУ, което наложи фиксирането на уретрален катетър. Всички тези пациенти имаха значителни рискови фактори за развитие на ОРУ (висок МПСИ, обем на простата над 70 мл, ПСА над 7). При 1 от тях се извърши успешно сваляне на катетъра след 1 седмица, а другите трима бяха насочени за оперативно лечение след изясняване на хистологията.

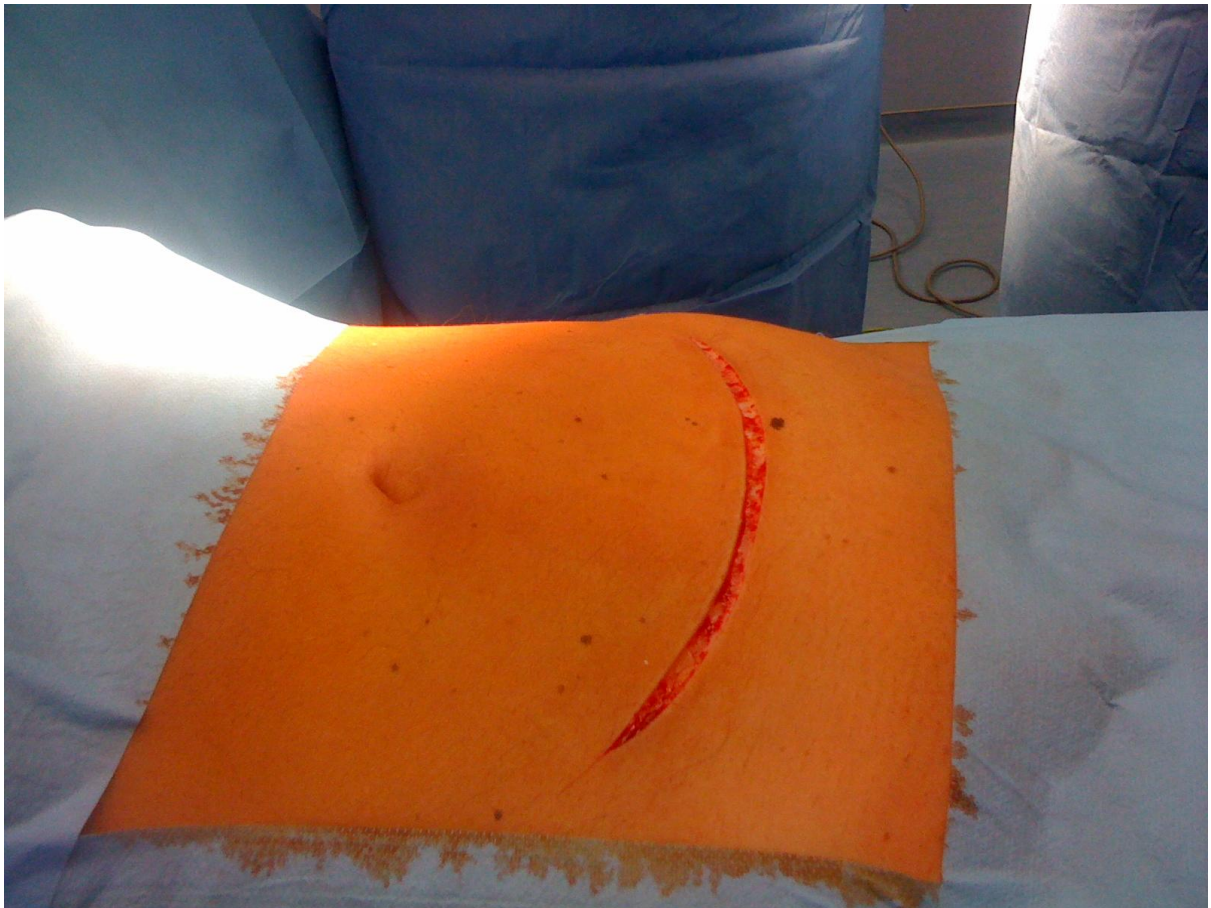
- Ретропубична радикална простатектомия

Радикалната простатектомия е метод на избор за дефинитивно лечение на локализиран в простата карцином при пациенти с продължителност на живота >10 години, които приемат рискът от възможните усложнения и последствия от операцията. Пациентите насочени за РП са болни в клиничен стадий T1-T3 NO MO. Предоперативно задължително се провежда КАТ/ЯМР на малък таз с оглед преценка на евентуална локална инвазия или засягане на лимфни възли, костна сцинтиграфия с оглед изключване на костни метастази и необходимите параклинични, образни изследвания и консултации които да подсигурят безопасността на пациента в периоперативния период. При една значителна част от нашата кохорта пациенти (45,6 %) е провеждана неoadювантна хормонотерапия с антиандроген за срок от 1-3 месеца. Използваната оперативна техника е класическата техника на РРП описана от Walsh, с някои модификации, като във всички случаи когато е възможно се използва нерво-съхраняващата интерфасциална техника. Тази техника се използва дори в

случаи когато еректилната функция не е приоритет на пациента, тъй като тя допринася и за бързото възстановяване на континентността на урината. Широка ексцизия на нервно-съдовите снопчета на простата се прилага при локално авансирал процес, когато има съмнение за радикалността при невро-съхраняваща операция.

- Преоперативно се започва антибиотична профилактика (най-често с цефалоспорин 2 или 3 генерация), както и профилактика на тромбоемболията с ниско-молекулярен хепарин, която продължава поне 7 дни следоперативно.

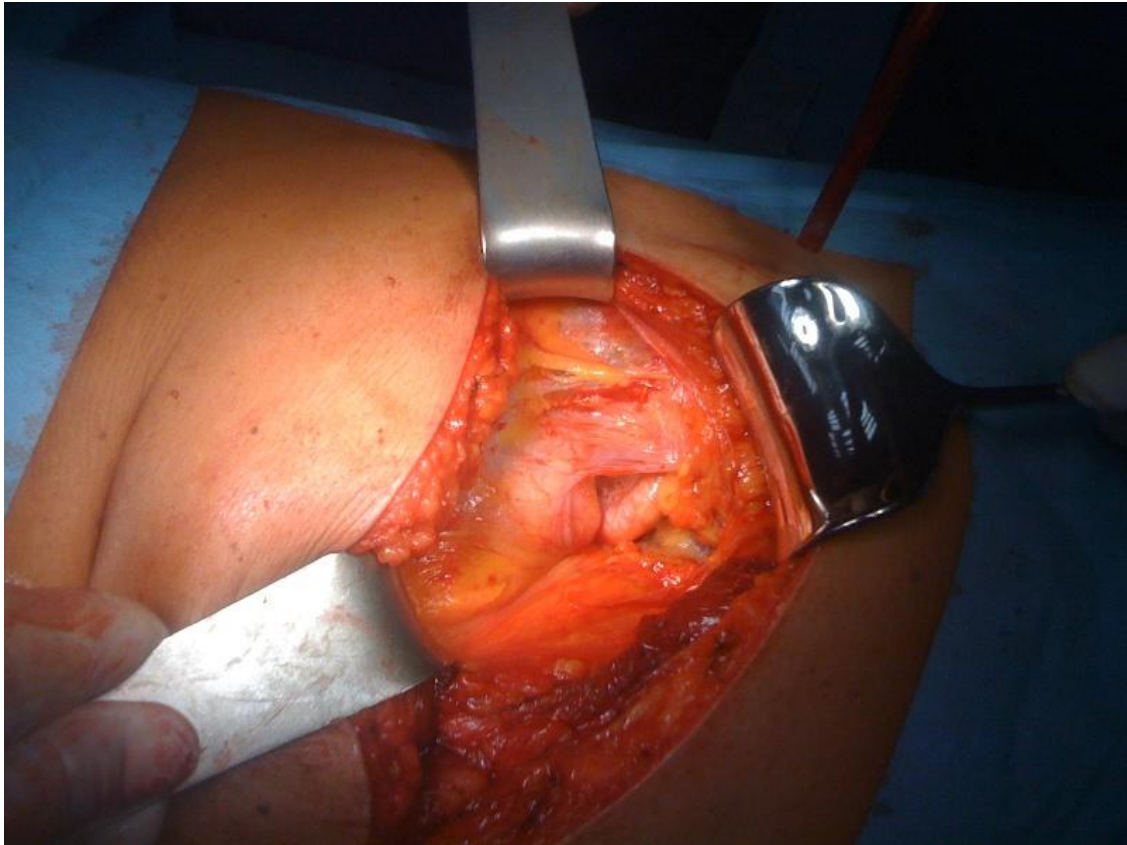
- Рутинно използвана е позиция по гръб с лек наклон по Тренделенбург, в състояние на обща интубационна анестезия. Преди началото на интервенцията се фиксира фолиев уретрален катетър в стерилни условия, който служи за идентификация на уретрата и помага при дисекцията на апекса на простата по време на операцията. Достъпът се извършва чрез модифициран разрез по Пфаненцил (фиг 10) или долен срединен екстраперитонеален абдоминален разрез.



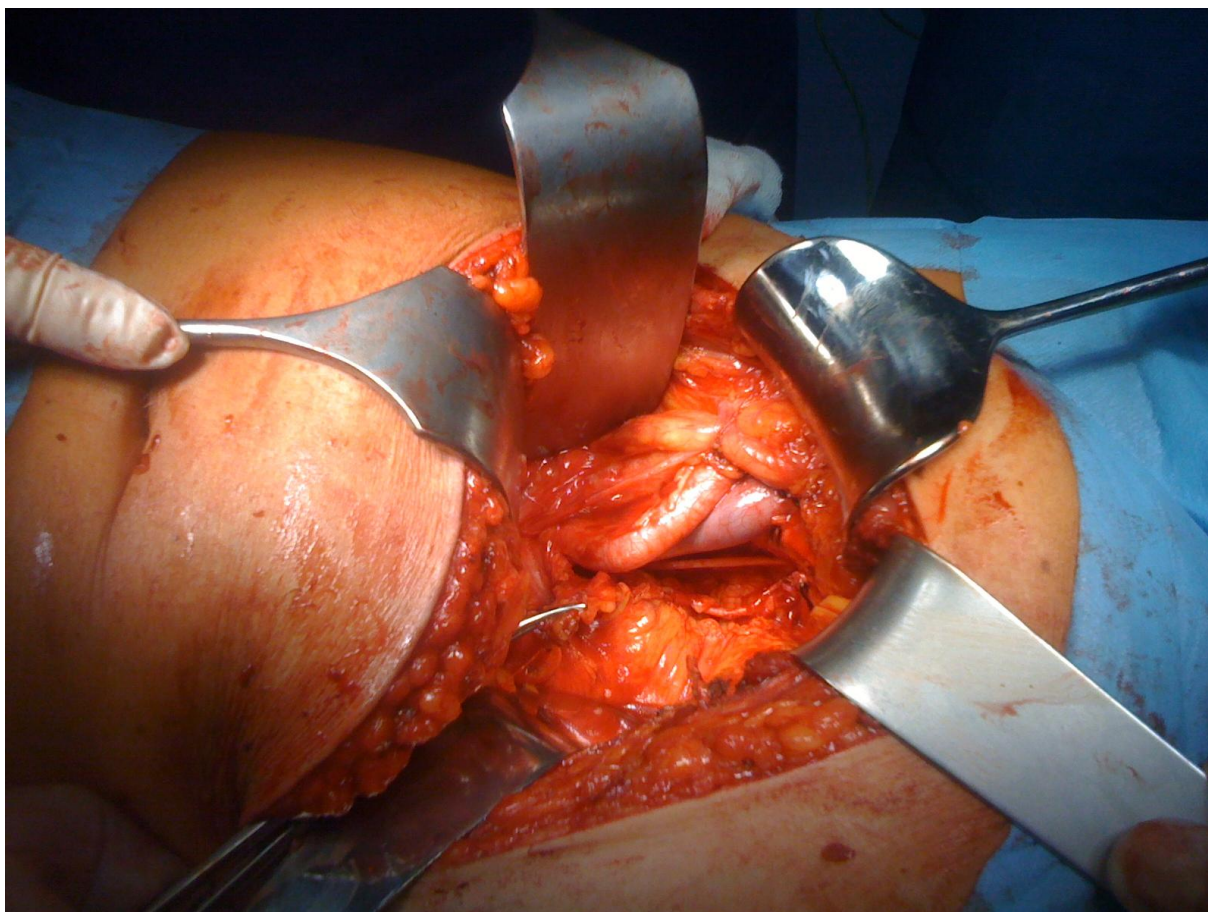
Фиг 10 Модифициран разрез по Пфаненшил

След проникване в ретропубичното пространство и двете илиачни ямки операцията започва с двустранна тазова лимфаденектомия (фиг 11, 12). Обемът на лимфаденектомията, извършвана в нашата институция, включва лимфните възли по хода на външната илиачна вена, лимфните възли в областта на obturatorната ямка и лимфните възли по хода на вътрешните илиачни съдове. Мастната тъкан по хода на външната илиачна артерия и съдържащите се в нея лимфни колектори се оставят интактни, тъй като те са основния път на лимфен дренаж на долния крайник, и тяхното засягане често води до лимфостаза с тежки и дълготрайни последствия. Средно броя на лимфните възли при РП в нашата институция е 10.6 (3-16). Не е прието изпращането за спешна патоанатомична диагностика на замразени срезове, освен в случаи на

макроскопски засегнати множествени лимфни възли. Лимфаденектомията може да бъде пропусната при пациенти при които рискът от засягане на лимфните възли е много нисък (таблица на Партин, рискови категории на D`Amico).



Фиг 11 Достъп в илиачната фоса



Фиг 12 Илиачна лимфна дисекция

- След приключване на лимфаденектомията и щателно лигиране или електрокоагулация на всички лимфни съдове, се пристъпва към премахване на мастната тъкан покриваща ендопелвичната фасция и предната стена на простатната жлеза. Последва двустранна инцизия на ендопелвичната фасция, медиално от *arcus tendineus m levator ani*, където отдолу прозират влакната на мускула. След инцизията на ендопелвичната фасция следва прекъсване на пубопростатичните лигамени двустранно, което завършва подготовката за лигирането на дорзалния венозен комплекс и дисекцията на апекса на простата.

- Лигирането на дорзалния венозен плексус се извършва с нерезорбируем шевен материал 2-0 или 3-0 който преминава между

дорзалния венозен комплекс и предната страна на уретрата, чието идентифициране се подпомага от уретралния катетър. В зависимост от анатомичната конфигурация този шев може да се фиксира към периоста по задната повърхност на симфизата. Това е дисталното лигиране на венозния плексус на Санторини. Проксимално плексуса се лигира на ниво 2-3 мм дистално от мехурната шийка, като най-често отделно се лигира латералните му клонове и отделно медиалния. Последва инцизия на венозния плексус между двете лигатури. При налично остатъчно кървене от дисталния ръб на инцизията, той се обшива допълнително.

- Дисекцията на апекса на простатната жлеза е един от най-важните моменти в операцията. От неговото прецизно изпълнение зависи запазването на континентността както и липсата на позитивни резекционни линии (това е зоната в която най-често се наблюдават). Дисекцията се извършва под директен визуален контрол, като първо се инцизират предните 2/3 от циркумференцията на уретрата, докато се достигне до уретралния катетър. Катетърът се изтегля, клампира се и се прерязва на две – проксималната му част помага за манипулирането на простата при последващата резекция, а дисталната му част, разположена в уретралния чукан, спомага поставянето на шевове на уетро-везикалната анастомоза. Последва инцизия на задната стена на уретрата и задната част на напречно набраздения сфинктер на уретрата. Това става с изключително внимание поради опасността от нараняване на нервно-съдовите снопове които са разположени непосредствено дорзо-латерално от тези структури.

- Идентификация и запазване на нервно-съдовите снопчета – тук изключително важно за решението дали да се запази дадено нервно-мускулно снопче е тактилното усещане. Ако е налице уплътнение на фасцията в дорзо-латералната част на жлезата или нервно-съдовото снопче е фиксирано към повърхността на простата, то снопчето от тази страна следва да бъде ексцизирано. Освобождаването на нервно-съдовите

снопчета се извършва ретроградно, като се прониква между леваторната фасция и простатната фасция по латералната повърхност на жлезата. Дисекцията започва на нивото на мехурната шийка като повърхностния слой (леваторната фасция) се инцизира до нивото на апекса, при което нервно-съдовото снопче се освобождава и се отмества латерално (фиг 13). След освобождаването на нервно-съдовите снопчета в областта на апекса, където често се наблюдават значителни по размер клончета. Веднъж освободени в областта на апекса, процеса продължава ретроградно по хода на снопчетата до достигане на латералните съдови педикули на простата, съответно на 5 и 7 часа. Тези големи артериални съдови биват щателно лигирани и инцизирани, при което нервно-съдовите снопчета са вече напълно свободни от простатната жлеза и отпадат назад.

- Инцизия на мехурната шийка и семенните мехурчета – областта на мехурната шийка е единствената в която простата е все още фиксирана. В нашата институция не прилагаме метода на запазване на мехурната шийка. Инцизията започва антеро-медиално. След достигане на лигавицата и инцизията ѝ, балона на уретралния катетър се отдува и двата му края се клампират заедно, осигурявайки тракция и манипулиране на простатната жлеза. Инцизията продължава циркумферентно, като се внимава за локализацията на уретралните остиуми. В 5 и 7 часа по окръжността на мехурната шийка се откриват значителни по калибър клончета от долните везикални артерии към простатата, които следва да бъдат щателно лигирани. Прониква се в плана между предната страна на семенните мехурчета и задната страна на мехурната шийка. Дорзалната страна на семенните мехурчета вече е освободена заедно с фасцията на Деновил. Последва внимателна либерация на остатъчните тъкани около семенните мехурчета и дуктус деференс, като се внимава да не се нарани тазовия нервен плексус, разположен латерално и в областта на апексите на семенните мехурчета. Следва лигиране и ексцизия на семенните мехурчета

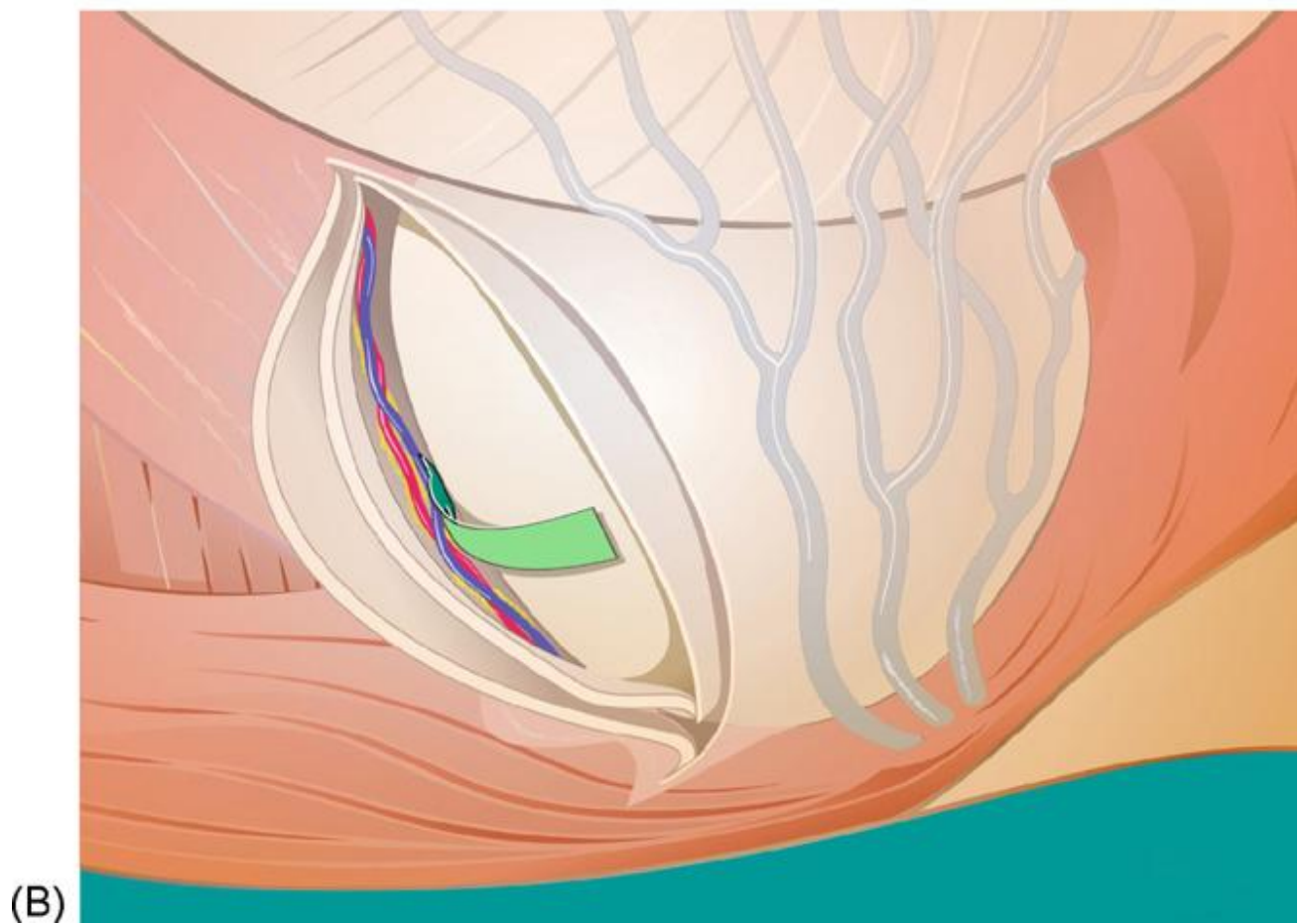
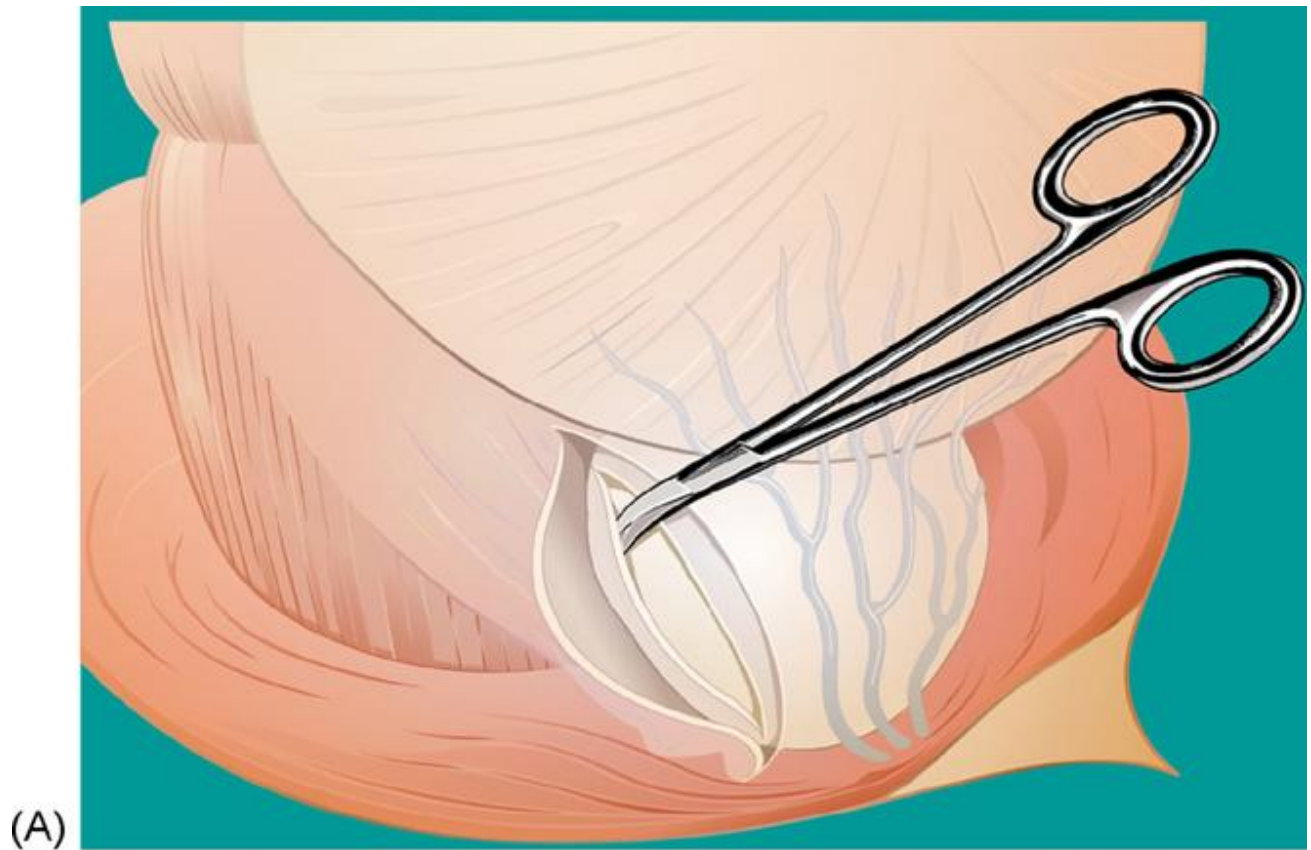
и семепроводите, при което хирургичния препарат е напълно освободен и се премахва от хирургичното поле. Ако има съмнения за позитивни резекционни линии по постеролатералната повърхност на простата се преминава към ексцизия на ипсилатералното нервно-съдово снопче. Следва щателна хемостаза.

- Реконструкция на мехурната шийка и уретро-везикална анастомоза – мехурната шийка се реконструира под формата на ракета за тенис. Това се извършва с единични шевове 3-0, започващи дорзално по срединната линия и вървящи напред, докато размера на мехурната шийка не стане подобен на този на уретрата. Последва еверзия на мехурната лигавица с 4 абсорбируеми конеца 4-0, което спомага за херметичността на уретро-везикалната анастомоза. Самата уретро-везикална анастомоза се извършва с 4 конеца монофиламентен, бавно-резорбируем материал (полидиаксон) разположени на 12, 3, 6 и 9 часа. Преди извършването на анастомозата се поставя новия постоянен уретрален катетър, най-често трипътен катетър 20-22 Ш по хода на който се налагат шевове. Тези шевове се поставят първо на уретралния чукан, след което и на съответните им места на реконструираната уретрална шийка. След последна проверка на хемостазата пикочния мехур внимателно се придърпва към уретралния чукан и съответно тазовото дъно, като той следва да е свободен от напрежение. Катетърът се държи под лека тракция докато последователно се завързват четирите конеца на уретро-везикалната анастомоза.

- Операцията завършва с фиксиране на два контактни ретропубични дрена и послойно затваряне на оперативната рана.

- Ранният постоперативен период включва следене на виталните показатели, следене за признаци на хеморагия и/или хематурия, вливания на водно-солеви разтвори, проследяване проходимостта на катетър, продължаване на антибиотичната и антикоагулантната терапия, ранно раздвижване, хранване, сваляне на контактните дренажи и кожните

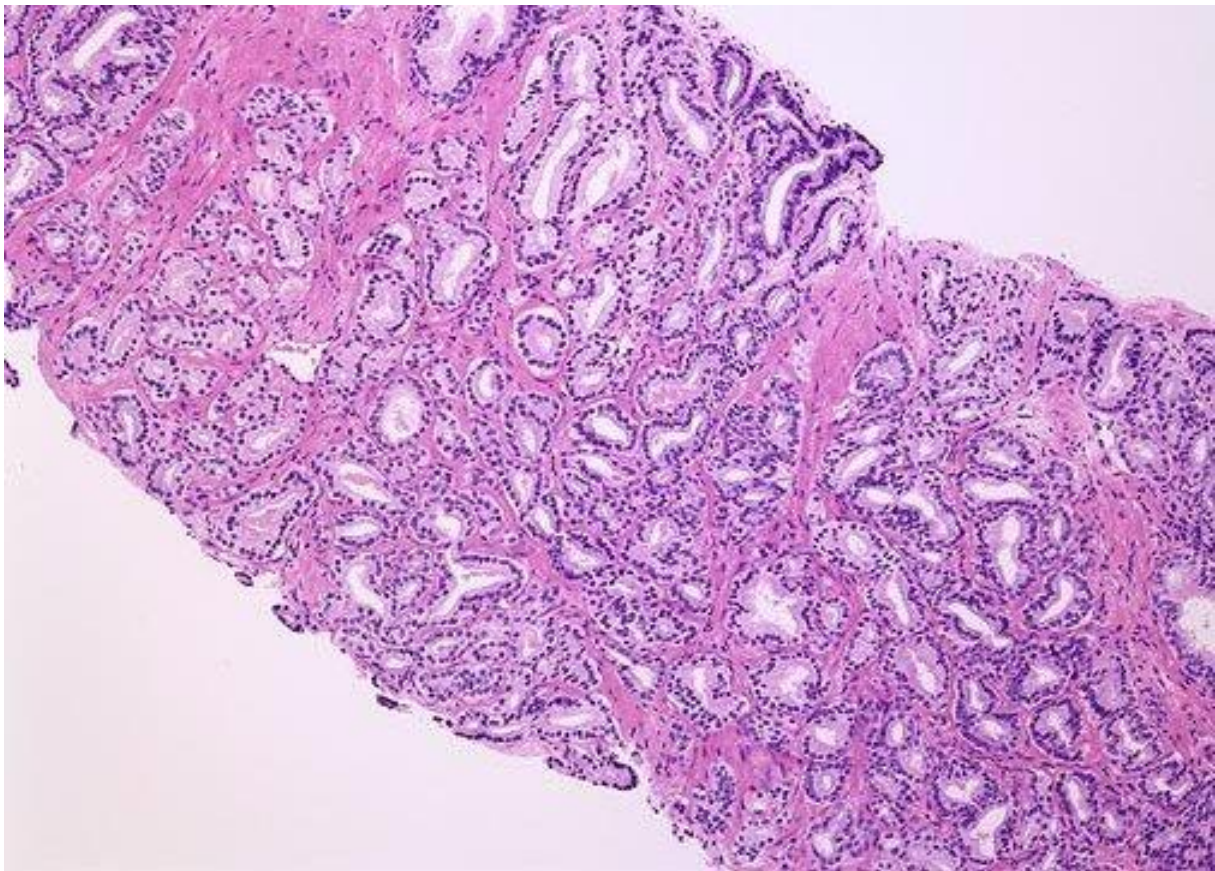
шево̀ве, контро̀л на оперативната рана, приложение на антиму̀скаринови препарати при спазми на пикочния мехур. Обичайният постоперативен престой е около 7 дни. Уретралният катетър се сема след 14-25 дни.



Фиг 13. Схематично представяне на интерфасциалния достъп

5. Хистологични методи

Хистологични методи – морфологичната диагностика на простатните биопсии и материалите от радикална простатектомия е извършено в Катедрата по Обща и Клинична Патология на УМБАЛ ”Александровска” – МУ София от високоспециализирани патолози със значителен опит и специален интерес в областта на патологията на простата.



Фиг 14. Биопсичен материал от тру-кут биопсия при слабо увеличение
Материалите от простатните биопсии се подлагат на фиксиране в 10 % буфериран формалин непосредствено след добиването им, след което се включват в парафинови блокчета по стандартна техника. Целта при включването в парафинови блокчета е максимална част от биопсичния материал да попадне в среза, поради което биопсичните цилиндърчета се изправят и се нареждат паралелно в една равнина (фиг 14).

Морфологичната оценка е извършена по ТНМ класификацията от 2002, представена по-долу:

From the [AJCC](#) 6th edition (2002) and [UICC](#) 6th edition.

Оценка на първичния тумор ('T')

- **TX:** липсва оценка на първичния тумор
- **T0:** няма данни за тумор
- **T1:** наличие на тумор, който не се открива клинично или при образна диагностика
 - **T1a:** туморът се открива случайно и той не заема повече от 5 % от резецираната тъкан на простатната жлеза (по други причини, най-често ДПХ)
 - **T1b:** туморът се открива случайно и той заема повече от 5% от резецираната простатна тъкан
 - **T1c:** туморът се открива при простатна биопсия по повод повишен ПСА
- **T2:** туморът се палпира при ДРИ, но е ограничен в рамките на жлезата
 - **T2a:** туморът заема по-малко от половината от единия лоб на жлезата
 - **T2b:** туморът заема повече от половин лоб, но не и двата лоба
 - **T2c:** туморът е наличен и в двата лоба
- **T3:** туморът преминава границите на капсулата на простата
 - **T3a:** екстракапсулно разпространение
 - **T3b:** туморът инвазира семенните мехурчета
- **T4:** туморът инвазира околни структури

Оценка на регионалните лимфни възли ('N')

- **NX**: не е извършена оценка на регионалните лимфни възли
- **N0**: липсва разпространение към регионалните лимфни възли
- **N1**: разпространение към регионалните лимфни възли

Оценка на далечните метастази ('M')

- **MX**: не е извършена оценка на далечните метастази
- **M0**: липсват далечни метастази
- **M1**: наличие на далечни метастази
 - **M1a**: ракът се е разпространил в лимфни възли отвъд регионалните
 - **M1b**: наличие на костни метастази
 - **M1c**: метастази в други органи и системи

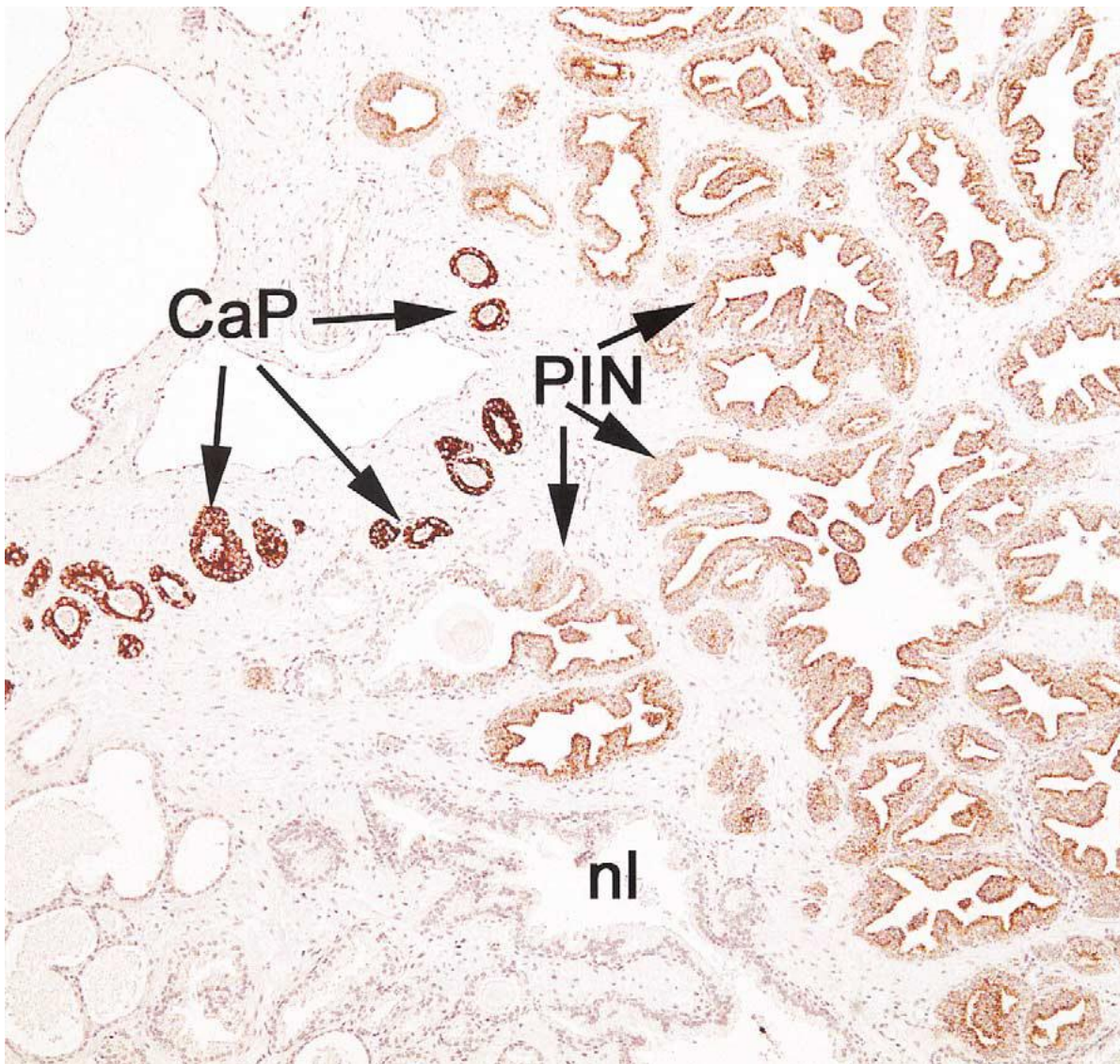
Оценка на хистологичния грейдинг ('G')

Обикновено грейдинга на определен вид малигнено заболяване се оценява отделно от стадия му; при простатния карцином обаче информацията за грейдинга се представя заедно с TNM статуса.

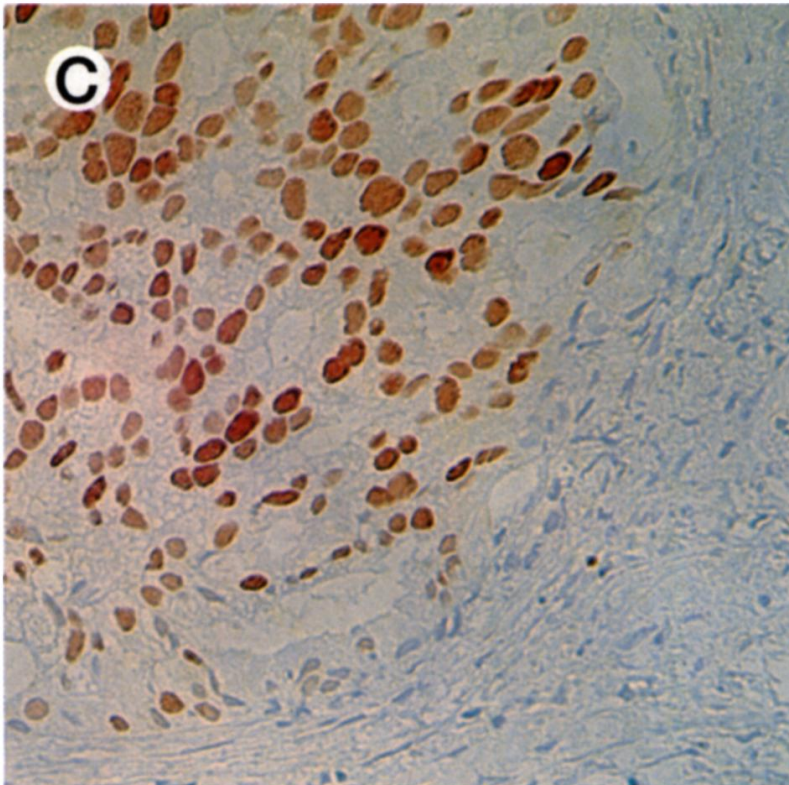
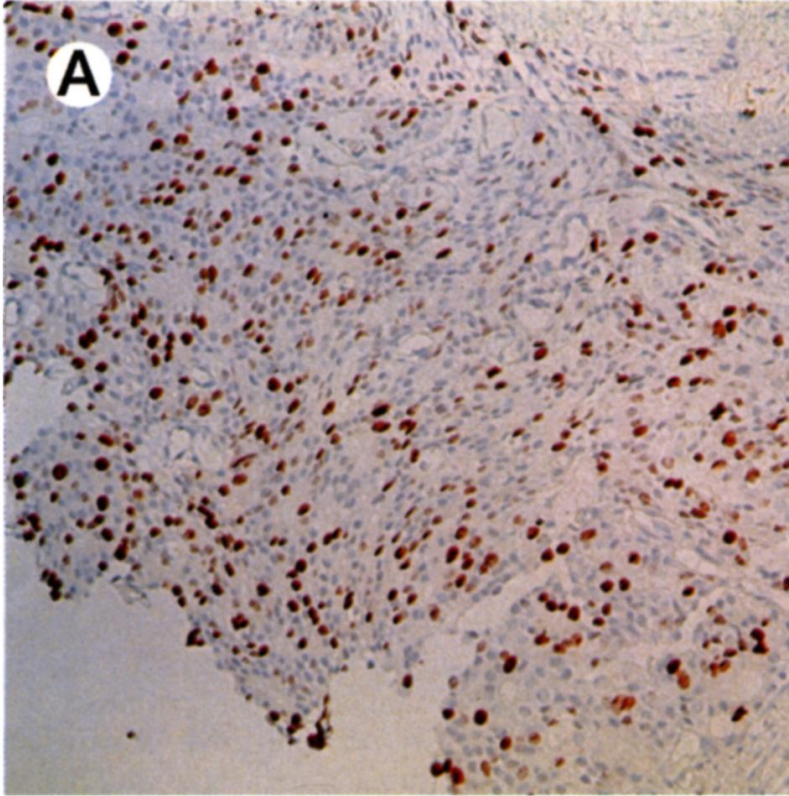
- **GX**: не може да се извърши оценка на грейдинга
- **G1**: високодиференциран тумор, силно наподобяващ нормалната тъкан (Gleason 2–6)
- **G2**: умеренодиференциран тумор, донякъде наподобяващ нормалната тъкан (Gleason 7)
- **G3–4**: ниско- до недиференциран карцином, който слабо или изобщо не наподобява нормалната тъкан (Gleason 8–10)

След включването им в парафинови блокчета, бипсичните материали се подлагат на стандартно оцветяване с хематоксилин и еозин. При трудни за

диагностика случаи се използва имунохистохимично оцветяване с АМАСР, високомолекулен цитокератин (HMWK), и оценка на индекса на активност на Ki67(Ki67-LI) фиг. 15, 16. С тези допълнителни имунохистохимични методи е възможно откриването на малки по обем огнища на аденокарцином на простата, и оценка на тяхната биологична активност.



Фиг. 15 – Оцветяване за АМАСР в нормална простатна тъкан (nl), високостепенна простатна интраепителиална неплазия – PIN, и карцином на простата (CaP)



Фиг. 16 Имунохистохимично оцветяване за Кі 67 лейбълинг индекс

При оценката на трансректалните биопсии на простатата всяко биопсично късче се оценява отделно като задължително се дава информация за:

- Наличие на преканцерози – HGPIN, ASAP
- Наличие на възпалителен процес
- Наличие на аденокарцином на простата
- % на засягане на съответния материал от карцинома
- Оценка по Глисън
- Третичен скор по Глисън (ако такъв е налице)
- Наличие на перинеурална инвазия, като показател за биологична агресивност на тумора
- Наличие на екстрапростатно разпространение на процеса

Оценява се общия брой на засегнати биопсични материали, както и тяхното разпределение (унилатерално или билатерално).

При оценката на биопсичния материал от радикална простатектомия в нашата институция не използваме рутинно спешно интраоперативно изследване на замразени срезове от тазовите лимфни възли. Това се предприема само в определени случаи, когато има макроскопски променени лимфни възли и предварително е обсъдено с пациента дали операцията да се спре при наличие на позитивни лимфни възли.

Простатната жлеза заедно със семенните мехурчета се включва в цяло парафиново блокче, като в последствие се правят трансверзални срезове на разстояние 5 мм по височина на жлезата. Отделно се обработват базата и апекса на жлезата, които се нарязват радиално. Отделно се изследват и семенните мехурчета, като препаратите се изготвят по дължината им. Лимфните възли се изследват отделно за двете страни – ляво и дясно, както и двете резекционни линии – от уретра и от пикочен мехур. Освен описаните по горе характеристики при патоанатомичната диагноза на

трансректалната биопсия на простата, при оценката на биопсичния материал от РП се включват и следните показатели:

- Наличие на хирургично нараняване на целостта на простатната капсула
- Наличие на позитивни хирургични резекционни линии – перипростатно, в областта на уретрата, в областта на мехурната шийка
- Зона и обем на екстрапростатно разпространение
- Обем на неопластичния процес спрямо обема на жлезата

6. Прогностични методи базирани на големи реферативни проучвания – номограми, таблици, стратифициране по рискови групи

- **Рискови групи по D`Amico** – преоперативна класификация възприета от NCCN, включваща преоперативния ПСА, Т-стадия и оценката по Глисън, тя разделя пациентите с доказан простатен карцином при трансректална биопсия на три групи според риска от биохимичен рецидив след прилагане на дефинитивно лечение – РП или лъчетерапия с външен лъч. Пациентите се делят на такива с нисък, междинен и висок риск:

- Нисък риск – стадий $T \leq T2a$ **И** ПСА < 10 нг/мл **И** оценка по Глисън ≤ 7
- Междинен риск – стадий $T = T2b$ **или** ПСА ≥ 10 но ≤ 20 **или** Глисън 7
- Висок риск – стадий $T \geq T2c$ **или** ПСА ≥ 20 **или** оценка по Глисън > 7

Постооперативната оценка по D`Amico включва Т-стадия и оценката по Глисън на материала при РП, наличието на положителни резекционни

линии и наличието на лимфни метастази. Според тази постоперативна класификация пациентите също се делят на такива с нисък, междинен и висок риск

- Нисък риск – стадий T - $\leq T3a$ и pN0 и R0 и оценка по Глисън < 7
- Междинен риск - стадий T - $\leq T3a$ и pN0 и R1 и Глисън ≤ 7
- Висок риск - стадий T - $\Rightarrow T3b$ или pN1 или Глисън > 7

- **Категории на преоперативния риск** за прогресия след дефинитивно лечение според правилата за добра клинична практика на EAU

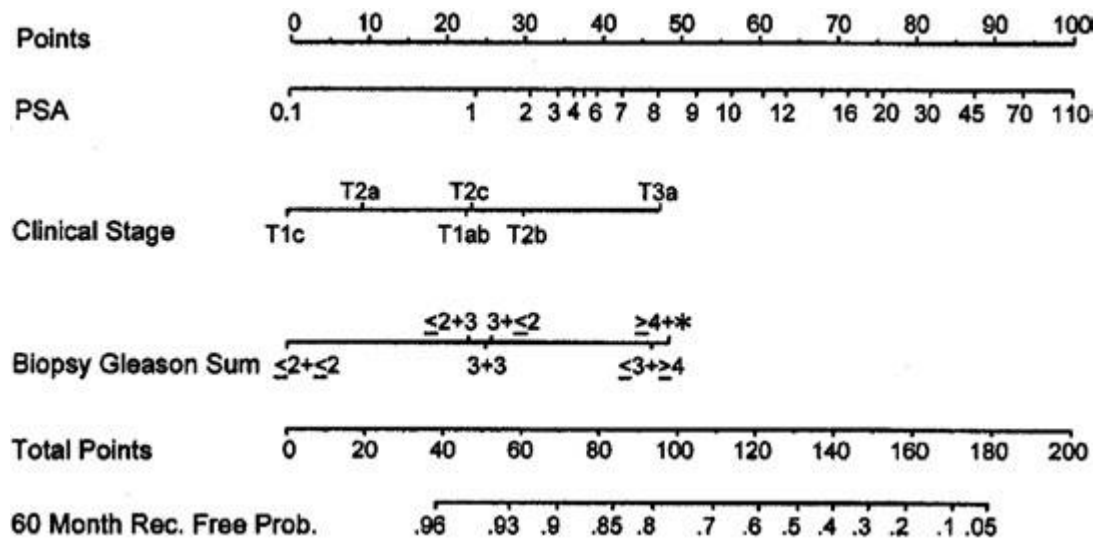
- Локализиран простатен карцином с *нисък риск*: cT1-T2a И оценка по Gleason 2-6 И ПСА < 10 ng/mL
- Локализиран простатен карцином с *междинен риск*: cT2b-T2c ИЛИ оценка по Gleason = 7 ИЛИ ПСА 10-20 ng/mL
- Локализиран простатен карцином с *висок риск*: cT3a ИЛИ оценка по Gleason 8-10 ИЛИ ПСА > 20 ng/mL
- Локално авансирал простатен карцином с *много висок риск*: cT3b-T4 ИЛИ N1

- **Таблицы на Партин**

- **Номограми на Катан** – номограмите представляват по-усъвършенстван прогностичен метод и представляват мултивариабилни математически модели. Номограмата представлява графично представяне на математическа формула или алгоритъм, които включва няколко прогностични фактора представени като параметрични променливи, и цели прогнозирането на определена крайна точка. Номограмите се състоят от няколко оси; всяка променлива е представена със скала, като всяка стойност на тази променлива по съответната скала отговаря на определен брой точки според нейната статистическа значимост. В най-долните две оси общия брой точки се преобразува във вероятността за постигането на

определената крайна точка. Използвани са два варианта на тези номограми:

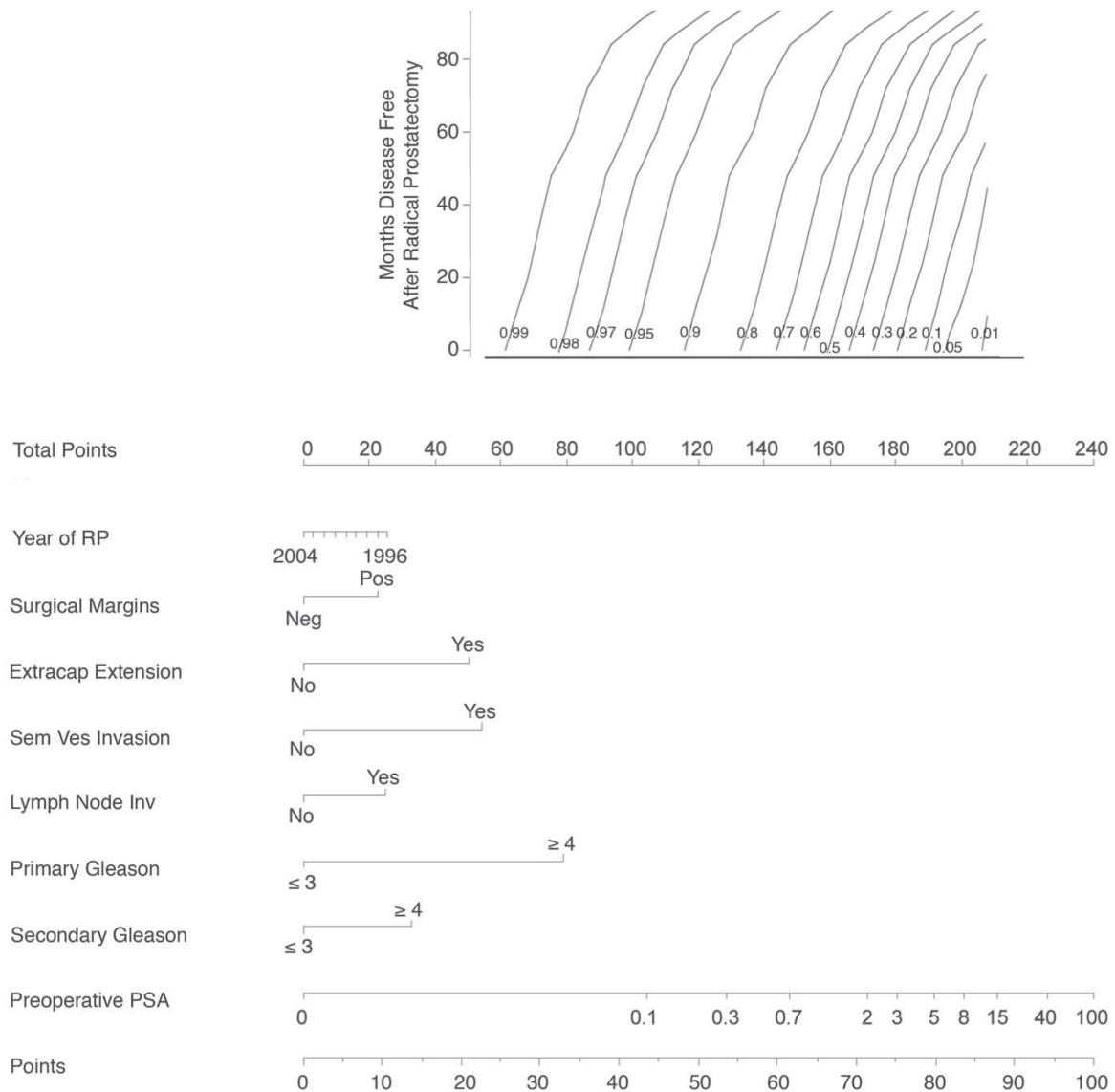
- Преоперативна номограма – включва преоперативен ПСА, T-стадий и оценка по Глисън при биопсията, като дава прогностична стойност за вероятността от липса на биохимичен рецидив 5 години след евентуална РП.



Фиг. 17 Преоперативна номограма на Катан, прогнозираща 5-годишната вероятност за липса на биохимичен рецидив след РП

Информацията от тази номограма се използва при дискусията и вземането на решения относно терапевтичния процес при индивидуалния

пациент. В нея най-голяма относителна статистическа значимост има ПСА



Instructions for physician: Locate patient's surgical margin status on the Surgical Margins axis. Draw a straight line down to the Points axis to determine how many points towards disease recurrence that patient receives for his surgical margin status. Repeat this process for each of the remaining axes. Sum the points for each predictor and locate this sum on the Total Points axis. Draw a line straight up from the Total Points axis until it intersects with the horizontal line drawn from the Months Disease-Free After Radical Prostatectomy, corresponding to the number of months the patient has maintained an undetectable PSA (this would equal zero for the immediate postoperative prediction). The slanted vertical line that crosses this intersection point corresponds to the calculated 10-year progression-free probability from the time of radical prostatectomy.

Instruction to patient: "Mr. X, if we had 100 men exactly like you, we would expect <predicted probability from nomogram x 100> to remain free of biochemical progression at 10 years following radical prostatectomy, and progression after 10 years is exceedingly rare.

Фиг. 18 Пост оперативна номограма на Катан прогнозираща 10-годишна липса на биохимичен рецидив след РП

○ Постооперативна номограма на Катан – включва преоперативния ПСА, годините минали от РП, и данни от хистологичното изследване на материала от РП – екстракапсулно разпространение, наличие на позитивни резекционни линии, засягане на семенни мехурчета и лимфни възли, оценка по Глисън, като се взима под внимание и времето изминало след РП без данни за биохимичен рецидив. Тя дава прогностична информация относно вероятността от липса на биохимичен рецидив 10 години след РП. Информацията от тази номограма се използва при дискутирането и вземането на решение относно нуждата от адювантна терапия и мониторинга след РП

Статистически методи

Данните бяха въведени и обработени със статистическия пакет IBM SPSS Statistics 19.0. За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе избрано $p < 0,05$.

Бяха използвани следните статистически методи:

1. **Дескриптивен анализ** – в табличен вид е представено честотното разпределение на разглежданите признаци, разбити по групи на изследване.

2. **Вариационен анализ** – изчисляване оценките на централната тенденция и разсейване.

3. **Критерий на Шовене** – за отстраняване на екстремни стойности.

4. **Графичен анализ** – за визуализация на получените резултати.

5. **Мултивариабилен анализ** – за оценка на комбинирания ефект на независими една от друга променливи.

6. *Тест χ^2 и Екзактен тест на Фишер* – за проверка на хипотези за наличие на връзка между категорийни променливи.

7. *Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Уилк* – за проверка вида на разпределението.

8. *Непараметричен тест на Ман-Уитни* – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

9. *T-тест на Стюдънт* – за проверка на хипотези за различие между две независими извадки.

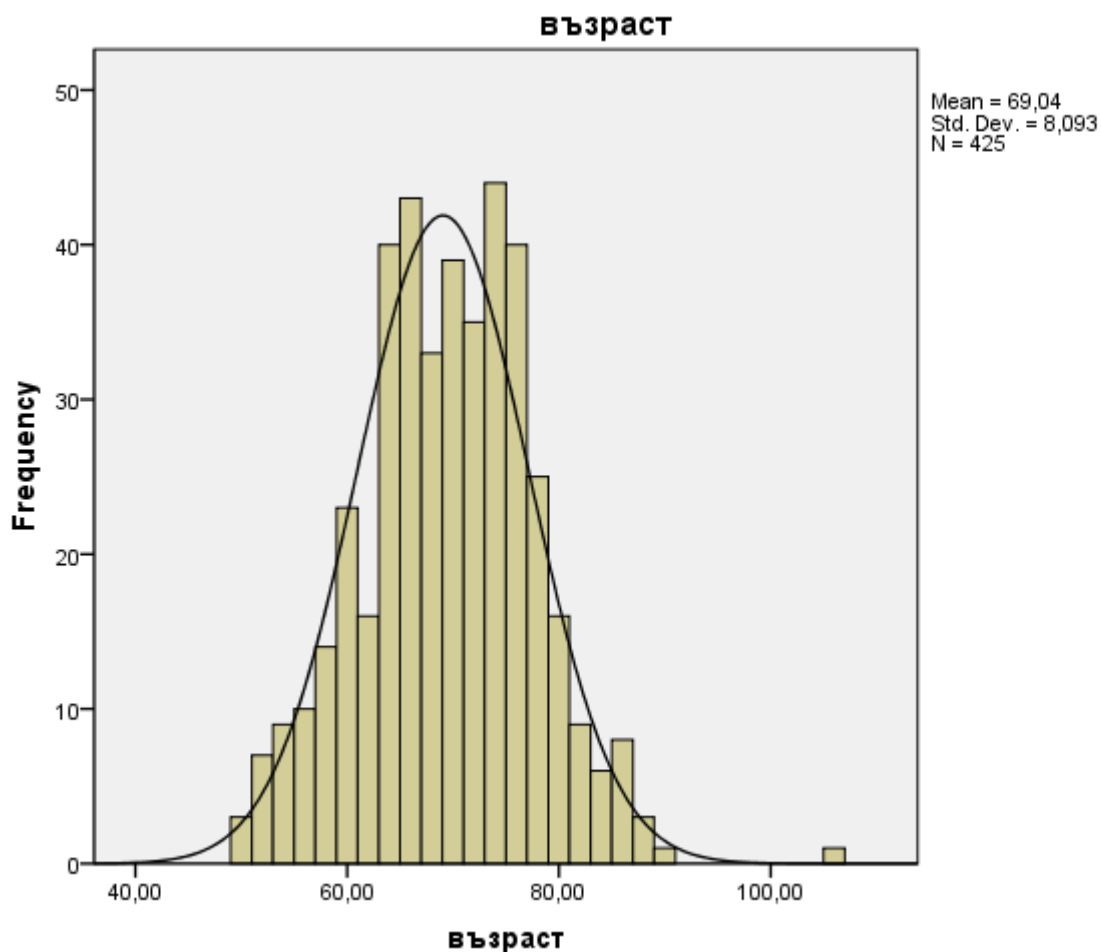
РЕЗУЛТАТИ

I. Резултати от проучването при пациенти насочени за извършване на простатна биопсия по повод съмнение за наличие на аденокарцином на простата

1. Общи клинико-демографски характеристики на пациентите насочени за извършване на простатна биопсия

- Възраст на пациентите – средната възраст на пациентите е 69,047 години (50 – 105 години; стандартно отклонение 8,09). Графичното разпределение на пациентите по възраст е представено на следната фигура

19



Фиг. 19 Възрастово разпределение на пациентите подложени на простатна биопсия

- Дигитално ректално изследване (ДРИ) – ДРИ е извършено от автора при всички пациенти за да се избегне интерперсоналната вариабилност. Позитивно ДРИ се наблюдава при 220 пациента (51,8 %), докато ДРИ е негативно при 205 пациента (48,2 %). При 18 пациента (4,2 %) позитивното ДРИ е единственото показание за извършване на биопсия (тПСА < 4 нг/мл). От тези 18 пациента 8 (44,4 %) са с позитивна за аденокарцином биопсия. Позитивното ДРИ има силно изразена статистически значима корелация с наличието на простатен карцином ($p < 0,001$)

- Фамилна анамнеза – фамилна анамнеза за наличие на аденокарцином на простата при роднини от първа линия се наблюдава само в 15 пациента (3,6 %). В останалите 420 (96,4 %) пациента липсва такава фамилна обремененост. В нашата кохорта пациенти липсват случаи на фамилен аденокарцином на простатата (повече от 2 случая на аденокарцином на простата при роднини от първа линия и/или поява на заболяването преди 50-годишна възраст). Липсва изразена корелация между наличието на

фамилна анамнеза и наличието на простатен карцином ($p= 0,645$) но това следва да се интерпретира с внимание, поради малкия брой на тези пациенти.

- Синдроми от долните пикочни пътища – СДПП – наличие на синдроми от страна на долните пикочни пътища се наблюдава при 351 пациенти (82,5 %), докато при 75 пациента (17,5 %) липсват такива оплаквания. Наличието на СДПП не показва корелация с наличието на простатен карцином ($p= 0,745$).

- Индикации за насочване за биопсия – при 18 пациента (4,2 %) единствено показание е наличието на позитивно ДРИ, при 202 (47,5 %) пациента е повишено плазмено ниво на тПСА и позитивно ДРИ, и при 205 пациента (48,2 %) основно показание е повишен тПСА. В нашата кохорта няма пациенти насочени за биопсия поради ниско ниво на %ФПСА при нормален тПСА

2. Резултати от изследване на ПСА параметрите

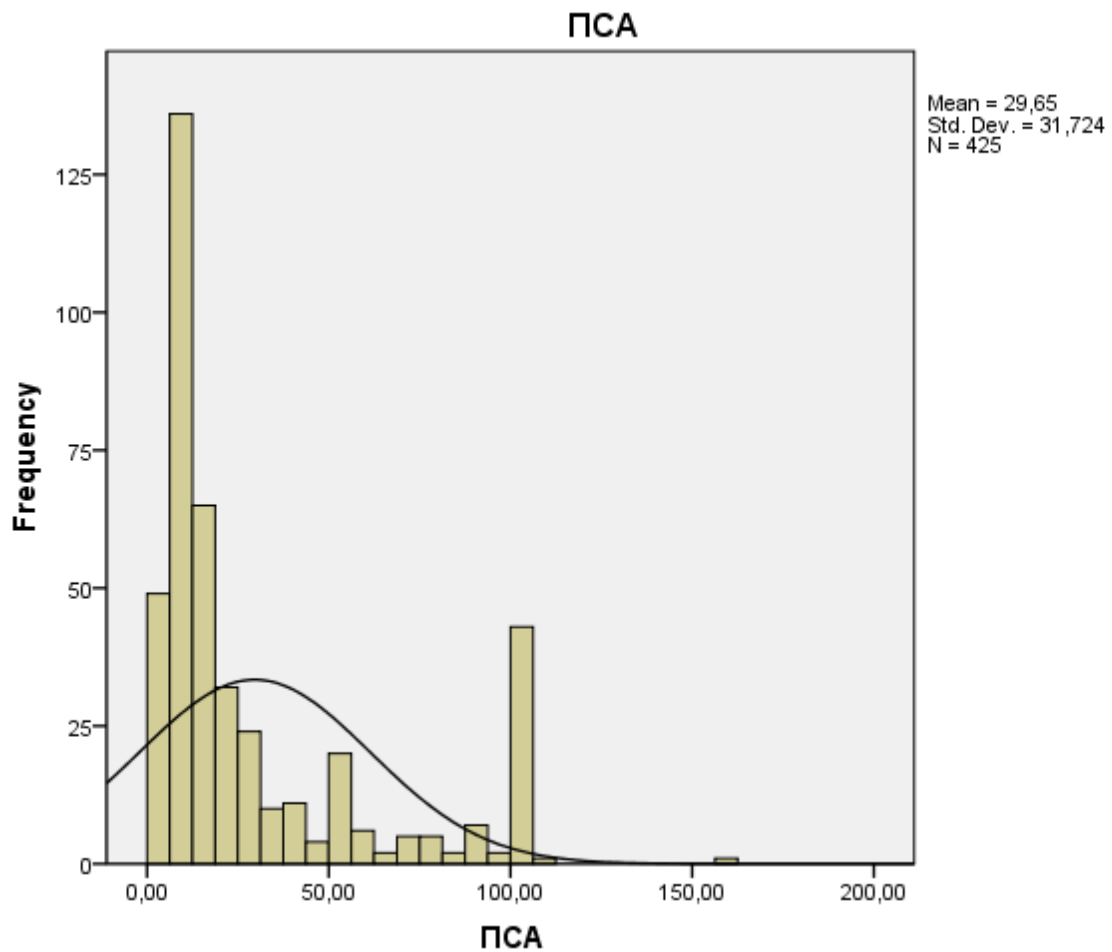
- плазмени нива на тотален ПСА – средната стойност на тПСА в нашата група пациенти е 29,65 нг/мл (1,2 – 100 нг/мл). Поради логаритмичният модел на метода за изследване на тПСА, всички стойности над 100 са приравнявани на 100 нг/мл в съответствие със световната практика. Нивата на тПСА са представени категорийно на таблица 7 и графично на фиг. 20:

тПСА	брой пациенти	%
0-4 нг/мл	18	4,20%
4-10 нг/мл	129	30,40%
10-20 нг/м	113	26,60%
20-50 нг/мл	79	18,60%
над 50 нг/мл	86	20,20%

Табл 7. Категорийно разпределение на плазмените нива на тПСА

Прави впечатление значително високия процент пациенти със силно завишен ПСА (над 20 нг/мл) – 165 пациента (38,8 %). Нивата на тотален ПСА има силно изразена корелация с наличието на простатен карцином при нива над 20 нг/мл ($p<0,001$). Корелацията с наличието на простатен

карцином в „сивата зона” (<10 нг/мл) е значително по-слабо изразена (p=0,356).



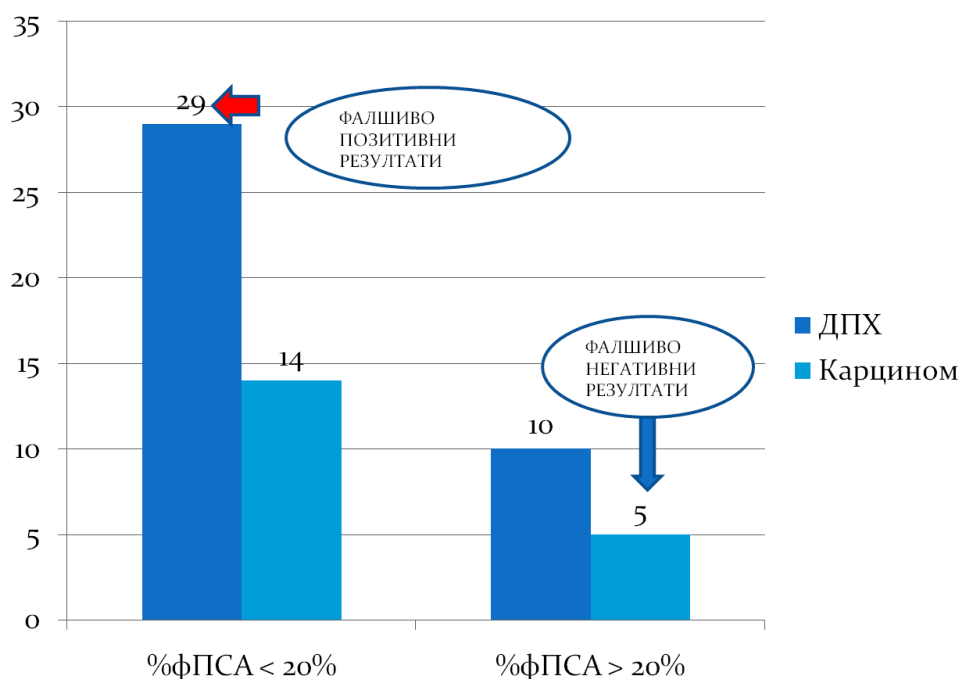
Фиг. 20 Графично представяне на нива на тПСА

- %фПСА - %фПСА е изследван при 58 пациента с тПСА 4-10 нг/мл (13,64 % от общия брой пациенти). Средната стойност на %фПСА е 9,36 % (стандартно отклонение 10,814). В нашето проучване ние не успяваме да установим зависимост между нивото на %фПСА и наличието на простатен аденокарцином (p=0,375). Наблюдаваните нива на %фПСА са представени на следната таблица 8

%фПСА	брой пациенти	%	пациенти с ДПХ	пациенти с карцином
под 20 %	43	74,13%	29 (67,44%)	14 (32,55 %)
над 20 %	15	25,80%	10 (66,6%)	5 (33,3 %)

Табл. 8 Резултати от изследване на %фПСА

Нива на %фПСА под 20 % дават фалшиво позитивни резултати при 67,44 % от случаите което води до допълнителни биопсии. %фПСА показва нива над 20 % при 33 % от случаите с простатен карцином, което би довело до пропускане на диагностицирането им (фиг 21). В нашата кохорта това са 5 пациента (1,17 %) които не биха били диагностицирани ако %фПСА се използва като единствен критерии

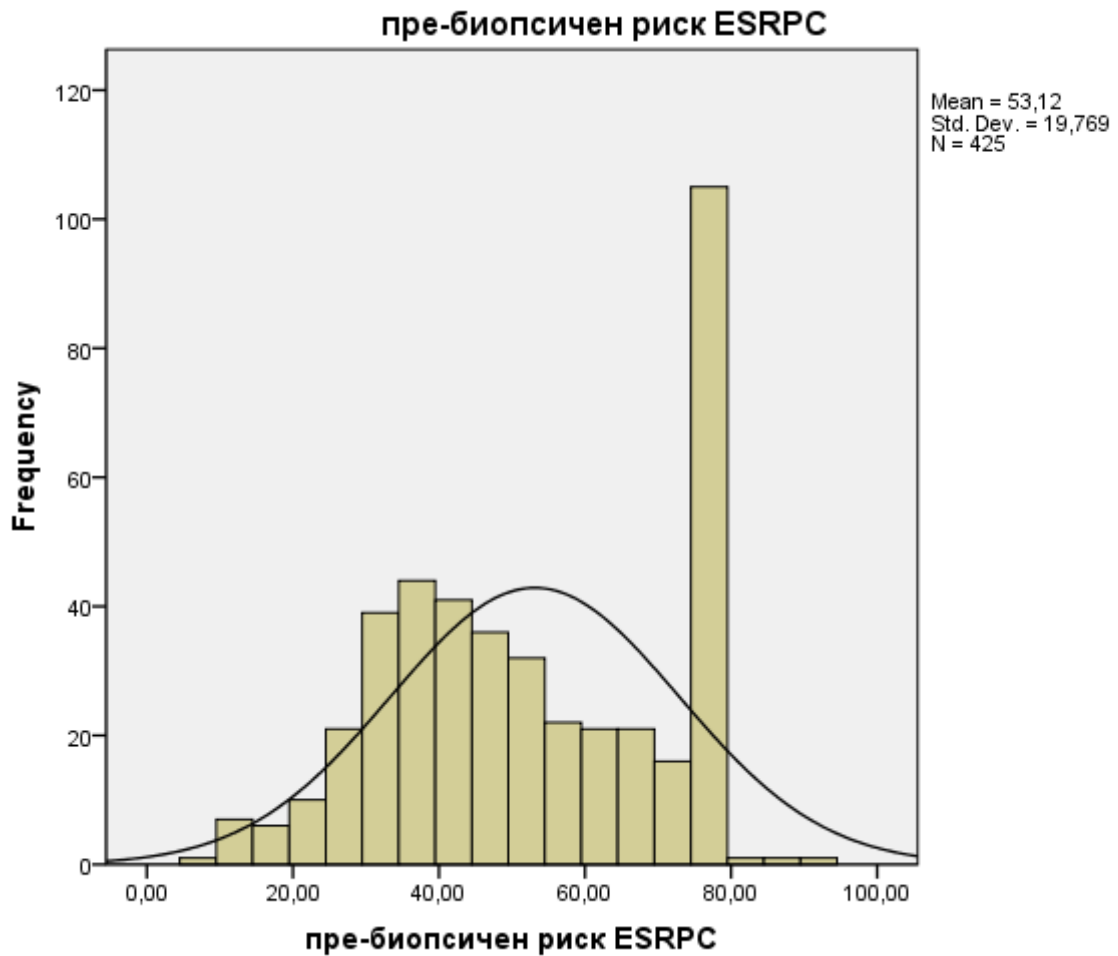


Фиг 21 Фалшиво позитивни и фалшиво негативни резултати при %фПСА

- Пре-биопсичен ESRPC калкулатор на риска базиран на тПСА – калкулатора на риска дава средна стойност на риска за цялата кохорта 53,12 % - това отговаря доста близко на реално наблюдаваната в нашето проучване честота на позитивни биопсии – 65,2 %. Категорийното разпределение на риска според ESRPC калкулатора е представено на следната таблица 9

пре-биопсичен риск по ESRPC	брой пациенти	%
до 30 %	57	13,40%
30-50 %	159	37,40%
50- 70 %	90	21,20%
над 70 %	119	28,00%

Табл 9. Категорийно разпределение на пребиопсичния риск според ESRPC-калкулатора



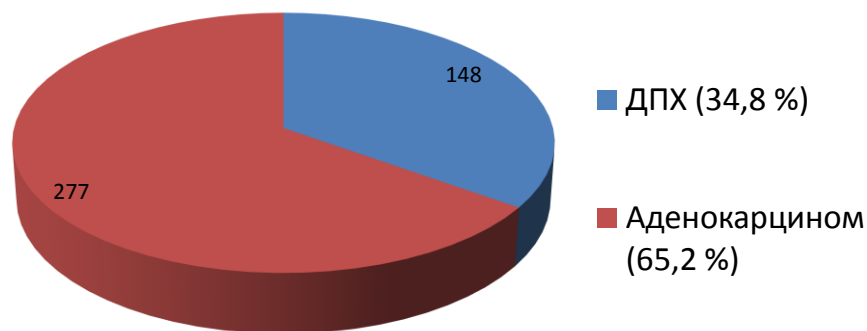
Фиг 22. Графично изображение на пребиопсичния риск от позитивна биопсия според ESRPC-калкулатора

3. Резултати от хистологичното изследване

- Хистологична диагноза – от всичките 425 пациенти подложени на биопсия 148 (34,8 %) са с диагноза ДПХ и 277 (65,2 %) са с диагноза

аденокарцином на простатата (фиг. 23).

ХИСТОЛОГИЧНА ДИАГНОЗА



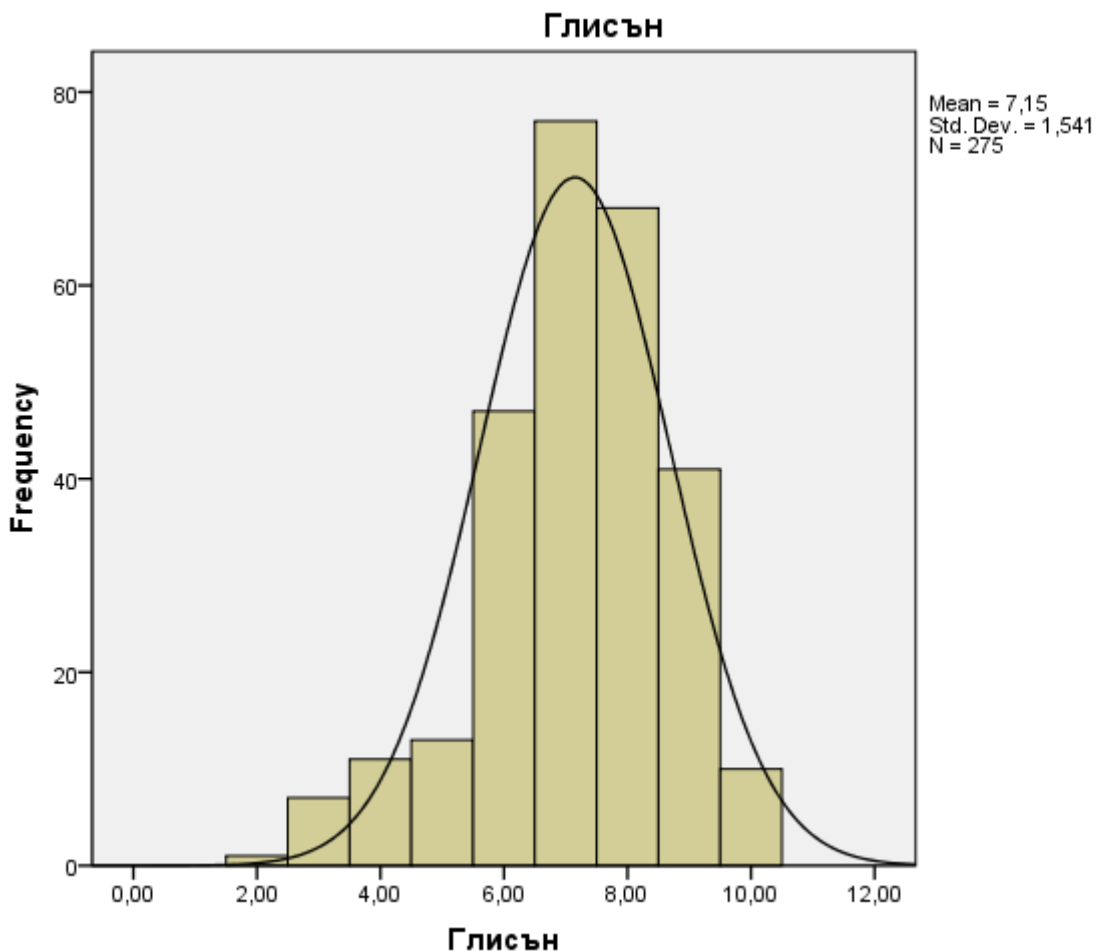
Фиг. 23 Хистологична диагноза при пациентите насочени за извършване на простатна биопсия

- Сбор по Глисън – Сбор по Глисън е направена при всички 277 пациента с диагноза аденокарцином на простата, като тя е извършена от двама патолози със значителен опит и интерес в областта на заболяванията на простатната жлеза. Средната стойност на сбора по Глисън е 7,15 (стандартно отклонение 1,54). Категорийното разпределение на високодиференциран (сбор по Глисън 2-6), умеренодиференциран (сбор по Глисън 7) и високодиференциран (сбор по Глисън 8-10) е представена на таблица 10.

Сбор по Глисън	брой пациенти	%
2 - 6	79	28,70%
7	79	28,70%
8 -10	119	43,30%

Табл. 10 Категорийно разпределение на сбор по Глисън

Графичното разпределение на сбора по Глисън е представено на фиг. 24



Фиг. 24 Сбор по Глисън

Оценката по Глисън показва значителна позитивна корелация с плазменото ниво на тПСА ($p=0,02$)

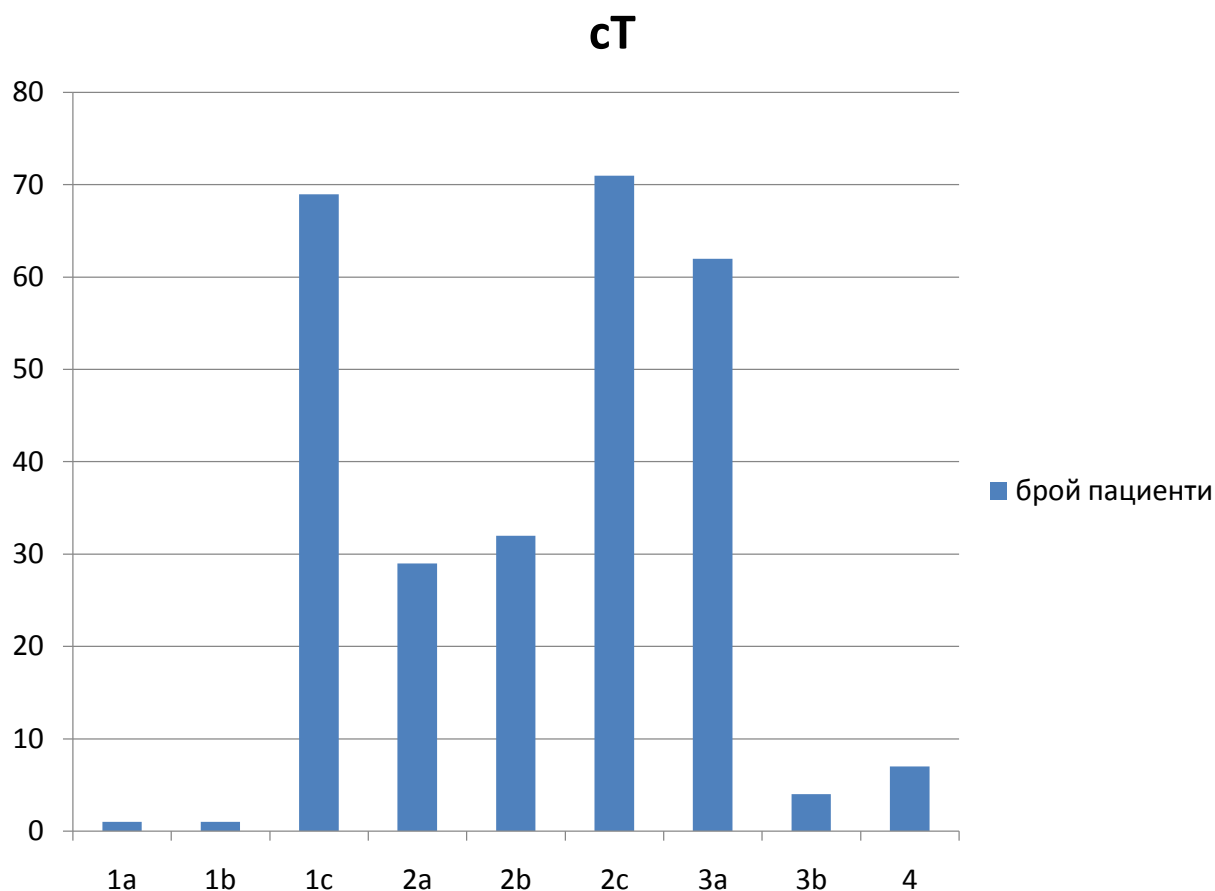
- Третична оценка по Глисън (наличие на огнища с оценка по Глисън 5) – в последните години наличието на дори минимални огнища с оценка по Глисън 5 се приема за независим неблагоприятен прогностичен признак. В нашата кохорта данни за огнища на Глисън 5 се наблюдават в 138 пациента (49,9 %) а липса на огнища с оценка Глисън 5 се наблюдава в 141 пациента (51,1 %). Наличието на оценка по Глисън 5 показва силна позитивна корелация с нивото на тПСА ($p=0,005$)

- Клинична оценка на T-стадия (cT) – cT-стадия се оценява според ТНМ класификацията от 2009 чрез ДРИ, ПСА, ТРУС, КАТ и ЯМР. Категорийното разпределение на cT е представено на табл. 11

сТ	брой пациенти	%
1а-2а (нисък риск)	100	36,20%
2в-2с (междинен риск)	103	37,30%
3а (висок риск)	63	22,50%
3в-4 (много висок риск)	11	4%

Табл. 11 категорийно разпределение на сТ

Броят на пациентите в отделните сТ стадий е представен на фиг. 25



фиг. 25 оценка на пациенти по сТ стадий

- % позитивни късчета – процента позитивни биопсични късчета е индиректна и доста прецизна оценка за обема на простата който е обхванат от неопластичния процес. В нашата кохорта под 20 % позитивни късчета са наблюдавани при 21 пациенти (7,6 %), засягане между 20 и 50 % при 68 пациенти (24,6%), между 50 и 75 % при 49 пациента (17,8 %) и над 75 % при 138 пациента (50 %). Процента засегнати биопсични късчета има силно статистически значима корелация с нивото на плазмения ПСА ($p=0,004$)

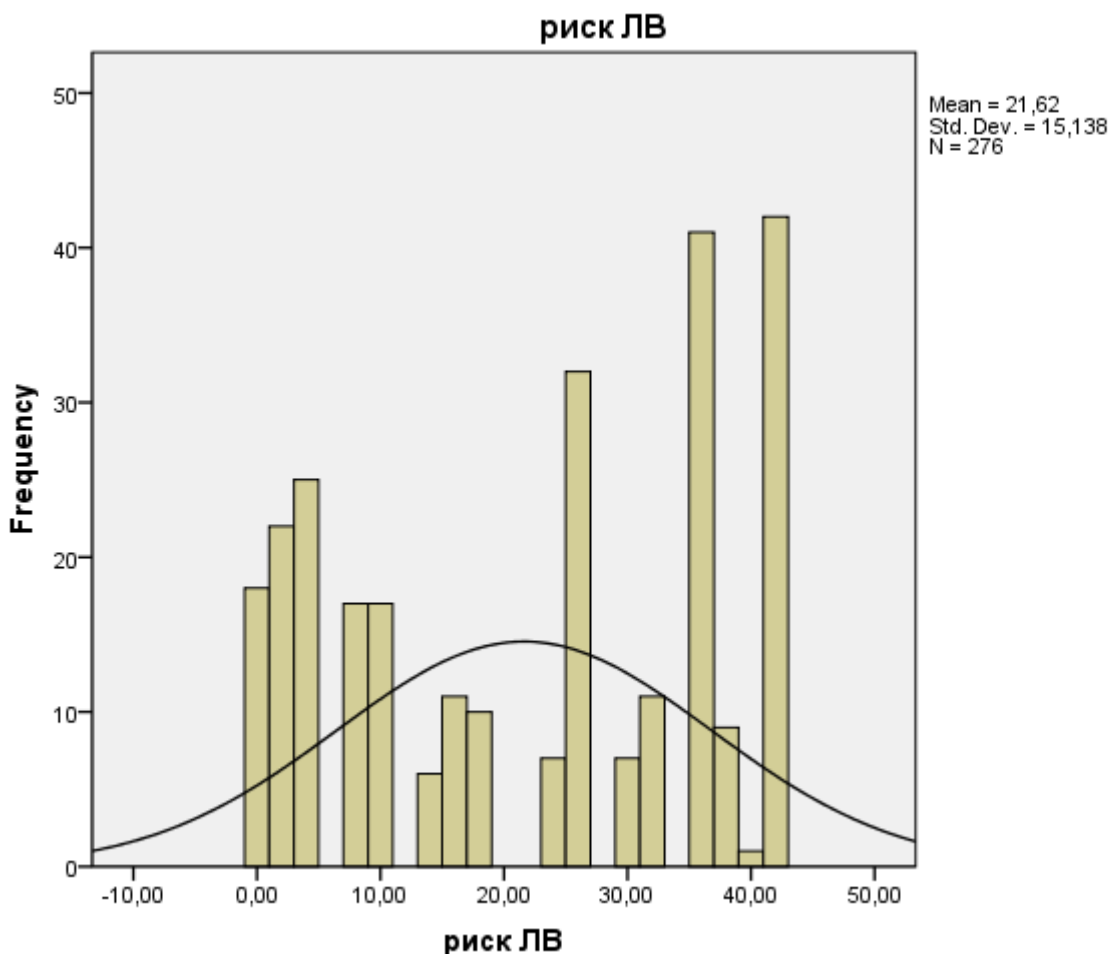
- % на засягане на всяко късче – процента на засягане на всяко отделно късче от неопластичния процес дава индиректна информация за големината на най-големия водещ фокус на аденокарцинома. В нашата група пациенти засягане на под 20 % от тъканта на отделните късчета се наблюдава при 36 пациента (13 %), засягане между 20 и 50 % - при 84 пациента (30,4%), 50-75 % - при 104 пациента (37,7 %) и над 75 % - при 52 пациента (18,8 %).

- Наличие на периневрална инвазия – наличието на периневрална инвазия се приема като един от прогностичните маркери за биологична агресивност на неопластичните процеси. В нашето проучване наличие на периневрална инвазия е наблюдавано при 180 пациента (65,2 %) и липсва при 97 пациента (34,8 %). Наличието на ПНИ показва значителна корелация с pT стадия ($p=0,001$) и може да се използва като прогностичен признак за склонността към локално разпространение на неопластичния процес

4. Резултати от пре-терапевтичните прогностични модели

- Група на риска по D'Amico – на базата на преоперативния ПСА, T-стадия и оценката по Глисън след трансректална биопсия на простата тя разделя пациентите в три рискови групи по отношение вероятността от прогресия на заболяването. В нашата кохорта като нискорискови са оценени 31 пациента (11,3 %), междинен риск се наблюдава при 54 пациента (19,6 %), а като високорискови са оценени 190 пациента (69,1 %).

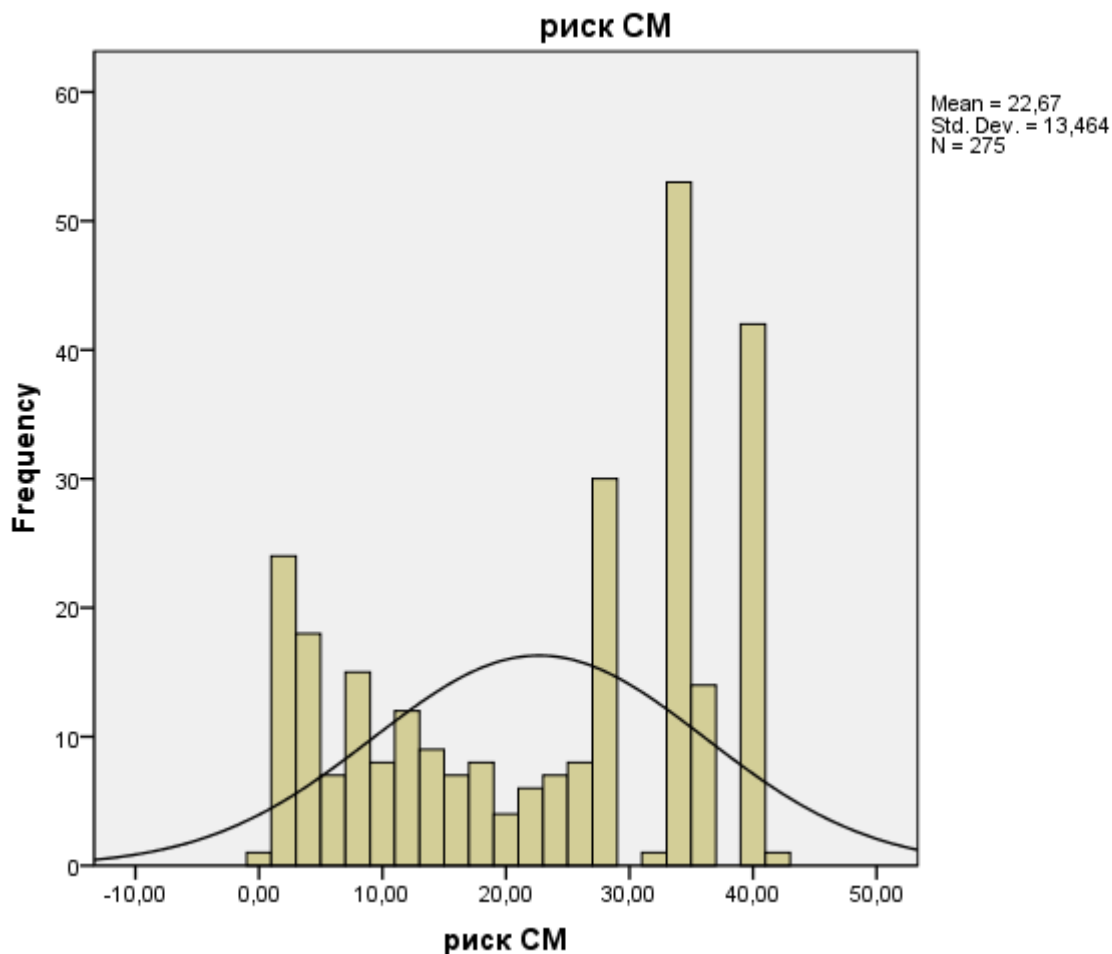
- Преоперативна оценка на риска от наличие на засягане на лимфните възли при радикална простатектомия – тази оценка се базира на осъвременените таблици на Партин от 2006 и дава процентната вероятност за наличието на лимфно засягане (N1). В нашето проучване 108 пациенти (39,1 %) имат риск под 15 %, 65 пациента (23,2 %) имат риск между 15 и 30 % и 104 пациента (37,7 %) имат над 30 % риск от наличие на лимфно засягане. Средната стойност на риска е 21,62 % (стандартно отклонение 15,138).. Графичното разпределение на риска от засягане на лимфните възли е представен на фиг. 26



Фиг. 26 пре-оперативен риск от наличие на засягане на лимфни възли

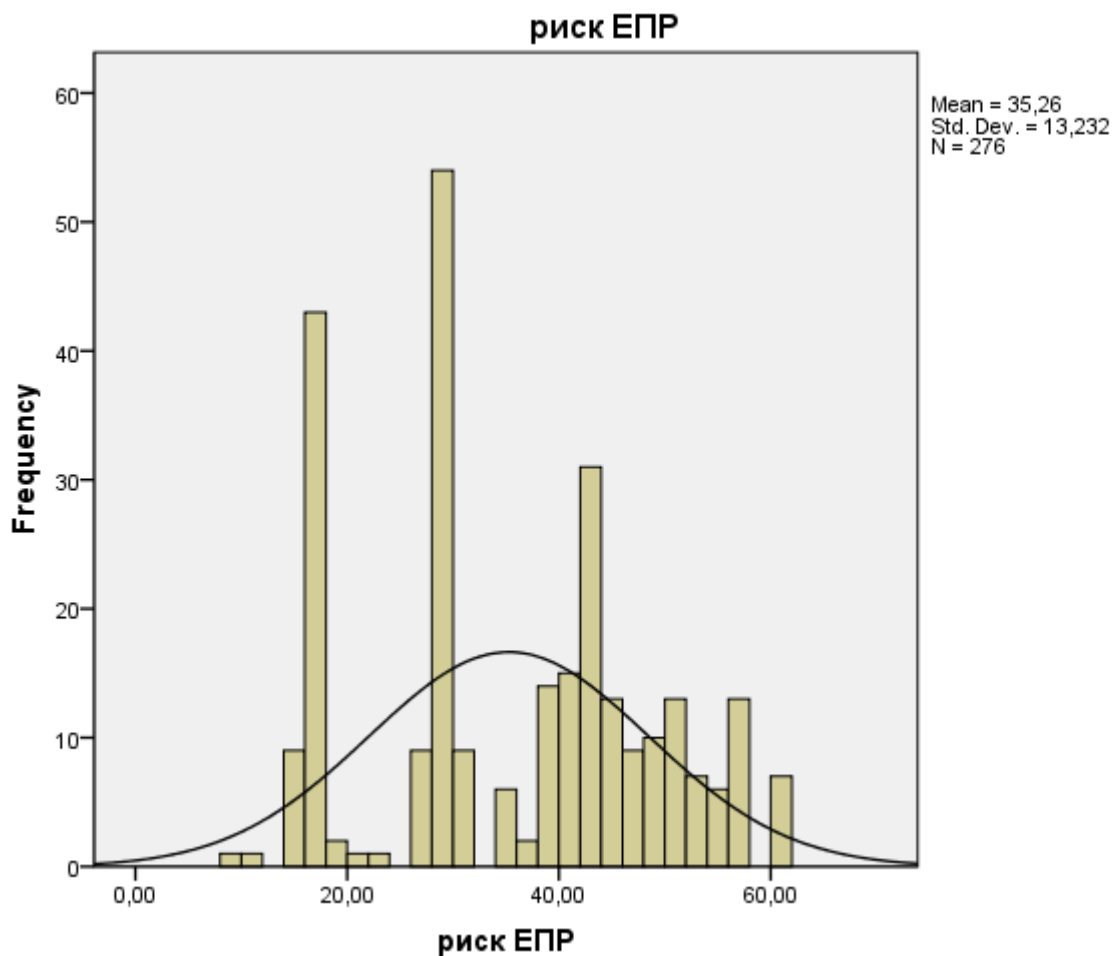
- Преоперативна оценка на риска от наличие на засягане на семенните мехурчета при радикална простатектомия – тази оценка също се базира на осъвременените таблици на Партин от 2006 и дава процентната вероятност за засягане на семенните мехурчета (pT3в), което се дефинира като локално-авансирал карцином на простата и налага мултимодално лечение. В нашата група пациенти 102 пациенти (36,2 %) имат под 15 % риск от засягане на семенните мехурчета, 64 пациента (22,9 %) имат риска между 15 и 30 % и при 111 пациента (40,4 %) риска от инфилтрация на семенните мехурчета е над 30 %. Средната стойност на риска е 22,67 % (стандартно отклонение 13,46). Разпределението на риска от засягане на семенните

мехурчета е представено на фиг. 27



Фиг. 27 Риск от засягане на семенните мехурчета

- Риск от екстрапростатно разпространение – това е друга основна променлива от таблиците на Партин, която дава вероятността за наличие на микро- или макроскопско екстрапростатно разпространение през капсулата на жлезата. Този показател е директно свързан с честотата на позитивни резекционни линии. Средната стойност на риска в нашата група пациенти е 35,26 % (стандартно отклонение 13,23). При 130 пациента (47,1 %) риска е под 30 %, при 101 пациента (36,6 %) риска е между 30 и 50 % и при 46 пациента (16,3%) риска е над 50 %. Рискът от екстрапростатно разпространение е представен графично на фигура 28



Фиг. 28 Риск от наличие на екстрапростатно разпространение при РП

- Риск от прогресия на заболяването без дефинитивно лечение – тази основна променлива се базира на номограмата на Катан и дава информация за вероятността за прогресия на заболяването без дефинитивно лечение. Средната стойност на риска от прогресия в нашата група пациенти е 78,41 %. При 36 пациента (13 %) риска е под 40 %, при 47 пациента (17 %) е между 40 и 75 % докато при останалите 194 пациента (69,9%) риска от прогресия на нелекуваното заболяване е над 75 %

5. Корелация между различните пре-терапевтични параметри и мултивариабилан анализ

Изключително важно практическо значение имат прогностични модели които на базата на максимално лесно изследвани променливи (например

ПСА, ДРИ, %фПСА и други) биха могли точно да предположат резултата от по-инвазивни манипулации (простатна биопсия) и така да подпомогнат взимането на решения в диагностично-терапевтичния процес. За тази цел ние потърсихме корелации между различни пре-оперативни параметри в нашата група пациенти

- Корелация между ниво на плазмен тПСА и наличието на карцином – това е един от най-важните въпроси в съвременния подход за диагностика на простатния аденокарцином – до каква степен плазменото ниво на тПСА може да прогнозира наличието на карцином на простатата. Тези две променливи показват изключително силна позитивна корелация при нива на тПСА над 20 нг/мл ($p < 0,001$), но за съжаление в „сивата зона” в която са основната част от пациентите (тПСА 4-10 нг/мл) тази корелация е значително по-слаба и не достига статистическа значимост ($p = 0,356$). Данните от крос-референтното проучване на тези два фактора е представено на следната таблица.

		хистологична диагноза			
		ДПХ		Са	
		Брой	%	Брой	%
PSA	PSA \leq 4	10	55,60%	8	44,40%
	PSA > 4 and PSA \leq 10	78	60,50%	51	39,50%
	PSA > 10	60	21,60%	218	78,40%

Табл. 12 Корелационен анализ на връзката между тПСА и наличието на аденокарцином на простата

- Корелация между нивото на риска според ESRPC-калкулатора и наличието на карцином – използвания ESRPC-калкулатор се базира на ПСА и споделя неговите предимства и слабости. Неговите основни предимства са че той е валидиран в една огромна скринингова популация и че той разглежда стойностите на тПСА не като променлива при която има гранична стойност над която вероятността за наличие на карцином се повишава, а като една променлива, чието нарастване води до постепенно

повишаване на риска, което е много по-близко до биологичната характеристика и същността на тПСА. Друго негово предимство е че резултата който той предоставя е много по-разбираем и по-достъпен за пациента отколкото стойностите на тПСА, и така помага за взимането на истинско информирано решение. Корелацията между риска прогнозиран от ESRPC-калкулатора и реално наблюдаваната хистологична диагноза е представен на следната таблица 13:

			хистологична диагноза		ОБЩО
			ДПХ	Са	
ESRPC	<= 30	Брой	34	23	57
		%	60%	40%	100%
	30< ESRPC <= 50	Брой	89	70	159
		%	56%	44%	100%
	>50	Брой	25	184	209
		%	12%	88%	100%
Общо		Брой	148	277	425
		%	35%	65%	100%

Табл. 13 Корелация между ESRPC-риска и хистологичната диагноза

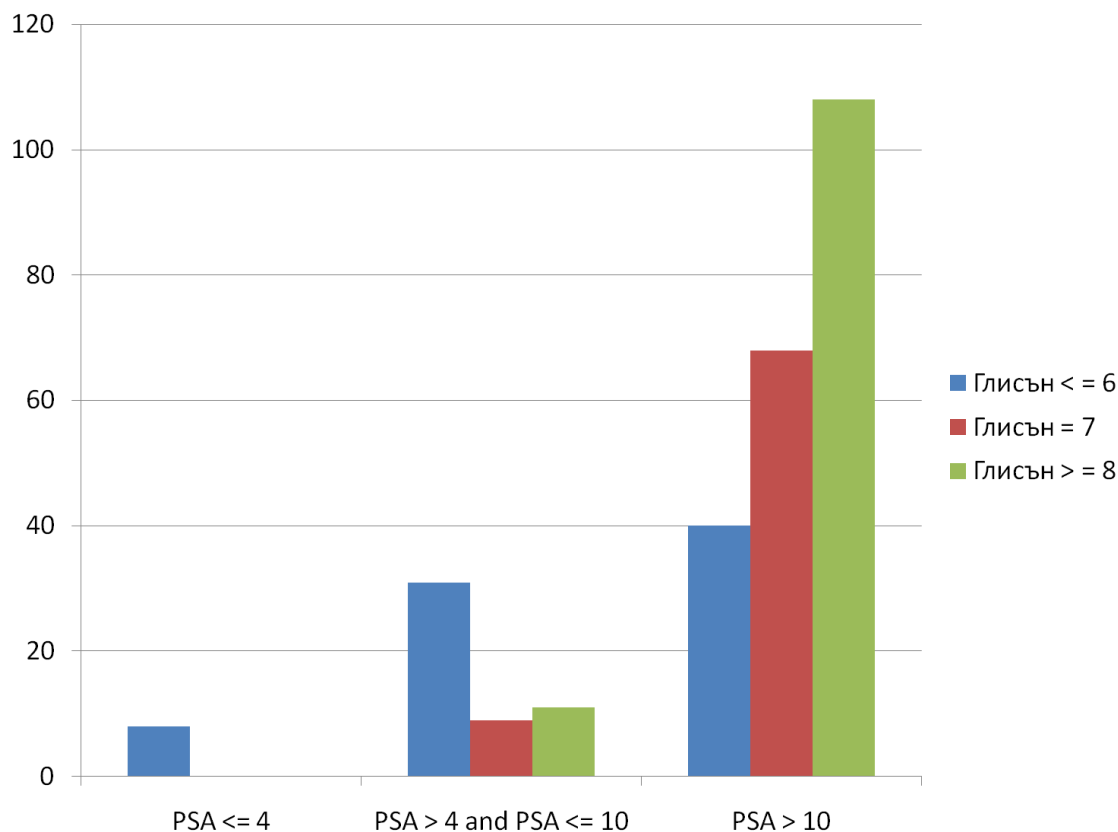
- Корелация между плазмено ниво на тПСА и сбор по Глисън на простатната биопсия – сборът по Глисън на настоящия етап е един от основните параметри за оценка на биологичната агресивност на аденокарцинома на простатата. Корелацията между сбора по Глисън в трансректалната биопсия на простата и плазменото ниво на тПСА има значителна статистическа значимост ($p=0,003$), и е представен в следната таблица 14

		Глисън, групиран					
		Глисън <= 6		Глисън = 7		Глисън >= 8	
		брой	%	брой	%	Брой	%
ПСА	PSA <= 4	8	100%	0	0%	0	0%

PSA > 4 и PSA <= 10	31	61%	9	18%	11	22%
PSA > 10	40	19%	68	31%	108	50%

Табл. 14 корелационен анализ на тПСА и сбора по Глисън

От таблицата е видно че при 100 % от пациентите с тПСА под 4 нг/мл и аденокарцином хистологично се открива високодиференциран вариант на заболяването (сбор по Глисън<=6), подобна е ситуацията при тПСА 4-10 нг/мл – високодиференциран аденокарцином в 61 %, докато при тПСА над 10 нг/мл 50 % от случаите на аденокарцином имат сбор по Глисън 8-10 (нискодиференциран) (фиг. 29)



Фиг. 29 категорийно разпределение на сбора по Глисън според нивата на тПСА

- Корелация между плазмени нива на тПСА и перинеурална инвазия – перинеуралната инвазия се смята за един от по-слабите прогностични признаци за биологична агресивност на неоплазмите. В нашето проучване корелацията между тПСА и ПНИ достига границата на статистическа значимост ($p=0,005$). Тяхната взаимовръзка е представена на таблица 15.

От таблицата е видно че при по-високите нива на тПСА (>10 нг/мл) процента на наличие на ПНИ е значително по-висок (70 %)

		ПНИ		Общо	
		липсва	налице		
ПСА	PSA <= 4	Брой	4	4	8
			50%	50%	100%
	PSA > 4 и PSA <= 10	Брой	29	22	51
			57%	43%	100%
	PSA > 10	Брой	64	154	218
			30,00%	70,00%	100,00%
Общо		Брой	96	180	277
			35%	65%	100%

Табл. 15 Корелация между тПСА и наличие на перинеурална инвазия

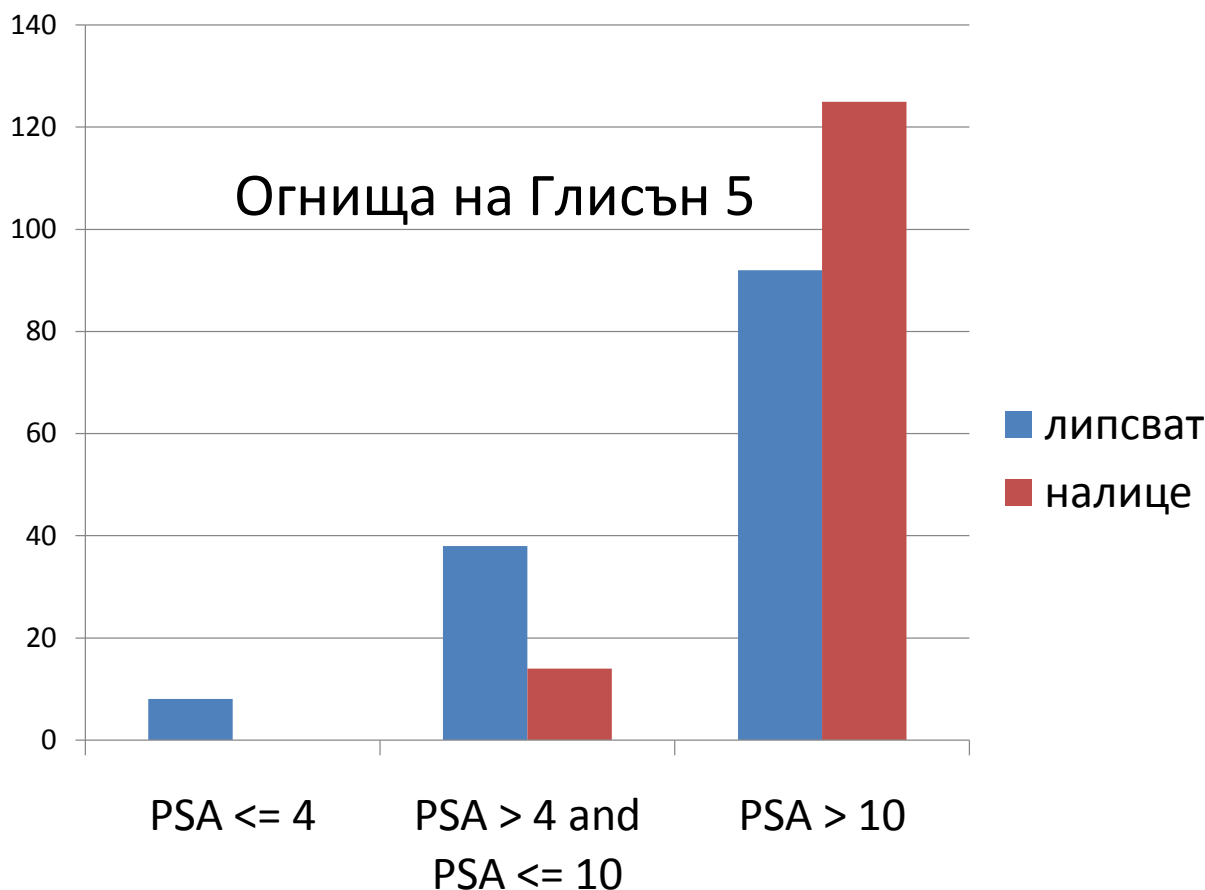
- Корелация между плазмени нива на тПСА и наличието на огнища на Глисън 5 – третичната оценка по Глисън (огнища на Глисън 5) е специфичен прогностичен признак за биологична агресивност на карцином на простата. Това се продиктува от хетерогенността и мултифокалността на процеса в простата и mapping-характера на трансректалната биопсия. Взаимовръзката между нивата на тПСА и наличието на огнища на Глисън 5 е представена на следната таблица 16

			огнища на глисън 5		общо
			липсват	налице	
тПСА	PSA <= 4	Брой	8	0	8
		%	100,0%	0,0%	100,0%
	PSA > 4 and PSA <= 10	Брой	38	14	52
		%	74,5%	23,5%	100,0%
	PSA > 10	Брой	92	125	217
		%	42,4%	56,7%	100,0%
Общо		Брой	138	139	277

	%	,5	,5	1,0
--	---	----	----	-----

Табл. 16 Корелация между тПСА и наличието на огнища на Глисън 5

Взаимовръзката между тези два параметъра показва силна статистическа значимост ($p < 0,001$). Докато при стойности на тПСА под 4 нг/мл липсват случаи на наличие на Глисън 5, а сивата зона те се наблюдават едва при 23,5 % то случаите, при тПСА над 10 нг/мл при повече от половината случаи (56,7 %) се наблюдава наличието на огнища с Глисън 5 (фиг. 30)



Фиг. 30 категорийно разпределение на тПСА и наличието на огнища на Глисън 5

- Мултивариабилен анализ на пре-терапевтичните параметри – съчетавайки всички пребиопсични параметри създадохме мултивариабилен статистически модел който да прогнозира вероятността от наличието на карцином.

Модел 1: Моделиране влиянието на факторите, определящи наличието на рак

Концептуална рамка на Модел 1 и работни хипотези за влиянието на факторите

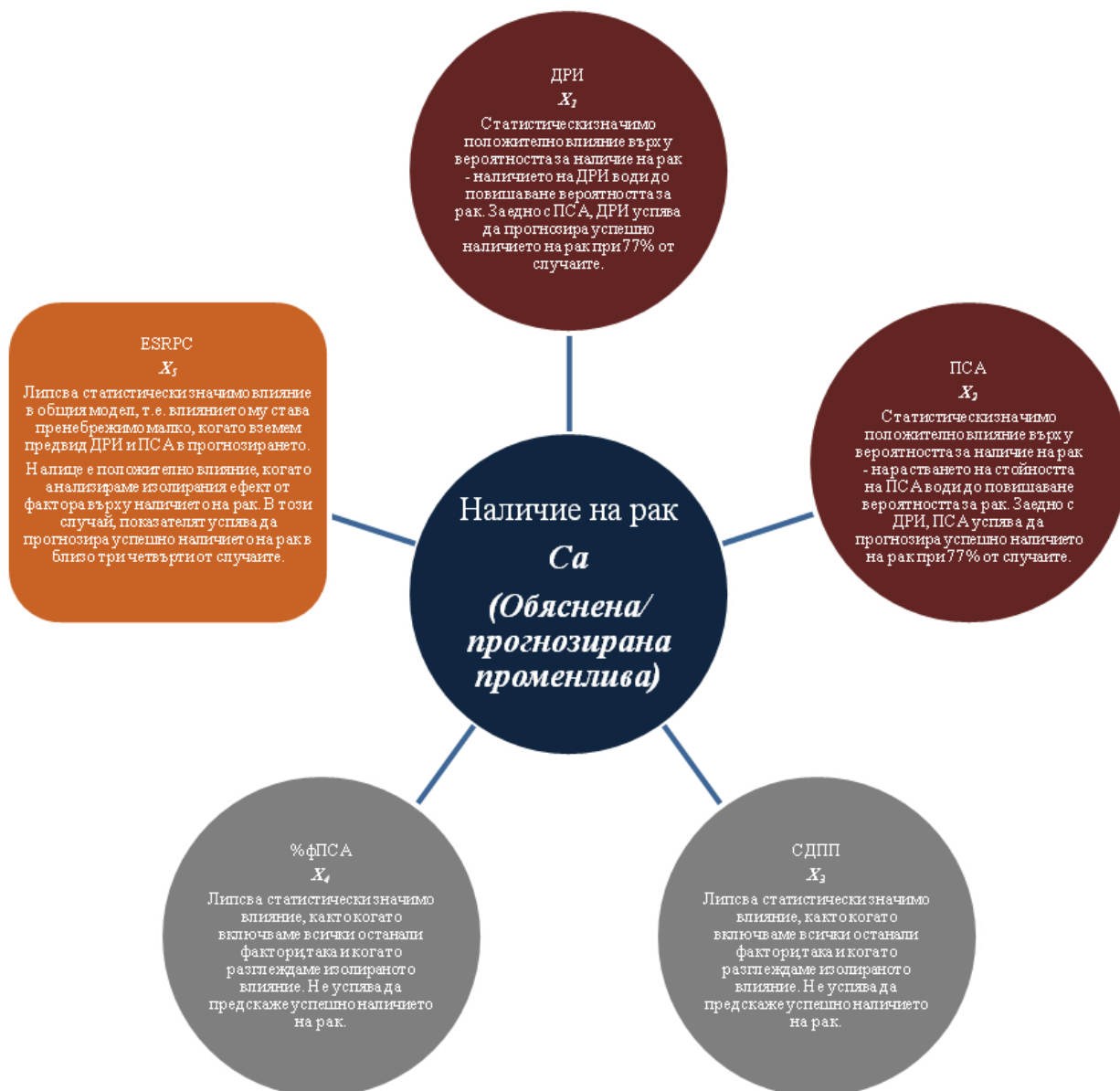
Спецификация на Модел 1

$$Ca_i = \alpha_0 + \alpha_1 X_{1i} + \alpha_2 X_{2i} + \alpha_3 X_{3i} + \alpha_4 X_{4i} + \alpha_5 X_{5i} + u_i$$

Където u_i е случайната грешка в модела.



Резултати от емпирична оценка на Модел 1:



Допълнителни бележки по резултатите от статистическия анализ:

1. Успех и неуспех при прогнозирането на наличие на рак в зависимост от всички фактори, включени в Модел 1

	Прогнозирано отсъствие на рак	Прогнозирано наличие на рак	Общо за всички случаи
% Успешно прогнозирани случаи	57.29	77.18	70.25
% Неуспешно	42.71	22.82	29.75

прогноzirани случаи



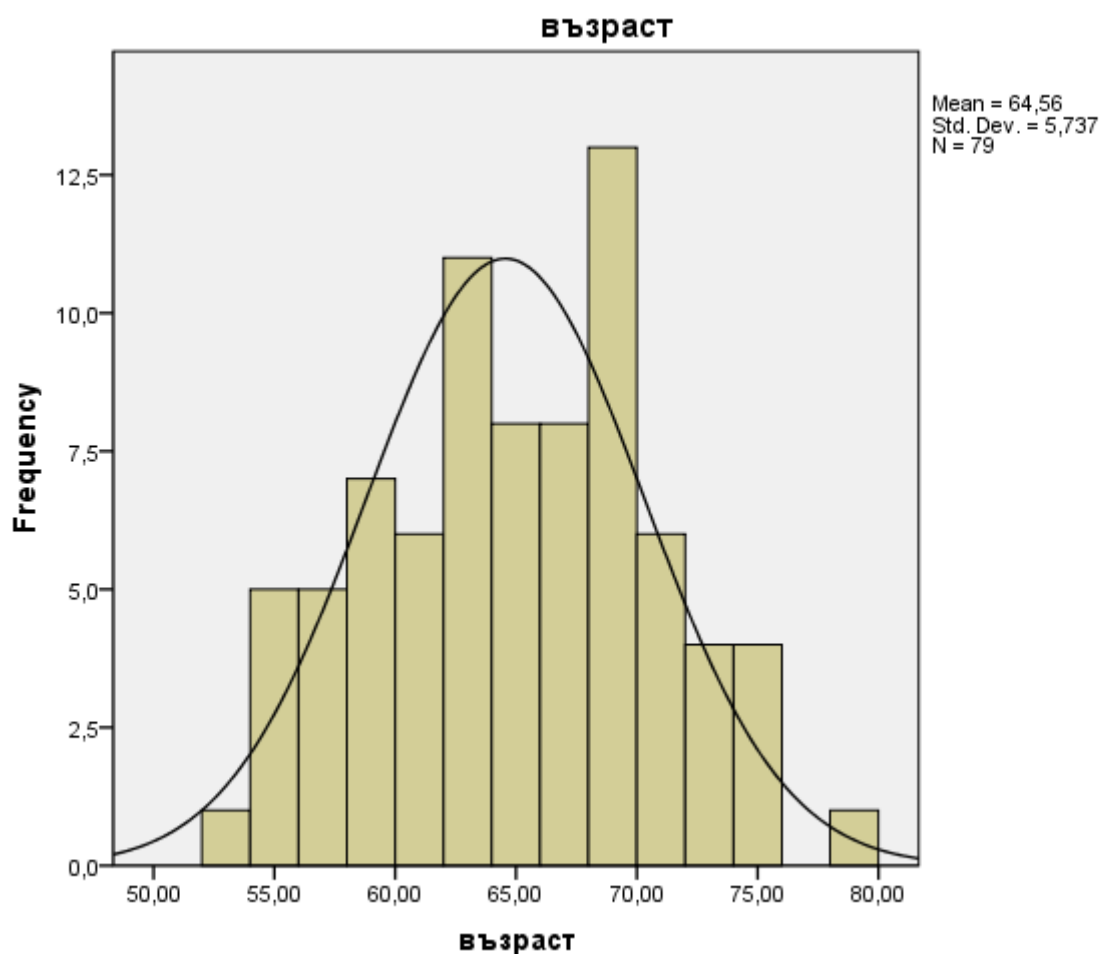
2. Успех и неуспех при прогнозирането на наличие на рак в зависимост от изолирания фактор ESRPC с логистична регресия

	Прогнозирано отсъствие на рак	Прогнозирано наличие на рак	Общо за всички случаи
% Успешно прогнозирани случаи	50.18	73.38	65.30
% Неуспешно прогнозирани случаи	49.82	26.62	34.70

II. Резултати от проучването при пациенти с доказан аденокарцином на простата насочени дефинитивно лечение чрез извършване на радикална простатектомия

1. Общи клинико-демографски характеристики на пациентите насочени за извършване на радикална простатектомия

- Възраст на пациентите – средната възраст на пациентите е 64,557 години (53 – 78 години; стандартно отклонение 5,37). Графичното разпределение на пациентите по възраст е представено на следната фигура 31.



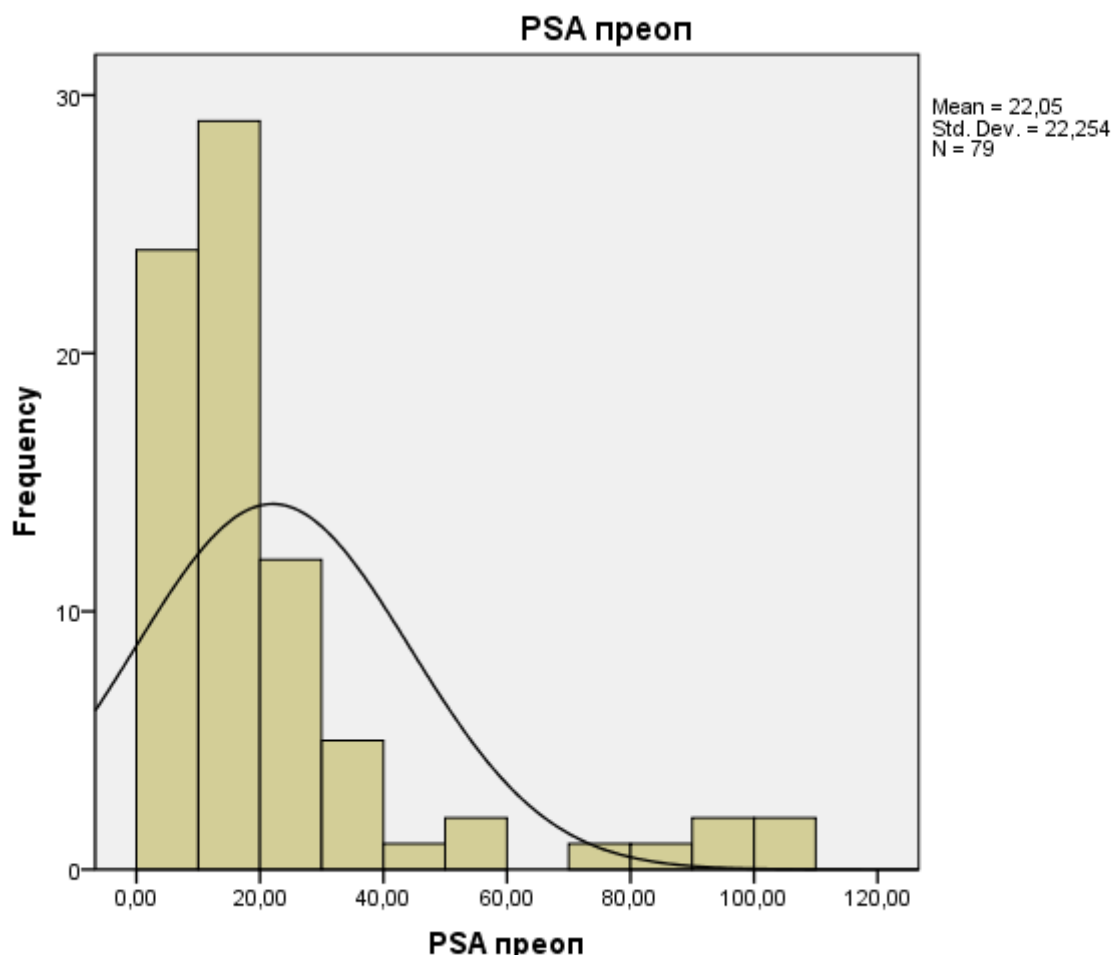
Фиг. 31 Възрастово разпределение на пациентите подложени на простатна биопсия

- Преоперативно ниво на тПСА - средната преоперативна стойност на тПСА в нашата група пациенти е 22,05 нг/мл (5,3 – 100 нг/мл). Нивата на тПСА са представени категорийно на таблица 17 и графично на фиг. 32:

тПСА	брой пациенти	%
4-10 нг/мл	20	31,60%
10-20 нг/м	30	38,00%
20-50 нг/мл	16	20,30%
над 50 нг/мл	8	10,10%

Табл. 17 Категорийно разпределение на плазмените нива на тПСА

В сравнение с групата пациенти насочени за извършване на простатна биопсия при пациентите насочени за РП относителния дял на пациентите със значително повишени стойности на тПСА (>50 нг/мл) е много по нисък (10,1 %). Графичното разпределение на преоперативния тПСА е представено на фиг. 32



Фиг . 32 – преоперативни нива на тПСА

Преоперативното ниво на тПСА има силно изразена корелация с няколко много важни параметъра на хистологичния резултат при радикалната простатектомия – наличие на Глисън 5 в РП материала ($p=0,015$); наличието на засягане на лимфни възли ($p=0,004$), промяна на стадия на заболяването в по-висока рискова група ($p=0,002$); вероятността за локално-авансирал карцином (SEER-оценка) ($p<0,001$). Всичко това показва че въпреки неговите слабости като диагностичен маркер, тПСА има значителен потенциал като прогностичен маркер, оказващ значителна помощ в избора на оптималната терапевтична схема.

- сТ – клиничната оценка на Т-стадия при извършването на простатната биопсия е извършено чрез ДРИ, КАТ, ЯМР и ТРУС. Разпределението по стадий е представено на таблица 18. От нея е видно

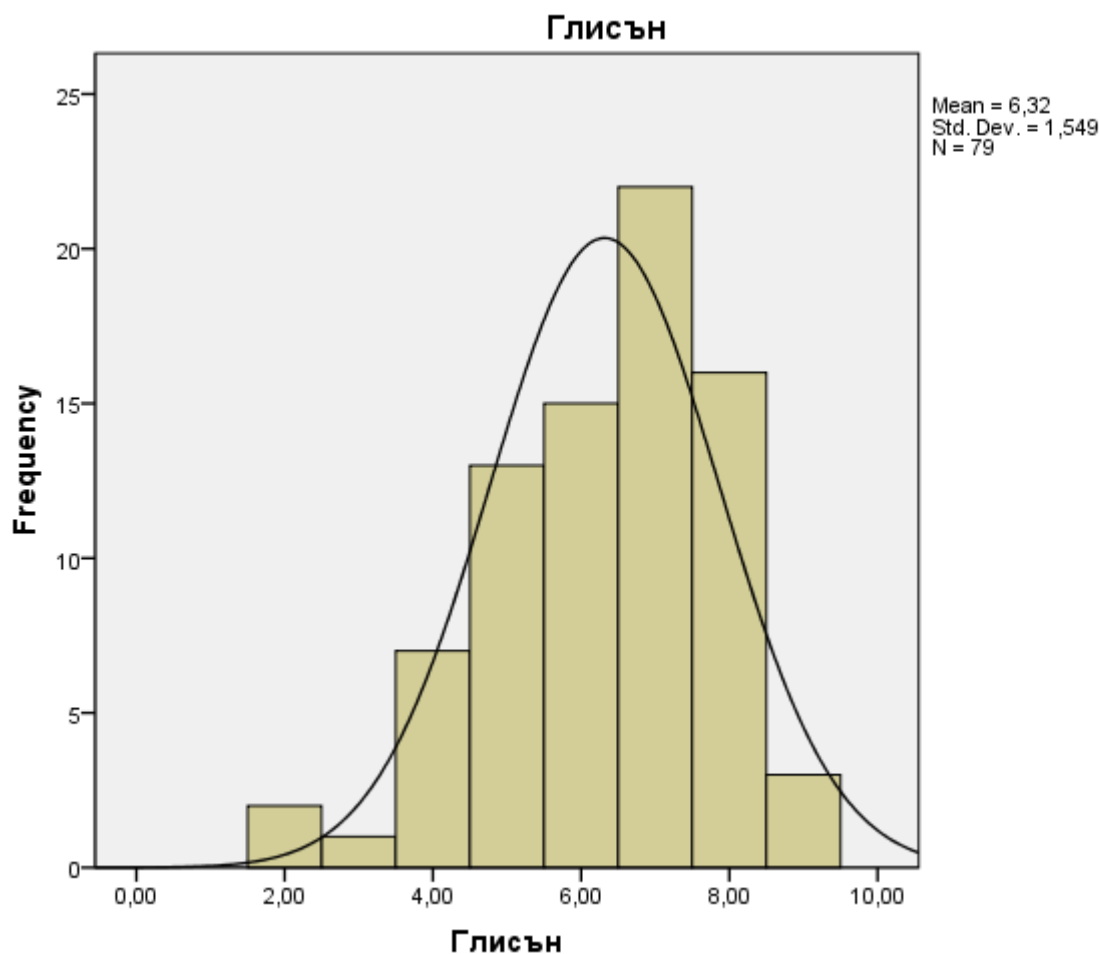
че голяма част от пациентите показват ограничено разпространение на заболяването (T1c, T2a, T2b) – 69,6%. По-малка част от пациентите имат данни за по-значимо засягане на простата (T2c, T3a) – 31,4%. В нашата група пациенти липсват случаи с данни за локално авансирал карцином при биопсията (T3b, T4)

сТ	брой	%
1c	25	31,6
2a	16	20,3
2b	14	17,7
2c	15	19,0
3a	9	11,4
общо	79	100,0

Табл. 18 сТ оценка на пациентите насочени за РП

- сбор по Глисън от биопсията – сбора по Глисън от биопсията при пациентите насочени за РП има средна стойност 6,32(стандартно отклонение 1,32). Графичното разпределение е показано на фигура 33. За разлика от пациентите с биопсия на простата тук относителния дял на пациенти с Глисън 8-10 е значително по-малък (19 пациента, 24 %) от които само 3 пациенти са със сбор по Глисън 9 и липсват пациенти с

Глисън 10.



фиг. 33 преоперативна оценка по Глисън

Преоперативната оценка по Глисън показва значителна статистическа корелация с няколко важни параметъра – покачване на T-стадия при радикалната простатектомия (up-staging)($p=0,15$), промяна на стадия на заболяването в по-висока рискова група ($p<0,001$), наличието на позитивни резекционни линии ($p=0,003$) и SEER оценката ($p<0,001$)

- % позитивни късчета – при пациентите насочени за радикална простатектомия под 20 % позитивни късчета са наблюдавани при 6 пациенти (7,6 %), засягане между 20 и 50 % при 34 пациенти (43%), между 50 и 75 % при 19 пациента (24,1 %) и над 75 % при 20 пациента (25,3 %). Както при повечето прогностични показатели за биологична агресивност тук тенденцията е към по-ограничено засягане спрямо групата подложена на биопсия.

Процентът засегнати биопсични късчета има силно статистически значима корелация с промяната на стадия на заболяването в по-висока рискова група ($p=0,001$)

- % на засягане на всяко късче – В нашата група пациенти засягане на под 20 % от тъканта на отделните късчета се наблюдава при 12 пациента (15,2 %), засягане между 20 и 50 % - при 39 пациента (49,4%), 50-75 % - при 22 пациента (27,8 %) и над 75 % - при 6 пациента (7,6 %). Хистограмата и при този показател показва значително изместване към по-ниските степени на засягане в сравнение с групата на пациенти с биопсия. % засягане на всяко късче показва статистически значима позитивна корелация с pT ($p < 0,001$), промяна на стадия в по-висока рискова група ($p < 0,001$), pN ($p = 0,007$), наличието на позитивни резекционни линии ($p = 0,05$) и SEER оценката ($p = 0,05$)

- Третична оценка по Глисън (наличие на огнища с оценка по Глисън 5) - в тази субгрупа пациенти данни за огнища на Глисън 5 се наблюдават в 23 пациента (29,1 %) а липса на огнища с оценка Глисън 5 се наблюдава в 56 пациента (70,9 %). Наличието на оценка по Глисън 5 показва силна позитивна корелация с вероятността от промяна на стадия в по-висока рискова група ($p < 0,001$), pN ($p = 0,003$), статуса на резекционните линии ($p = 0,002$)

- Неoadювантна хормонотерапия – включва тримесечен курс със стероиден антиандроген (ципротерон). При 43 пациента (54,4 %) не е провеждана такава терапия, останалите 36 пациента (45,6%) са били подложени на неoadювантна терапия. Не се наблюдава статистически значима корелация между приложението на неoadювантна хормонотерапия и pT и статуса на резекционните линии.

2. Резултати от пре-терапевтичните прогностични модели

- Група на риска по D`Amico – В пациентите подложени на РП като нискорискови са оценени 8 пациента (10,1 %), междинен риск се наблюдава при 24 пациента (30,4 %), а като високорискови са оценени 47 пациента (59,5 %). Основния параметър който повишава риска по D`Amico при тези пациенти е нивото на ПСА. сT оценката и сборът по Глисън водят до повишена оценка на риска в минимален брой пациенти (съответно 9 и 24 пациента, като част от тях имат повече от един рисков фактор). Групата по D`Amico показва статистически значима взаимовръзка с вероятността от промяна на стадия в по-висока рискова група ($p < 0,001$) и pN ($p = 0,18$)

- Преоперативна оценка на риска от наличие на засягане на лимфните възли при радикална простатектомия – В нашето проучване 54 пациенти (68,4 %) имат риск под 15 %, 19 пациента (24,1 %) имат риск между 15 и 30 % и едва 6 пациента (7,6 %) имат над 30 % риск от наличие на лимфно засягане. Средната стойност на риска е 11,56 %. Тази стойност обаче се разминава с реално наблюдаваната честота на засягане на лимфните възли при РП в нашата група (20,3%) и не достига статистическа значимост на корелация с никоя от другите променливи.

- Преоперативна оценка на риска от наличие на засягане на семенните мехурчета при радикална простатектомия – в тази субгрупа 43 пациенти (54,4 %) имат под 15 % риск от засягане на семенните мехурчета, 25 пациента (31,6 %) имат риска между 15 и 30 % и при 11 пациента (13,9 %) риска от инфилтрация на семенните мехурчета е над 30 %. Средната стойност на риска е 15,84 %. Тази стойност значително се доближава до реално наблюдаваната честота на засягане на семенните мехурчета при РП (20,3%)

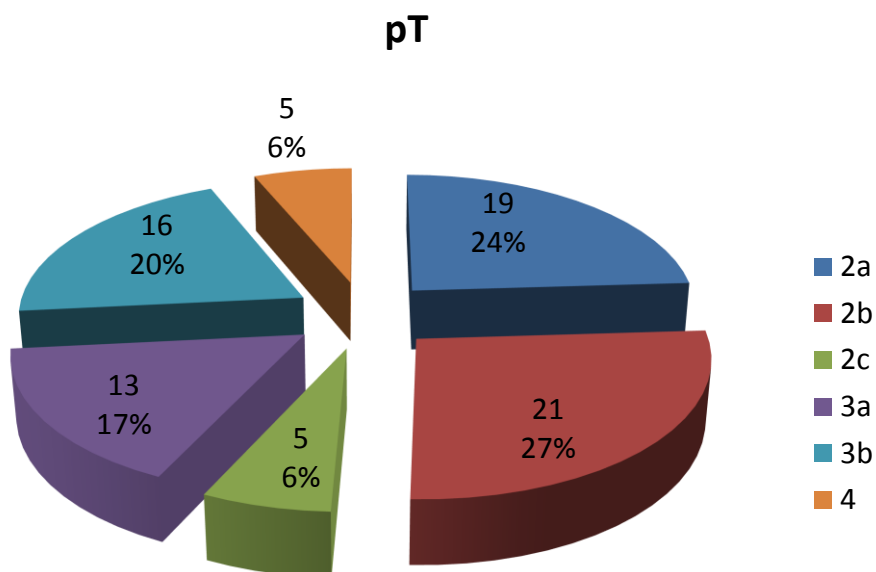
3. Резултати от хистологичното изследване

- рТ – един от водещите параметри в оценката на препарата от радикалната простатектомия. В групата пациенти подложени на РП основната част от пациентите (73,4%) има рТ оценка \leq Т3а. Приблизително една четвърт от пациентите обаче имат рТ оценка Т3в и Т4 която прави риска от биохимичен рецидив след РП и прогресия на заболяването изключително голям. Тази група пациенти е предимно за сметка на случаи със засягане на семенните мехурчета (16 пациента; 20,3%) Категорийното разпределение на пациенти по показателя рТ е представено на табл 19

рТ	брой пациенти	%
1а-2а (нисък риск)	19	24%
2в-2с (междинен риск)	26	32,90%
3а (висок риск)	13	16,50%
3в-4 (много висок риск)	21	26,3%

Табл. 19 категорийно разпределение на рТ

Графичното разпределение на pT е представено на фиг. 34



Фиг. 34 графично и процентно разпределение на pT

- Сбор по Глисън в материала от РП – Средната стойност на сбора по Глисън е 6,38 (стандартно отклонение 1,64). Категорийното разпределение на високодиференциран (сбор по Глисън 2-6), умеренодиференциран (сбор по Глисън 7) и високодиференциран (сбор по Глисън 8-10) е представена на таблица 20

Сбор по Глисън	брой пациенти	%
2 - 6	42	53,20%
7	17	21,50%
8 -10	20	25,30%

Табл. 20 категорийно разпределение на сбора по Глисън в РП

В нашата кохорта липсват пациенти със сбор по Глисън 10 и само 9 пациенти имат сбор по Глисън 9. Сборът по Глисън в РП показва статистически значима корелация с преоперативното ниво на ПСА ($p=0,03$) и с pN ($p=0,003$)

Директно свързано с общия сбор по Глисън е наличието на огнища на Глисън 5. Оценка Глисън 5 се наблюдава в 17 пациента (21,5 %) докато в останалите 62 пациента (78,5 %) липсват такива огнища. Наличието на Глисън 5 показва взаимовръзка с % засегнати късчета ($p=0,001$), % засягане на биопсичните късчета ($p=0,001$) и pN.

- Промяна на сбора по Глисън в РП спрямо биопсията – един от най-големите проблеми при хирургичното лечение на карцинома на простата е наблюдаването в значителен брой от случаите разминаване в сбора по Глисън на биопсията на простатата и тази от материала от РП. В нашата група пациенти повишаване на сбора по Глисън се наблюдава в 42 пациента (53,2 %), докато запазване на същата стойност или намаляване на Глисън сбора се наблюдава в 37 пациента (46,7 %).

- pN – статуса на лимфните възли е един от най-важните параметри при оценка на хистологичния материал при РП. Тъй като от него зависи прогнозата на заболяването и нуждата от адювантна терапия след операцията, неговото правилно прогнозиране е от значителна полза. Позитивни лимфни възли са наблюдавани в 20 пациента (25,3 %), липса на засягане на лимфните възли се наблюдава в 59 пациента (74,7 %). Статусът на лимфните възли при РП статистически значимо корелира с преоперативното ниво на ПСА ($p=0,004$), сТ ($p=0,001$), сбора по Глисън при биопсията ($p=0,004$), % засягане на биопсичните късчета ($p=0,035$), наличието на огнища на Глисън 5 ($p=0,001$) и преоперативения риск по D`Amico ($p=0,018$).

- Статус на резекционните линии (R-оценка в TNM-класификацията). Позитивни резекционни линии се наблюдават в 17 пациенти (21,5 %) докато липса на засягане на хирургичните граници се наблюдава в 62 пациента (78,5 %). Статусът на резекционните линии показва статистически значима корелация с сбора по Глисън при биопсията ($p=0,003$), % засегнати късчета ($p=0,023$), % засягане на биопсичните късчета ($p=0,005$) и наличието на огнища на Глисън 5 ($p=0,002$).

- Оценка по SEER за локализиран простатен карцином – това е комплексна оценка за наличието на локализиран карцином след РП която включва Т-стадия, статуса на хирургичните ръбове и наличието на засягане на лимфните възли. За да се приеме карцинома за локализиран той трябва да има оценка по $T < 3a$, негативни резекционни линии (R0) и липса на засягане на лимфни възли (N0). В нашата група пациенти напълно локализирано заболяване е наблюдавано в 43 пациенти (54,4 %) докато данни за екстрапростатно разпространение има в 36 пациента (45,6

%). Основната част от тези пациенти с нелокализиран в простатата карцином (29 пациента, 80,5 %) са на базата на T-стадии T3a и T3b, докато едва при 7 пациенти (19,4 %) има данни за засягане на лимфни възли без данни за прорастване на карцинома извън простатната капсула (pN1 и T<3a).

- Промяна на стадия в по-висока рискова група след РП – оценка базирана на pT, pГлисън, R и pN. Преминаване в по-висока рискова група спрямо тази определена след биопсията се наблюдава в 35 пациента (44,3 %) докато при 44 пациента (55,7 %) рисковата група остава същата. Тази оценка на риска има важно значение за протокола на проследяване и преценката на нуждата от адювантна терапия.

4. Резултати от постоперативните прогностични модели

- Риск от рецидив на заболяването след РП според постоперативната номограма на Катан – тя включва преоперативното ниво на ПСА, pГлисън, pT, pN, R и отчита времето минало след оперативното лечение. При 41 пациента (51,9 %) рискът от прогресия на заболяването е под 15 %, при 18 (22,8 %) е между 15 и 30 %, а при 20 пациента (25,3 %) е над 30 %.

- Група на риска по D`Amico (пост-оперативни) – оценката се извършва на базата на pГлисън, pT и pN – в нашата група пациенти като такива с нисък риск са оценени 38 (48,1 %), междинен риск се наблюдава при 5 пациенти (6,3%), докато 36 пациента (45,6%) са с висок риск от прогресия на заболяването.

▪ Корелация между различните постоперативни параметри и мултивариабилен анализ

- Корелация между преоперативните рискови категории по D`Amico и наличието на засягане на лимфни възли – взаимовръзката между тези 2 параметъра е показана на табл 21

			pN		Общо
			N0	N1	
риск по	нисък риск	Брой	8	0	8

D`Amico пре-оп		%	100%	0%	100%
	междинен риск	Брой	20	4	24
		%	83%	17%	100%
	висок риск	Брой	31	16	47
		%	66%	34%	100%
	Общо	Брой	59	20	79
%		75%	25%	100%	

Табл. 21 Корелация между преоперативния риск по D`Amico и pN

От таблицата е видно че при нисък и междинен риск по D`Amico наличието на засягането на лимфни възли е рядко (съответно 0 и 17 %), докато при пациентите с висок риск засягането вече е 34 %.

- Корелация между преоперативния риск от засягане на лимфни възли и реално наблюдаваното им засягане при РП – взаимовръзката между тези два параметъра е показана на табл. 22

			pN		общо
			pN0	pN1	
преоперативен риск от засягане на ЛВ	0 – 10%	Брой	37	9	46
		%	80%	20%	100%
	10 – 20%	Брой	13	3	16
		%	81%	19%	100%
	> 20%	Брой	9	8	17
		%	53%	47%	100%
Общо	Брой	59	20	79	
	%	75%	25%	100%	

Табл. 22 Корелация между преоперативния риск от засягане на ЛВ и pN

Наблюдава се значително припокриване на резултатите в групите с под 10 % риск от ЛВ засягане (20 % pN1) и тези с риск 10-20 % (19 % pN1), докато при риск от засягане на ЛВ над 20 % реално наблюдаваната

честота на pN1 при РП е цели 47 %. Според нас пациентите с риск от ЛВ засягане над 20 % следва да бъдат изключително внимателно преценени при избора на оптимален терапевтичен подход.

- Корелация между процента на засягане на биопсичните късчета и pN наблюдаваното разпределение на тези два параметъра е представено на таблица 23

			% засягане на биопсичните късчета			общо
			до 50 %	50-75 %	над 75 %	
pN	N0	Брой	44	12	3	59
		%	86%	55%	50%	75%
	N1	Брой	7	10	3	20
		%	14%	45%	50%	25%
Общо		Брой	51	22	6	79

Табл. 23 Корелация между % засягане на биопсичните късчета и pN

Анализът показва че при наличие на под 50 % засягане на тъканта на биопсичните късчета pN1 се наблюдава в 14 % от пациентите, докато при наличие на над 50 % засягане засягане на ЛВ се открива в над 45 % от пациентите. Този параметър не се включва в нито един от другите масово използвани прогностични модели и според нас може да се използва като независим прогностичен фактор ($p=0,035$)

- Корелация между наличието на огнища на Глисън 5 и pN – взаимовръзката между третичната оценка по Глисън и наличието на засягане на лимфни възли при РП е представена на таблица 24

			наличие на Глисън 5		Общо
			липсва	налице	
pN	n0	Брой	50	9	59
		%	84,75%	15,25%	100,00%

	n1	Брой	12	8	20
		%	60,00%	40,00%	100,00%
Общо		Брой	62	17	79
		%	78,48%	21,52%	100,00%

Табл. 24 Корелация между наличие на огнища на Глисън 5 и pN

От таблицата е видно че при липса на огнища на Глисън 5 засягане на лимфни възли се наблюдава в 15, 25 % от пациентите, докато при наличие на Глисън 5 този процент е вече 40 % ($p=0,001$). Третичната оценка по Глисън не влиза в никой от масово използваните инструменти за оценка на риска. В нашата група пациенти тя е независим прогностичен параметър за наличието на pN1.

- Корелация между наличието на периневрална инвазия при биопсията и pN – представена е на табл. 25

			периневрална инвазия		Общо
			липсва	налице	
pN	N0	Брой	38	21	59
		%	64%	36%	100%
	N1	Брой	9	11	20
		%	45%	55%	100%
Общо		Брой	47	32	79
		%	59%	41%	100%

Табл. 25 Корелация между наличие на периневрална инвазия и pN

От таблицата е видно че наличието на ПНИ има подобни стойности в групите пациенти със и без лимфно засягане при РП ($p=0,130$). В нашата група пациенти наличието на ПНИ не показва дескриминативна сила като прогностичен параметър за pN.

- Корелация между наличието на периневрална инвазия при биопсията и pT – представена е на табл. 26

			периневрална инвазия		Общо
			липсва	налице	
pT	T1a-T2a	Брой	19	0	19
		%	100%	0%	100%
	T2в-T2с	Брой	19	7	26
		%	73%	27%	100%
	T3а	Брой	5	8	13
		%	38%	62%	100%
	T3в - T4	Брой	4	17	21
		%	19%	81%	100%
Общо		Брой	47	32	79
		%	59%	41%	100%

Табл. 26 Корелация между наличие на периневрална инвазия и pT

За разлика от слабата си способност да прогнозира статуса на лимфните възли, ПНИ се оказва статистически значимо свързан с pT ($p=0,001$). При стадии T1-T2a липсват случаи на наличие на ПНИ в простатната биопсия, докато при T3а и при T3в-T4 ПНИ се наблюдава съответно в 62 % и 81 % от случаите. Това показва че наличието на ПНИ е независим рисков фактор за наличието на локално авансирал простатен карцином по отношение на T-оценката.

III. Резултати от проучвания върху онкогенетиката на простатния аденокарцином

Проучванията върху простатния карцином бяха извършени по дизайн проспективно асоциативно проучване с контролна група здрави доброволци. Те включват група от пациенти с доказан простатен карцином (214 пациента, средна възраст 67.65 години(38-86 години)) и контролна група от пациенти с ДПХ и здрави мъже над 50 години(161 пациента, средна възраст 67.65 години(50-91години), от които са взети проби за генетичен анализ – кръв, урина, биопсична тъкан. Тези

изследвания са извършени в тясна колаборация с Центъра по Молекулярна медицина – МУ - София.

Научните дирения са насочени в две насоки – участие в пан-европейски проекта за целогеномно проучване на карцинома на простата (PRACTICAL consortium) и проучвания върху промени в гени на андрогенната синтезна система свързани с простатния карцином. Понастоящем проекта PRACTICAL е довел до откриването на 23 генетични локуса който определят над 30 % от реалният риск за развитие на простатен аденокарцином, както и очертава ясна тенденция за диференцирането на агресивните клинично значими карциноми, които биха имали максимална полза от агресивно и ранно лечение. Репликационно проучване на тези SNP маркери, открити чрез GWAS, свързани с предразположение към рак на простатата, включва районите 8q24, 17q и локуси върху хромозомите 2, 3, 6, 7, 10, 11, 19 и X. Тези мононуклеотидни полиморфизми са наблюдават и в нашата популация и за в бъдеще ще представляват основата на SNP-чипове, които ще определят риска от развитието на заболяване с потенциално метастатичен фенотип при всеки индивидуален пациент и евентуално ще станат бъдеща база за взимане на терапевтичните решения. Резултати от това целогеномно проучване са представени в Приложение 2.

Другата насока на проучванията ни в областта на онкогенетиката е насочена към установяване на възможна корелация между полиморфизми в гените, кодиращи метаболизиращите ензими в андрогенната каскада (*CYP1B1*, *CYP19* и *SRD5A2*) и предразположението към хормон-зависим карцином на простатата посредством асоциативно проучване между болни и здрави контроли. Проучването върху гените свързани с андрогенния метаболизъм бе извършено при 132 пациенти с простатен карцином и 112 контроли с хистологично доказан ДПХ, и ПСА под 4 нг/мл.

Полиморфизмите D449D и L432V в гена *CYP1B1* са свързани с приблизително двукратно повишаване риска от простатен карцином в Българската популация(особено при генотип C/C).

Genotype/ allele	Patients n (frequency)	Controls n (frequency)	OR (95% CI)	p
C/C	66 (50%)	39 (35.05%)	1.852 (1.06-3.23)	0.020
T/C	50 (37.72%)	58 (51.55%)	0.569 (0.33-0.99)	0.030
T/T	14 (12.28%)	15 (13.40%)	0.905 (0.4-2.03)	0.484
C	68.86%	60.82%	1.424 (0.95-2.13)	0.052
T	31.14%	39.18%	0.702 (0.47-1.05)	0.052

Табл. 27 - Статистически анализ на асоциацията на полиморфизма D449D с карцином на простата

Genotype/ allele	Patients n (frequency)	Controls n (frequency)	OR (95% CI)	p
G/G	15(11.4%)	14 (12.37%)	0.912 (0.39-2.1)	0.497
G/C	51 (38.6%)	57 (50.52%)	0.616 (0.36-1.07)	0.055
C/C	66 (50%)	41(37.11%)	1.96 (0.98-2.94)	0.041
G	30.7%	37.63%	0.734 (0.49-1.1)	0.082
C	69.3%	62.37%	1.362 (0.91-2.04)	0.082

Табл 28. Статистически анализ на асоциацията на полиморфизма L432V с карцином на простата

При генетичния анализ на гена *SRD5A2* не бяха открити асоциации с простатния карцином. Данните за българската популация дават данни за значителна асоциация на полиморфизми в региона 8q24, както и на хромозома 11, които тепърва ще бъдат интерпретирани в рамките на пан-европейско цело-геномно проучване на рака на простатната жлеза. При проучването на промоторното хиперметиране на *HIST1H4K* и *RASSF2* не успяхме да открием статистически значима разлика в степента на риска.

Обсъждане

Ракът на простатата е най-често диагностицирания рак сред мъжете в Европа, като честотата му нараства. Въпреки, че това се дължи отчасти на застаряващото население, повишаването на процента на рака на простатата е свързано и с нарасналия скрининг за откриване на заболяването. Преобладаващо заболяване сред по-възрастните мъже, ракът на простатата има дълъг латентен период и спектър на проявления, обхващащи от бавно-нарастващи безболезнени тумори през междинна фаза на простатна вътре-епителна неоплазия (PIN) до агресивно заболяване с метастази. Метастатичното разпространение и генерализиране на заболяването е основната причина за смъртност, свързана с простатния аденокарцином. На настоящия етап заболяването в тази фаза е нелечимо, с 5-годишна преживяемост около 25 %, 10 % загиват в първите 10 месеца след установяване на метастази, а други 10 % преживяват над 10 години. Тази значителна хетерогенност говори за големите различия в биологичния прогрес на рака на простатната жлеза, фактор който на настоящия етап не може да бъде екзактно преценен.

Една от основните задачи на настоящата работа е да проучи настоящите и бъдещите тенденции в скрининга и ранната диагностика на простатния карцином. Това проучване бе извършено върху 425 мъже насочени за извършване на простатна биопсия в нашата институция, от които при 277 се диагностицира простатен карцином.

Честота на фамилните случаи на простатен карцином (при мъже под 55 години и с 2 и повече засегнати роднини от първа линия) е 5-10 % (Carter BS et al. 1992), докато наблюдаваната от нас честота е 3,6 %. Не е ясна причината за тази ниска честота за фамилна анамнеза в нашата група пациенти. Вероятно това се дължи на скорошното въвеждане на масовия ПСА скрининг и разширяването на показанията за извършване на биопсия на простатата.

Симптоматиката при простатния карцином е изключително неспецифична, състояща се от конституционални симптоми, наблюдавани в късните напреднали стадии на заболяването или симптоми от страна на долните пикочния пътища, припокриващи се с тези наблюдавани при ДПХ, заболявания на мехурната шийка, стриктури на уретрата, ОАВ, простатити и много други урологични бенигнени заболявания. Това се потвърждава и в нашите резултати в които наличието на СДПП е силно неспецифичен признак и не корелира с наличието на карцином ($p=0,241$). Това потвърждава че карцинома на простатата протича субклинично в продължение на дълъг период. СДПП също така много често са основната причина поради която пациента търси лекарска помощ и така попада в обсега на опортюнистичния скрининг за аденокарцином на простата.

От анамнезата и физикалното изследване единствено дигиталното ректално изследване на простатата има важно значение при ранната диагностика на простатния карцином. Абнормното се дефинира като асиметрия, възел или фиксирана неравна маса в областта на простатната жлеза. Над 50 % от абнормните ДРИ са резултат на простатен карцином,

като диференциалната диагноза се прави с ДПХ, простатолити, хроничен простатит, промени след радиотерапия. Фактът че абнормно ДРИ в комбинация с ниско PSA носи 30 % шанс за наличието на простатен карцином, изключва въпроса за изоставяне на дигиталното изследване на простатата в близко бъдеще. Значението на позитивното ДРИ като показание за биопсия при нисък ПСА се доказва недвусмислено и в нашата група пациенти – в 44,4 % от тези случаи се открива наличието на карцином.

Аденокарциноми със сбор по Глисън 2-6 се считат за добре диференцирани, 7 умерено диференцирани, и 8-10 – нискодиференцирани аденокарциноми. В световната практиката 75 % от случаите на простатен карцином имат сбор по Глисън 5,6 или 7; 10 % 2-4, и за щастие само 15 % - 8-10. Подобно е разпределението и при нашата група пациенти насочени за РП – Глисън 2-4 се наблюдава в 12,4 % от пациентите, Глисън 5-7 при 63,3 % от случаите и Глисън 8-10 при 24,4 %. За съжаление честотата на сбор по Глисън 8-10 е значително по-висока в популацията насочена за простатна биопсия – 43,3 % което показва че има още значително място за развитие в ранната диагностика на проблема в нашата страна.

Оценката по Глисън има добра възпроизводимост между различни патолози, но в 30-40 % от случаите оценката по Глисън при материала от радикална простатектомия и по-висока от тази при тру-кут биопсията. В нашата кохорта пациенти нарастване на сбора по Глисън в материала от РП в сравнение с предходната простатна биопсия се наблюдава в 35,6 %.

Няма обаче универсална общоприета дефиниция какво представлява клинично-значимото заболяване. Разглежда се простатната вътре-епителна неоплазия (PIN) , която може да бъде свързана с рака на простатата. В идеалния случай агресивните тумори трябва да бъдат установени и лекувани рано, като се избягва свръх лечението на клинично

незначимото заболяване. При някои видове рак биомаркерите могат да улеснят ранната диагностика преди началото на клиничните симптоми и да спомогнат при прогнозата на оптималното лечение за дадения пациент.

Простатно специфичният антиген (PSA) понастоящем е единственият широко използван биомаркер за рак на простатата. PSA спомага за по-ранното откриване на заболяването; той обаче има своите ограничения. Съществува значителна неяснота около използването на PSA като рутинен скринингов метод. Основен проблем при неговото използване е факта че PSA е орган-специфичен маркер, но не е карцином-специфичен, като промените в серумното ниво на PSA не винаги са свързани с простатен аденокарцином, по-често те са следствие на възпаление, травма и развитието на ДПХ (Cooperberg MR et al 2004, Crawford ED et al 1992). Освен това съществува значително припокриване на серумните нива на PSA при мъже с простатен карцином и ДПХ, като данните от множество скорешни проучвания показват значителна честота на простатен аденокарцином при мъже с „нормална” PSA ($< 4.0 \text{ ng/mL}$). Това се наблюдава и в нашите резултати – докато корелацията на ниво на ПСА над 20 ng/mL с наличието на карцином е много силна ($p < 0,001$), то тази корелация в „сивата зона” (ПСА $< 10 \text{ ng/mL}$) е значително по-слабо изразена ($p = 0,356$). Прави впечатление значително високия процент пациенти със силно завишен ПСА (над 20 ng/mL) – 165 пациента (38,8 %). Това показва още веднъж че има нужда от подобряване на обществената информираност и извършването на ранна диагностика на карцинома на простата. Няма универсално приета горна граница на нормалното ниво на PSA като нарастващите нива отразяват една тенденция на повишаване на риска от наличие на рак на простатата. Поради тази причина в последните години се използва ESRPC калкулатора който се базира на плазмените нива на ПСА но информацията добивана от него е по-лесно разбираема и достъпна за

пациента. Този калкулатор представя нивата на ПСА като една количествена променлива с непрестанна степен на нарастване на риска, което е значително по-близо до реалната биологична характеристика на ПСА. В нашата кохорта пациенти корелацията на резултатите от ESRPC-калкулатора и плазмените нива на ПСА е почти абсолютна, като те имат общи предимства и недостатъци.

За подобряване на специфичността и сензитивността на ПСА се използват няколко различни методики. Една от най-често прилаганите е коригирането на ПСА спрямо обема на простатната жлеза – плътност на ПСА (PSAD). Недостатъци на подхода са нуждата от извършване на трансректална ехография на простатата, което ограничава неговата приложимост като универсално достъпен скринингов метод. Друг негов недостиг е субективността при определянето на обема на простата от различните оператори. В нашата група пациенти при използване на гранична стойност на PSAD > 12 нг/мл на мл простатна тъкан неговата сензитивност е малко по-висока от тази на тПСА – 81 % спрямо 77 %, без обаче да се достига статистическа значимост и явно преимущество на тази модификация на ПСА-скрининга. Друг подход за подобряване на сензитивността и специфичността на ПСА е използването на неговите изоформи. В нашата група пациенти ние използвахме съотношението фПСА/тПСА (%фПСА). В световната литература използването на гранична стойност за %fPSA над 25% осигурява 95% сензитивност, 20% по-малко ненужни биопсии и само 5% пропуснати карциноми. Вариациите в граничната стойност на съотношението свободна/тотална PSA води до значително различаващи се резултати (Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. 1998; Catalona WJ, Partin AW, Finlay JA, et al. 1999; Catalona WJ, et al. 2000; Lee CT, Scardino PT. 2001 Stenman UH, et al. 1991- Woodrum DL, et al. 1998). Приложението на съотношението свободна /тотална PSA е най-ефективно при пациенти със стойности на PSA 4.0-10.0 ng/mL, при мъже с

предхождаща негативна биопсия, и мъже с обем на простатната жлеза < 40 cc³, които са три от най-важните и често срещани клинични ситуации (Catalona WJ, et al. 1998, Djavan B 2000; Haese A et al 1997; Stephan C, et al 1997 Partin AW et al. 1996). В нашето проучване изследването на %фПСА дава разочароващи резултати които не корелират на тези в наличната научна литература. Налице са както много фалшиво-позитивни резултати водещи до ненужни биопсии, така и фалшиво отрицателни резултати в 33,3 % от пациентите с %фПСА над 20 %, което би довело до пропускане на 5 случая на простатен карцином ако то се използва като единствен маркер. Най-вероятната причина за тези резултати е че в нашето проучване %фПСА не е използван във всички случаи след негативна първоначална биопсия, както в повечето големи проучвания по този проблем, а е използван с цел избягване на извършването на биопсия на простата при тПСА 4-10 нг/мл. Друг проблем който вероятно влошава характеристиките на този метод е използването на %фПСА без съобразяване с обема на жлезата. За в бъдеще ние препоръчваме %фПСА да бъде използван само след негативна първоначална биопсия и особено при малки по обем жлези.

Скринингът основан на PSA не е показал убедително, че намалява смъртността от рак на простатата. Следователно налице е значителен интерес към установяването на алтернативни биомаркери за рак на простата, които могат да прогнозират етапа на болестта, прогресирането ѝ и риска от фатален изход.

В обобщение, PSA скринингът не отговаря на всички предлагани критерии за високо специфичен биомаркер за рак на простатата, който води до смърт. Понастоящем са налични няколко нови възможни биомаркери, които отговарят на повечето от тези критерии, въпреки че все още не са навлезли в широка употреба. Някои от тези биомаркери за рак на простатата от „ново поколение” вероятно ще доведат до значителни

промени в разбирането ни за рака на простатата в следващите няколко години.

В нашето проучване значително внимание отделихме на проучването на прогностичните модели базирани на ПСА и различните характеристики на простатната биопсия и хистологичния материал от РП, както и корелацията между тези параметри.

Трансректална простатна биопсия бе извършена при 425 мъже от които 277 с карцином на простата. Този брой пациенти дава достатъчна статистическа сила на проучването. Честотата на наличие на карцином в нашата група пациенти подложени на простатна биопсия е 65,2 % - стойност значително надвишаваща цитираната в литературата от 30 % позитивни биопсии при скрининг на пациенти със стойност на тПСА 4-10 нг/мл и негативно ДРИ (Catalona WJet al. 1993;. Catalona WJ, , et al.. 1991;Brawer МК, et al.. 1993;. Brawer МК, , et al. 1992;Smith DS, Catalona WJ, Herschman JD.. 1996;Brawer МК et al.. 1999). Това налага да се направи оценка на нуждата от все по-ранен и широк скрининг. Това по-късно откриване на заболяването при по-високи стойности на ПСА корелира и с по-високия сбор по Глисън при нашите пациенти (43,3 % имат сбор по Глисън 8-10), което директно носи по-лоша прогноза и по-нисък шанс от дефинитивно излекуване. Подобен показател за откриване на простатния карцином в по-късен стадий при нашата популация е високия процент пациенти с позитивно ДРИ (51,8 %). Позитивното ДРИ определя сТ и оттам значително повишава риска от прогресия на заболяването и неуспех от лечението.

Една изключително важна според нас оценка, споменавана за първи път в българската литература доколкото е известно на автора, е третичната оценка по Глисън (наличие на фокуси на Глисън 5). Наличието на огнища на Глисън 5, независимо от обема им (Epstein JI et al 2005, Billis A et al. 2008), е независим неблагоприятен прогностичен признак. В нашата група

пациенти огнища на Глисън 5 се наблюдават в 138 пациента (49,9 %) и корелира както с плазменото ниво на тПСА ($p=0,005$), така и с вероятността от промяна на стадия в по-висока рискова група след РП ($p<0,001$), рN ($p=0,003$), статуса на резекционните линии ($p=0,002$). Две други допълнителни оценки на простатната биопсия са % засегнати късчета и % на засягане на биопсичните късчета. % засегнати късчета индиректно корелира с сТ и с обема на неопластичния процес. В нашата кохорта пациенти над 75 % засегнати късчета се наблюдават при 138 пациента (50 %). Този параметър дава възможност за преценка на мултифокалността на процеса.

% засягане на биопсичните късчета дава индиректна преценка за големината на огнищата на туморния процес. Колкото по-голяма част от биопсичния материал е обхваната от неопластични клетки толкова по-голям е диаметърът на огнището на карцином. В нашата група пациенти засягане на над 50 % от биопсичната тъкан има при 56,5 % от пациентите.

Друга характеристика на биопсичната тъкан която дава информация за биологичната агресивност на тумора е наличието на ПНИ в нея. Перинеуралната инвазия корелира статистически значимо с рТ ($p=0,001$) и е прогностичен признак за вероятността за повишаване на стадия на заболяването (upstaging) при РП. ПНИ се наблюдава при 65,2 % от пациентите подложени на простатна биопсия. При наличието на ПНИ изключително важно значение добива внимателната оценка на локалния статус на простата, най-вече с добилите популярност нови протоколи за ЯМР на простатната жлеза (Hoivels AM et al 2008, ; Heijmink SW et al. 2007).

Някои от основните претерапевтични прогностични модела които сме използвали в нашето проучване са рисковите категории по D'Amico (D'Amico AV 2002), таблиците на Partin (Makarov et al. 2007) и номограмите на Kattan (Kattan 1998). Стратификацията на риска по

D'Amico потвърждава че значителна част от пациентите в нашата институция като третичен реферативен център са с висок риск (69,1 %). Основния фактор водещ до повишаване на риска е плазменото ниво на ПСА. Таблиците на Партин са инструмент със значителна дискриминативна сила по отношение преоперативното прогнозиране на 3 важни параметъра при РП – риска от засягане на лимфните възли, риска от засягане на семенните мехурчета и риска от екстрапростатно разпространение. Всеки прогностичен модел който може да предложи точна преоперативна информация за статуса на лимфните възли е изключително ценен, тъй като наличието на лимфно засягане повлиява силно негативно онкологичната ефективност на РП. В нашата група пациенти 37,7 % от пациентите имат над 30 % риск от наличие на позитивни лимфни възли при РП. При наличие на толкова висок риск от лимфно засягане с пациента следва задълбочено да бъде обсъдена възможността от евентуална постоперативна лъчетерапия или преоценка на терапевтичното поведение в полза на лъчетерапията като метод на първи избор. Друг изключително важен прогностичен параметър е наличието или липсата на засягане на семенните мехурчета (pT3v), които са неблагоприятен прогностичен признак при РП и водят до ранен биохимичен и клиничен рецидив. Рискът от засягане на семенните мехурчета е между 30 и 50 % при 36,6% при пациентите подложени на простатна биопсия и е над 50 % при 16, 3%. При наличие на толкова повишен риск е редно задължителното извършване на ЯМР и евентуално насочена трансректална биопсия на семенните мехурчета.

Преоперативната номограма на Kattan дава информация какъв е риска от прогресия на заболяването ако то бъде оставено без дефинитивно лечение. Тази оценка придобива нов и важен смисъл в последните години в контекста на наскоро възникналата концепция за активно проследяване. При едва 46 пациента (13 %) рискът от прогресия е под 40 % и те биха

били евентуални кандидати за активно проследяване, докато при 194 пациента (64,4 %) риска е над 75 %.

Една от основните задачи на нашето проучване е да проучи корелацията на лесно изследвани параметри (тПСА, %фПСА, ДРИ и други) и клиничните параметри изследвани след по-инвазивни манипулации (простатна биопсия, РП). Един от основните въпроси които проучихме в нашата група пациенти е взаимовръзката между нивото на тПСА и наличието на карцином при простатна биопсия. Позитивната предиктивна стойност за наличие на карцином на простатата на тПСА > 10 нг/мл е 78,4 %, докато при стойности на тПСА 4-10 нг/мл тази стойност е едва 39,5%. Негативната предиктивна стойност на тПСА < 4 нг/мл е 55,6 % в нашето проучване, но следва да се има в предвид че това са пациенти с позитивно ДРИ, което е независим прогностичен фактор за наличие на простатен аденокарцином. Подобни са и резултатите от ESRPC- калкулатора - прогнозираният риск корелира в значителна степен с реалните резултати. Проблем наблюдаван и при тПСА е ниската негативна предиктивна стойност – при прогнозиран риск по ESRPC под 30 % реално наблюдаваната честота на карцином е 40 %. Наблюдава се и значително припокриване на резултатите при риск до 30 % и между 30 и 50 %. При високите стойности на риска дексриминативната сила на калкулатора е значително по-голяма.

Друг интересен въпрос е дали плазменото ниво на тПСА може да е предиктор на сбора по Глисън в простатната биопсия. В нашата група пациенти при стойности на тПСА над 10 нг/мл се наблюдава сбор по Глисън 8-10 в 50 % от случаите. При стойности на тПСА под 4 нг/мл сбора по Глисън е <= 6 в 100 % от случаите, а при стойности на PSA > 4 и <= 10 в сбора по Глисън е <= 6 в 61 % от случаите. Това още веднъж показва прогностичната стойност на тПСА по отношение биологичната

агресивност на заболяването. Подобна корелация се наблюдава и по отношение на наличието на огнища на Глисън 5.

На базата на цялата тази статистическа информация се опитахме да създадем мултивариабилен анализ на всички пребиопсични параметри (тПСА, %фПСА, ESRPC риск, ДРИ, наличие на СДПП, %фПСА) както и логистичен регресионен анализ на ESRPC-калкулатора. При мултивариабилен анализ на всички показатели при приетите в нашата институция протоколи се оказва че наличието на СДПП и %фПСА не оказват статистически значимо влияние. ESRPC рискът също не показва статистически значимо влияние когато в модела се вземе предвид нивото на тПСА, което е пряко следствие от това че ESRPC-калкулатора е математическа функция на тПСА. Нашият модел показва позитивна предиктивна стойност от 77,18 %, но проблем остава негативната предиктивна стойност от едва 57,29 %. Малко по-ниска е статистическата сила на логистичната регресия на изолирания фактор ESRPC-риск който показва позитивна предиктивна стойност 73,38 %, но също показва доста ниска негативна предиктивна стойност (50,18 %).

Друга основна задача на настоящето проучване е изследване и оценка на клиничния контингент подложен на РП в нашата институция, с особено внимание на пре- и постоперативните прогностичните методи. За тази цел проучихме 79 пациенти при които е извършена простатна биопсия и последваща РП в нашата институция, което дава достатъчна статистическа сила на проучването. Като пряко следствие от доста големия процент пациенти с напреднал стадий на заболяването едва 79 от 277 (28,5 %) пациенти с доказан простатен карцином за проучвания период са преценени като подходящи за дефинитивно лечение с РП. 4 пациенти са преценени като подходящи за протокол на активно наблюдение (1,4 %). Това са високомотивирани пациенти които са готови да приемат всичките

необходимите процедури и строгия контрол свързан с този подход, както и да приемат относителната несигурност която той носи със себе си, породена от непълното познаване на биологичната характеристика на простатния аденокарцином. Нито един от тези пациенти не е показал белези на прогресия до момента като средния период на проследяване е 14,3 месеца (6-26 месеца). Тези данни отговарят на публикуваните в световната литература (Klotz L. 2008). Това е една от групите пациенти които за в бъдеще ще имат най-голяма полза от новите биомаркери и прогностични модели, които могат да прогнозираят биологичната прогресия на карцинома на простатата със значителна точност. Протоколът за активно наблюдение в нашата институция е доста строг (Klotz L. 2008; Soloway MS et al. 2008) поради началните фази на прилагане на този терапевтичен метод и малкия опит с него. Нашите индикации за предлагане на опцията за активно наблюдение на пациента е сбор по Глисън ≤ 6 , тПСА < 10 нг/мл, сТ ≤ 2 при ДРИ и образна диагностика, < 3 позитивни биопсични късчета и под 20 % засягане на отделните късчета. Протоколът включва изследване на тПСА и ДРИ на 3 месеца и повторни биопсии ежегодно, като при данни за прогресия се преминава към дефинитивно лечение. Друга група пациенти 8 (2,8 %) със значителна сърдечно-съдова коморбидност и ограничен по обем високодиференциран карцином са обект на изчаквателно поведение (watchful waiting). Това са предимно пациенти със случайно открит при ТУР-П простатен карцином (T1a и T1b). За съжаление една значителна част от нашите пациенти бива диагностицирана в напреднал стадий на заболяването (локално-авансирал или с далечни метастази) и биват насочени за хормонотерапия.

Групата пациенти насочени за извършване на РП е значително селектирана спрямо общата група пациенти с позитивна простатна биопсия. Средната преоперативна стойност на тПСА, сбора от Глисън от биопсията, сТ са значително по-ниски. Подобна тенденция се наблюдава и

по отношение на % позитивни късчета и % засягане на биопсичните късчета, както и по отношение наличието на Глисън 5. Липсват пациенти със съмнение за далечни метастази или убедителни данни за обширно лимфно засягане. Всички тези различия неизменно водят до по-ниска степен на риска в различните прогностични модели. Рисквата група по D`Amico показва статистически значима прогностична стойност по отношение статуса на лимфните възли и вероятността от upstaging. Преоперативната оценка за риска от лимфно засягане според таблиците на Партин показва разминаване с реално наблюдаваните резултати – прогнозирания риск е общо 11,3 % за цялата група, докато засягане на лимфните възли се наблюдава в 20,3 % от хистологичните материали при РП. Значително по-добър прогностичен параметър за pN се оказват сбора по Глисън при биопсията($p=0,004$), % засягане на биопсичните късчета($p=0,035$), наличието на огнища на Глисън 5($p=0,001$). Значително по-добро съвпадение с реално наблюдаваните резултати дава оценката на риска за засягане на семенните мехурчета според същите таблици (15,84 % прогнозиран риск и 20,3 % реално засягане на СМ). Точно тази висока честота на засягане на семенните мехурчета е един от сериозните проблеми в нашата група пациенти и един от основните фактори които водят до повишаване риска от прогресия след РП. В последните месеци в стандартния ни протокол за стадиране на простатния карцином основно място заема ЯМР който показва предимства спрямо КАТ по отношение оценката на засягането на СМ. Друга предложена мярка е насочена трансректална биопсия на семенните мехурчета като част от биопсичния протокол при пациенти с тПСА > 20 нг/мл. Другият основен проблем при извършването на РП е тенденцията за повишаване на оценката по Глисън спрямо биопсията (Kvåle R et al 2009). Такова нарастване на сбора по Глисън в материала от РП се наблюдава в 53,2 % от нашите пациенти, а

при 25,3% се наблюдава и промяна на категорията (Глисън 2-6; Глисън 7 и Глисън 8-10).

В последните години след няколко големи проучвания (Yossepowitch O et al 2007; Van Poppel H, Joniau S. 2008) значението на позитивните резекционни линии като негативен прогностичен признак след РП се ревизира, и на тях вече не се отдава такова значение. В нашето проучване наличието на позитивни хирургични ръбове (17 пациента, 21,5 %) зависи статистически значимо от същите фактори които влияят и върху рТ стадия /обема на неопластичния процес – сбора по Глисън при биопсията, % засегнати късчета, % засягане на биопсичните късчета, наличие на Глисън 5. Наличието на R1 е важно поради два факта. Основно е неяснотата от нуждата от адювантна терапия при наличие на позитивни резекционни линии. То следва да се има в предвид при постоперативното проследяване на тПСА, тъй като често не се достигат много ниските стойности характерни след РП и това затруднява дефинирането на биохимичен рецидив (динамиката на ПСА би могла да е по-полезна при този клиничен сценарий).

Всички тези негативни параметри на хистологичния резултат след РП (рТ, рГлисън, R и рN) водят до нарастване на рисковата група в 44,3 % от пациентите, докато запазване на нивото на риска поEAU се наблюдава в 55,7 %. Когато този риск бъде представен не като рискови категории а според постоперативната номограма на Катан (включваща преоперативното ниво на ПСА, рГлисън, рТ, рN, R и отчитаща времето минало след оперативното лечение) една четвърт от пациентите (25,3 %) имат над 30 % риск от рецидив. Подобна е и оценката според постоперативните рискови групи на D'Amico – 45,6 % от пациентите са преценени като високорискови.

Изключително интересни от практическа гледна точка са корелациите между преоперативните прогностични параметри и реално

наблюдавания хистологичен резултат при РП. Едни от най-лесно приложими в ежедневната клинична практика са преоперативните рискови групи по D'Amico. При изследване на тяхната взаимовръзка с негативните прогностични параметри при РП се оказва че преоперативната степен на риска е статистически значимо свързана с наличието на лимфно засягане. Докато при нисък и междинен риск засягане на лимфните възли се наблюдава в минимален брой пациенти (съответно 0% и 17 %) то при висок риск наблюдаваната честота на позитивни ЛВ е вече 34 %. Когато за оценка на риска от рN1 се използват таблиците на Партин се наблюдава слаба дискриминативна способност при пациенти с нисък риск (под 10 % и между 10 и 20 %). При риск от засягане на лимфните възли надвишаващ 20 % обаче реално наблюдаваната честота на лимфно засягане е цели 47 %. Това налага тези болни да бъдат преценени изключително внимателно доколкото са подходящи за РП и да бъде обсъдена с тях значителната вероятност от провеждането на мултимодално лечение. Други два прогностични фактора по отношение на статуса на лимфните възли при РП са % засягане на биопсичните късчета и наличието на Глисън 5. Анализът показва че при наличие на под 50 % засягане на тъканта на биопсичните късчета рN1 се наблюдава в 14 % от пациентите, докато при наличие на над 50 % засягане засягане на ЛВ се открива в над 45 % от пациентите. Този параметър не се включва в нито един от другите масово използвани прогностични модели и според нас може да се използва като независим прогностичен фактор ($p=0,035$). Също толкова силна степен на статистически значима зависимост с наличието на позитивни лимфни възли показва наличието на огнища на Глисън 5. При липса на огнища на Глисън 5 засягане на лимфни възли се наблюдава в 15, 25 % от пациентите, докато при наличие на Глисън 5 този процент е вече 40 % ($p=0,001$). Третичната оценка по Глисън не влиза в никой от масово

използваните инструменти за оценка на риска. В нашата група пациенти тя е независим прогностичен параметър за наличието на pN1.

Наличието на перинеурална инвазия не успява да достигне статистически значима корелация с pN1. ПНИ обаче е независим рисков фактор по отношение на pT оценката. Докато при малките по обем ограничени случаи на простатен карцином (T1a-T2a) не се наблюдава наличие на ПНИ, то при локално авансиралите тумори (T3в-T4) наличие на ПНИ се наблюдава при 81 % от пациентите.

ИЗВОДИ

1. Изводи касаещи скрининга и ранната диагностика на простатния аденокарцином.

1. Масовия скрининг за простатен карцином с настоящите методи и протоколи води до намаляване на смъртността, но на твърде висока цена – огромна хипердиагностика и свръхлечение, без възможност за радикално излекуване на агресивните неоплазми.
2. За предпочитане е опортюнистичния скрининг, който се инициира при всяко посещение на мъжете над 50 години при уролог – специалист който има необходимата компетентност и познания да прецени степента на риска от простатен карцином, и да спести излишна болестност свързана с ненужни диагностични и терапевтични процедури.
3. Значителна част от пациентите в нашата страна все още се диагностицират в локално-авансирал или метастатичен стадий на

заболяването, което показва че има още какво да се желае по отношение на всеобхватността на опортюнистичния скрининг и ранната диагностика

4. тПСА не дава добра дискриминативна способност по отношение наличието на карцином при стойности под 10 нг/мл, в която група най-често се срещат диагностичните затруднения. Неговата дискриминативна способност е значително по-висока при тПСА над 20 нг/мл.
5. тПСА обаче има силно изразена позитивна взаимовръзка с обема и агресивността на заболяването – налице е статистически значима корелация с сТ, наличието на Глисън 5, % засегнати късчета.
6. ESRPC-калкулаторът има определени предимства пред плазменото ниво на тПСА като скринингов метод – начина на представяне на информацията е значително по-разбираема и достъпна за пациента; той разглежда тПСА като количествена променлива, чието покачване води до непрестанно нарастване на риска от простатен карцином, което отговаря напълно на биологичната характеристика на ПСА.
7. % фПСА показва разочароващи резултати в нашата група пациенти. Вероятно за намаляване на големия процент фалшиво-негативни и фалшиво-позитивни резултати този тест следва да се използва само при предходна негативна първоначална биопсия, тПСА нива 4-10 нг/мл и оптимално при малки по обем простатни жлези.
8. Рутинното включване на наличието на огнища на Глисън 5, % позитивни късчета, % засягане на късчетата и наличието на ПНИ е изключително важно за прогнозиране агресивността на заболяването. Това е особено важно при обмисляне на активно наблюдение.

II. Изводи касаещи стадирането на процеса, преоперативните прогностични методи и корелацията с реално наблюдаваните при РП резултати

1. Групата пациенти насочени за извършване на РП е значително селектирана спрямо общата група пациенти с позитивна простатна биопсия. Средната преоперативна стойност на тПСА, сбора от Глисън от биопсията, сГ са значително по-ниски. Подобна тенденция се наблюдава и по отношение на % позитивни късчета и % засягане на биопсичните късчета, както и по отношение наличието на Глисън 5.
2. Преоперативното ниво на тПСА има силно изразена корелация с няколко много важни параметъра на хистологичния резултат при радикалната простатектомия – наличие на Глисън 5 в РП материала; наличието на засягане на лимфни възли, промяна на стадия на заболяването в по-висока рискова група; вероятността за локално-авансирал карцином (SEER-оценка). Всичко това показва че въпреки неговите слабости като диагностичен маркер, тПСА има значителен потенциал като прогностичен маркер, оказващ значителна помощ в избора на оптималната терапевтична схема
3. Преоперативната оценка за риска от лимфно засягане според таблиците на Партин показва разминаване с реално наблюдаваните резултати – прогнозирания риск е общо 11,3 % за цялата група, докато засягане на лимфните възли се наблюдава в 20,3 % от хистологичните материали при РП. Значително по-добър прогностичен параметър за pN се оказват сбора по Глисън при

биопсията($p=0,004$), % засягане на биопсичните късчета($p=0,035$), наличието на огнища на Глисън 5($p=0,001$).

4. Високата честота на засягане на семенните мехурчета е един от сериозните проблеми в нашата група пациенти и един от основните фактори които водят до повишаване риска от прогресия след РП.
 - В последните месеци в стандартния ни протокол за стадиране на простатния карцином основно място заема ЯМР който показва предимства спрямо КАТ по отношение оценката на засягането на СМ.
 - Друга предложена мярка е насочена трансректална биопсия на семенните мехурчета като част от биопсичния протокол при пациенти с тПСА > 20 нг/мл.
5. Друг основен проблем при извършването на РП е тенденцията за повишаване на оценката по Глисън спрямо биопсията.
6. ПНИ в простатната биопсия обаче е независим рисков фактор по отношение на рТ оценката

III. Изводи касаещи проучванията върху онкогенетиката на простатата.

1. Полиморфизмите D449D и L432V в гена *CYP1B1* са свързани с приблизително двукратно повишаване риска от простатен карцином в Българската популация(особено при генотип C/C).
2. Данните за българската популация дават данни за значителна асоциация на полиморфизми в региона 8q24, както и на хромозома 11
3. Обособени са няколко гена, чиято мутация или модифицирана експресия позволява прецизно прогнозиране на биологичния прогрес на малигнитета. Предполага се че някои от тези гени ще се

превърнат в бъдещ обект на молекулярно-генетични терапевтични интервенции и контролиране на потенциално метастатичния карцином на простатата

ПРИНОСИ

1. Създадена е информационна карта на пациента с простатен аденокарцином и база данни за тези пациенти, подложени на простатна биопсия и/или радикална простатектомия в нашата институция.

2. За първи път в нашата литература доколкото е известно на автора са използвани прогностични модели подпомагащи взимането на терапевтични решения – ESRPC-калкулатор на риска, номограми на Катан, таблици на Партин, рискови групи на D`Amico.

3. Рутинно включване в хистологичния резултат на простатната биопсия на параметрите: Глисън 5, % засегнати биопсични късчета, % засягане на биопсичната тъкан, наличие на периневрална инвазия. Всички тези вторични характеристики на простатната биопсия имат значителна клинична ефективност като прогностични фактори за неблагоприятен хистологичен резултат при РП.

4. Проведени са първите за нашата страна проучвания върху протокола на активно наблюдение.

5. За първи път в нашата страна са започнати проучвания върху онкогенетиката на простатния карцином, създаден е мултидисциплинарен екип, клинична база данни и биобанка от тъкани, кръв и урина.

Пореден № / г.; Лабораторен № / г.
 Име: ЕГН:
 Болнично заведение:
 ИЗ № / г.; Лекуващ лекар:
 Адрес: Телефон:

Приемна диагноза:
 Окончателна диагноза:
 Начин на поставяне на диагнозата: DRE PSA TRUS биопсия
 Лекар установил диагнозата: ОПЛ Уролог друг
 Провеждане на PSA-скрининг: да не Възраст:

Фамилна анамнеза – Ca gl prostate, Ca gl mammae, Ca ovarii,
 други. Евентуално родословно дърво

Кратки клинични данни:

Хистологична верификация: тип на биопсията, резултат, дата,
 лечебно заведение, име на лекаря.

Провеждано досега лечение: РП, андрогенна блокада,
 химиотерапия, ТУР-П, хирургична кастрация, други:

Rectal exam 2002 Clinical T stage: _____

Side	Level	Cancer (1-5)	ECE (1-5)
Left	SV		
Left	B		
Left	M		
Left	A		
Right	SV		
Right	B		
Right	M		
Right	A		

Prostate weight: _____ g
 Size of largest induration (length × width): _____ cm × _____ cm

Codes
 Cancer: 1. Definitely No Ca 2. Probably No Ca 3. Possible Ca 4. Probably Ca 5. Definitely Ca
 ECE: 1. Definitely No Ca 2. Probably No Ca 3. Possible Ca 4. Probably Ca 5. Definitely Ca
 A

© Current Medicine

DRE-данни/TRUS-данни

Данни за хормоно-резистентен аденокарцином: да не
 Ниво на тестостерона: / г.

Приложение 1 Информационна карта на пациента с простатен аденокарцином

Настоящо лечение:

Вид изпратена биологична проба: / г.
Венозна кръв/Урина/биопсична тъкан/лимфни възли
Взета от:

Стойности на PSA:
при диагностицирането:
при започването на терапията:
проследяване в динамика:

Молекулно генетични данни:

Клиничен TNM стадий, данни от образни изследвания:

Патоанатомични данни: биопсия № / г.
Хистологична диагноза:

Gleason score: Регионерни лимфни възли:

Степен на диференциация:

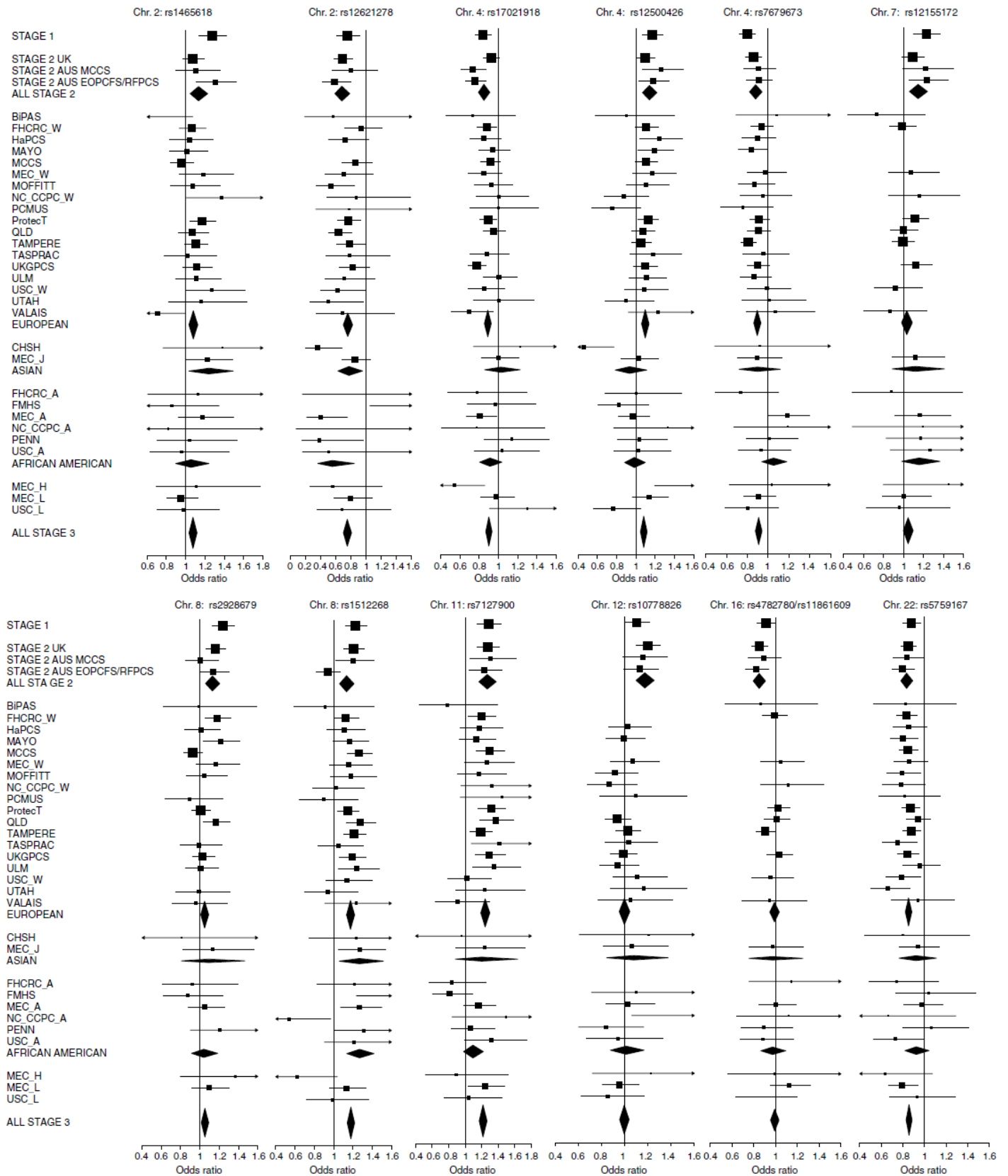
Имунохистохимия:

Данни за инвазия на капсулата и семенните мехурчета: да не

Данни за периневрална инвазия:

Патологоанатомично TNM стадиране:

Приложение 2 Локуси свързани с повишен риск от развитие на простатен карцином



Библиография

1. Генадиев Цв., Бончева М., Петров П., Съотношение свободен-тотален ПСА в диагностиката на простатния карцином, Урология 2006, 12, 4, 118-121
2. Куманов Хр., Цветков, М., и сътр – Трансректална ултразвукова диагностика на заболяванията на простатната жлеза – Хирургия, 1984, 5, 380-384
3. Младенов Д., Цветков М., Куманов Хр. – Диагноза, биопсия и контрол на лечението чрез ултразвук при болни с карцином на простатната жлеза- Хирургия 1994, 5, 15-17
4. Младенов Д., Цветков М., Топов Я., Куманов Хр – Сравнителна оценка между трансректална ехография, венозна урография, КАТ и морфология при болни с карцином на простатната жлеза – Хирургия, 1994, 5, 20-21
5. Салтиров И., Петков Ц., Петкова К. - Трансректална биопсия на простата под ехографски контрол в диагностиката на простатния карцином – Урология, 3/2010, 66-72
6. Смилов, Н., Александров Е., Лозев П. - Диагностична роля на простатната сатурационна биопсия при пациенти с негативна поредна трансректална простатна биопсия - Урология 1/2010, 8-12
7. Младенов Д. – ПСА – прогностичен и диагностичен критерий при заболявания на простатната жлеза – Форум Медикус 2008, 47, 4
8. Цветков М., Младенов Д., Куманов Хр. – Естествено биологично развитие на карцинома на простатната жлеза – Урология, 1996, 2, 4, 128-132
9. Младенов, Д., Цветков, М., Куманов Хр., - Плътност на простато-специфичния антиген (ППСА) при заболявания на простатната жлеза – Урология 1997, 3, 4, 118-123
10. Смилов Н., Александров Е. – Усложнения след трансректална пункционна биопсия на простатата под ехографски контрол – Урология 3/2007 77-83
11. Орманов Д., Димитров П., Георгиев М., Панчев П. – Трансректална пункционна биопсия на простатната жлеза като метод за предсказване на позитивни лимфни възли при болни с карцином на простатата – Уронет 3/2007, 12-14
12. Ганев Т., Петкова Л. - Андрогенна депривация и хипотези за андрогенна независимост при карцинома на простатната жлеза – Уронет 3/2007 19-23
13. Abdel-Wahab M, Reis IM, Hamilton K. Second primary cancer after radiotherapy for prostate cancer—a SEER analysis of brachytherapy versus external beam radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2008 Sep;71(1):58-68

14. Adam BL, Qu Y, Davis JW, et al. Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Res.* 2002;62:3609-3614. [Abstract](#)
15. Adolfsson J. Watchful waiting and active surveillance: the current position. *BJU Int* 2008 Jul;102(1): 10-4.
16. Akaza H, Hinotsu S, Usami M, et al; Study Group for the Combined Androgen Blockade Therapy of Prostate Cancer. Combined androgen blockade with bicalutamide for advanced prostate cancer: long-term follow-up of a phase 3, double-blind, randomized study for survival. *Cancer* 2009 Aug;115(15):3437-45.
17. Allard WJ, Zhou Z, Yeung KK. Novel immunoassay for the measurement of complexed prostate-specific antigen in serum. *Clin Chem.* 1998;44:1216-1223. [Abstract](#)
18. Amling CL, Bergstralh EJ, Blute ML, et al. Defining prostate specific antigen progression after radical prostatectomy: what is the most appropriate cut point? *J Urol.* 2001;165:1146-1151.
19. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL 3rd, et al; PLCO Project Team. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med* 2009 Mar 26;360(13):1310-9.
20. **Aubin SM**, Reid J, Sarno MJ, Blase A, Aussie J, Rittenhouse H, Rittmaster R, Andriole GL, **Groskopf J** PCA3 molecular urine test for predicting repeat prostate biopsy outcome in populations at risk: validation in the placebo arm of the dutasteride REDUCE trial. *J Urol.* 2010 Nov;184(5):1947-52.
21. **Aubin SM**, Reid J, Sarno MJ, Blase A, Aussie J, Rittenhouse H, **Rittmaster RS**, Andriole GL, Groskopf J. Prostate cancer gene 3 score predicts prostate biopsy outcome in men receiving dutasteride for prevention of prostate cancer: results from the REDUCE trial. *Urology.* 2011 Aug;78(2):380-5
22. Aus G. Current status of HIFU and cryotherapy in prostate cancer—a review. *Eur Urol* 2006 Nov;50(5): 927-34
23. Bazinet M, Meshref AW, Trudel C, et al. Prospective evaluation of prostate-specific antigen density and systematic biopsies for early detection of prostatic carcinoma. *Urology.* 1994;43:44-51;discussion 51-52.
24. Becker C, Piironen T, Pettersson K, et al. Clinical value of human glandular kallikrein 2 and free and total prostate-specific antigen in serum from a population of men with prostate-specific antigen levels 3.0 ng/mL or greater. *Urology.* 2000;55:694-699. [Abstract](#)

25. Becker C, Piironen T, Pettersson K, et al. Discrimination of men with prostate cancer from those with benign disease by measurements of human glandular kallikrein 2 (HK2) in serum. *J Urol*. 2000;163:311-316. [Abstract](#)
26. Beheshti M, Vali R, Langsteger W. [18F]Fluorocholine PET/CT in the assessment of bone metastases in prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007 Aug;34(8):1316-7
27. Bellmunt J, Rosenberg JE, Choueiri TK. Recent progress and pitfalls in testing novel agents in castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol* 2009 Oct;56(4):606-8.
28. Benson MC, Whang IS, Olsson CA, et al. The use of prostate specific antigen density to enhance the predictive value of intermediate levels of serum prostate specific antigen. *J Urol*. 1992;147:817-821.
29. Benson MC, Whang IS, Pantuck A, et al. Prostate specific antigen density: a means of distinguishing benign prostatic hypertrophy and prostate cancer. *J Urol*. 1992;147:815-816.
30. Bill-Axelsson A, Holmberg L, Filén F, et al; Scandinavian prostate cancer Group Study Number 4. Radical prostatectomy versus watchful waiting in localized prostate cancer: the Scandinavian prostate cancer group-4 randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(16):1144-54
31. Billis A, Guimaraes MS, Freitas LL, et al. The impact of the 2005 international society of urological pathology consensus conference on standard Gleason grading of prostatic carcinoma in needle biopsies. *J Urol* 2008;180(2):548-52; discussion 552-3
32. Billis A, Guimaraes MS, Freitas LL, et al. The impact of the 2005 international society of urological pathology consensus conference on standard Gleason grading of prostatic carcinoma in needle biopsies. *J Urol* 2008;180(2):548-52;
33. Blana A, Rogenhofer S, Ganzer R, et al. Eight years' experience with high-intensity focused ultrasonography for treatment of localized prostate cancer. *Urology* 2008 Dec;72(6):1329-33.
34. Bolla M, de Reijke TM, Van Tienhoven G, et al; EORTC Radiation Oncology Group and Genito-Urinary Tract Cancer Group. Duration of androgen suppression in the treatment of prostate cancer. *N Engl J Med*. 2009 Jun 11;360(24):2516-27
35. Börgermann C, Loertzer H, Hammerer P, et al. [Problems, objective, and substance of early detection of prostate cancer]. *Urologe A* 2010 Feb;49(2):181-9. [Article in German]
36. Bosland, M.C., 2000*The role of steroid hormones in prostate carcinogenesis*. *J Natl Cancer Inst Monogr*, (27): p. 39-66
37. Brawer MK, Aramburu EA, Chen GL, et al. The inability of prostate specific antigen index to enhance the predictive the value of prostate specific antigen in the diagnosis of prostatic carcinoma. *J Urol*. 1993;150:369-373. [Abstract](#)

38. Brawer MK, Beatie J, Wener MH, et al. Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen: results of the second year. *J Urol*. 1993;150:106-109.
39. Brawer MK, Benson MC, Bostwick DG, et al. Prostate-specific antigen and other serum markers: current concepts from the World Health Organization Second International Consultation on Prostate Cancer. *Semin Urol Oncol*. 1999;17:206-221.
40. Brawer MK, Cheli CD, Neaman IE, et al. Complexed prostate specific antigen provides significant enhancement of specificity compared with total prostate specific antigen for detecting prostate cancer. *J Urol*. 2000;163:1476-1480. [Abstract](#)
41. Brawer MK, Chetner MP, Beatie J, et al. Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen. *J Urol*. 1992;147:841-845.
42. Brawer MK, Meyer GE, Letran JL, et al. Measurement of complexed PSA improves specificity for early detection of prostate cancer. *Urology*. 1998;52:372-378. [Abstract](#)
43. Bretton PR. Prostate-specific antigen and digital rectal examination in screening for prostate cancer: a community-based study. *South Med J*. 1994;87:720-723.
44. Bubendorf L, Tpia C, Gasser T – Ki67 labeling index in core needle biopsies independently predicts tumor specific survival in prostate cancer – *Human Path*, 1998, 29, 949-954
45. Bunting PS, DeBoer G, Choo R, et al. Intraindividual variation of PSA, free PSA and complexed PSA in a cohort of patients with prostate cancer managed with watchful observation. *Clin Biochem*. 2002;35:471-475. [Abstract](#)
46. Cairns P, Esteller M, Herman JG et al, 2001 – Molecular detection of prostate cancer in urine by GSTP1 hypermethylation – *Clin Canc Res*, 7, 2727-2731
47. Carpenter WR, Robinson W, Godley PA. Getting over testosterone: postulating a fresh start for etiologic studies of prostate cancer. *JNCI* 2008;100:158–9.
48. Carroll P, Coley C, McLeod D, et al. Prostate-specific antigen best practice policy--part I: early detection and diagnosis of prostate cancer. *Urology*. 2001;57:217-224. [Abstract](#)
49. Carter BS, Beaty TH, Steinberg GD, et al. Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992 Apr;89(8):3367-71.
50. Carter HB, Kettermann AE, Ferrucci L, et al. Prostate specific antigen testing among the elderly; when to stop? *J Urol* 2008 Apr;174(2)(Suppl 1):600 abstract #1751.
51. Carter HB, Morrell CH, Pearson JD, et al. Estimation of prostatic growth using serial prostate-specific antigen measurements in men with and without prostate disease. *Cancer Res*. 1992;52:3323-3328. [Abstract](#)

52. Carter HB, Pearson JD, Waclawiw Z, et al. Prostate-specific antigen variability in men without prostate cancer: effect of sampling interval on prostate-specific antigen velocity. *Urology*. 1995;45:591-596. [Abstract](#)
53. Carter HB, Pearson JD. Prostate-specific antigen velocity and repeated measures of prostate-specific antigen. *Urol Clin North Am*. 1997;24:333-338. [Abstract](#)
54. Carter HB. A PSA threshold of 4.0 ng/mL for early detection of prostate cancer: the only rational approach for men 50 years old and older. *Urology*. 2000;55:796-799. [Abstract](#)
55. Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG, et al. Serum pro prostate specific antigen improves cancer detection compared to free and complexed prostate specific antigen in men with prostate specific antigen 2 to 4 ng/mL. *J Urol*. 2003;170:2181-2185. [Abstract](#)
56. Catalona WJ, Partin AW, Finlay JA, et al. Use of percentage of free prostate-specific antigen to identify men at high risk of prostate cancer when PSA levels are 2.51 to 4 ng/mL and digital rectal examination is not suspicious for prostate cancer: an alternative model. *Urology*. 1999;54:220-224. [Abstract](#)
57. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Percentage of free PSA in black versus white men for detection and staging of prostate cancer: a prospective multicenter clinical trial. *Urology*. 2000;55:372-376. [Abstract](#)
58. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA*. 1998;279:1542-1547. [Abstract](#)
59. Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB, et al. Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol*. 1994;152:2031-2036. [Abstract](#)
60. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK: Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. *JAMA*. 1997;277:1452-1425. [Abstract](#)
61. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *JAMA*. 1993;270:948-954.
62. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med*. 1991;324:1156-1161.
63. Chang, B.L., et al. 2003, *Polymorphisms in the CYP1B1 gene are associated with increased risk of prostate cancer*. *Br J Cancer*,. **89**(8): p. 1524-9).

64. Chang, B.L., et al., *Polymorphisms in the CYP1B1 gene are associated with increased risk of prostate cancer*. Br J Cancer, 2003. **89**(8): p. 1524-9
65. *CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies* 2004. Am J Hum Genet., **74**(6): p. 1175-82.)
66. Chi KN, Bjartell A, Dearnaley D, et al. Castration-resistant prostate cancer: from new pathophysiology to new treatment targets. Eur Urol. 2009 Oct;56(4):594-605
67. Committee, FDA. Prostate Cancer Trials Could Use Composite PSA/Bone Scan Endpoint. Available at: http://www.fdaadvisorycommittee.com/FDC/AdvisoryCommittee/Committees/Public+Meetings/062104_Prostate/0621-2204_ProstateR.htm Accessed November 15, 2005.
68. Consensus statement: guidelines for PSA following radiation therapy. American Society for Therapeutic Radiology and Oncology Consensus Panel. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1997;37:1035-1041. [Abstract](#)
69. Cooperberg MR, Lubeck DP, Meng MV, et al. 2004 The changing face of low-risk prostate cancer: trends in clinical presentation and primary management. J Clin Oncol.;22:2141-149
70. Cooperberg MR, Lubeck DP, Meng MV, et al. The changing face of low-risk prostate cancer: trends in clinical presentation and primary management. J Clin Oncol. 2004;22:2141-149.
71. Crawford ED, Schutz MJ, Clejan S, et al. The effect of digital rectal examination on prostate-specific antigen levels. JAMA. 1992;267:2227-2228.
72. Critz FA, Levinson AK, Williams WH, et al. Prostate specific antigen nadir achieved by men apparently cured of prostate cancer by radiotherapy. J Urol. 1999;161:1199-203; discussion 1203-1205.
73. Crocetto L, Korns D, Kretzner L et al, 2004 – Prostate cancer molecular markers GSTP1 and hTERT in expressed prostatic secretions as predictors of biopsy results – Urology, 64, 821-825
74. Cybulski, C., et al, 2004., *CHEK2 is a multiorgan cancer susceptibility gene*. Am J Hum Genet. **75**(6): p. 1131-5
75. D'Amico A, Renshaw AA, Loffredo M, et al. Androgen suppression and radiation vs radiation alone for prostate cancer; a randomized controlled trial. JAMA 2008 Jan;299(3):289-95.

76. Dalkin BL, Ahmann FR, Kopp JB. Prostate specific antigen levels in men older than 50 years without clinical evidence of prostatic carcinoma. *J Urol*. 1993;150:1837-1839. [Abstract](#)
77. D'Amico AV, Chen MH, Roehl KA, et al. Preoperative PSA velocity and the risk of death from prostate cancer after radical prostatectomy. *N Engl J Med*. 2004;351:125-135. [Abstract](#)
78. D'Amico AV, Cote K, Loffredo M, et al. Determinants of prostate cancer specific survival following radiation therapy during the prostate specific antigen era. *J Urol*. 2003;170:S42-S46; discussion S46-S47.
79. D'Amico AV, Cote K, Loffredo M, et al. Determinants of prostate cancer-specific survival after radiation therapy for patients with clinically localized prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20:4567-4573. [Abstract](#)
80. D'Amico AV, Moul J, Carroll PR, et al. Prostate specific antigen doubling time as a surrogate end point for prostate cancer specific mortality following radical prostatectomy or radiation therapy. *J Urol*. 2004;172:S42-S46; discussion S46-S47.
81. D'Amico AV, Moul JW, Carroll PR, et al. Surrogate end point for prostate cancer-specific mortality after radical prostatectomy or radiation therapy. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:1376-1383.
82. Darson MF, Pacelli A, Roche P, et al. Human glandular kallikrein 2 expression in prostate adenocarcinoma and lymph node metastases. *Urology*. 1999;53:939-944. [Abstract](#)
83. De Marzo AM, Meeker AK et al 2003– Human prostate cancer precursors and pathobiology – *Urology*, 62, Suppl. 5A,; 55-62
84. Deguchi T, Doi t, Ehara H et al:Detection of micrometastatic prostate cancer cells in lymph nodes by RT-PCR – *Cancer Res* 53, 5350-5354, 1993
85. **Demichelis** F, Fall K, Perner S, Andrén O, Schmidt F, Setlur SR, Hoshida Y, Mosquera JM, Pawitan Y, Lee C, Adami HO, Mucci LA, Kantoff PW, Andersson SO, Chinnaiyan AM, Johansson JE, Rubin MA.
86. Djavan B, Zlotta A, Kratzik C, et al. PSA, PSA density, PSA density of transition zone, free/total PSA ratio, and PSA velocity for early detection of prostate cancer in men with serum PSA 2.5 to 4.0 ng/mL. *Urology*. 1999;54:517-522. [Abstract](#)
87. Djavan B, Zlotta A, Remzi M, et al. Optimal predictors of prostate cancer on repeat prostate biopsy: a prospective study of 1,051 men. *J Urol*. 2000;163:1144-1148;discussion 1148-1149.
88. Dong, J.T. 2006, *Prevalent mutations in prostate cancer*. *J Cell Biochem*,. **97**(3): p. 433-47.)

89. Effect of digital rectal examination on serum prostate-specific antigen in a primary care setting. The Internal Medicine Clinic Research Consortium. Arch Intern Med. 1995;155:389-3892.
90. Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, et al; ISUP grading committee. The 2005 International Society of Urologic Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason grading of Prostatic Carcinoma. Am J Surg Pathol 2005 Sep;29(9):1228-42.
91. Etzioni R, Shen Y, Petteway JC, et al. Age-specific prostate-specific antigen: a reassessment. Prostate. 1996;(suppl 7):70-77.
92. Even-Sapir E, Metser U, Mishani E, et al. The detection of bone metastases in patients with highrisk prostate cancer: 99mTc-MDP Planar bone scintigraphy, single- and multifield-of-view SPECT, 18F-fluoride PET/CT. J Nucl Med 2006 Feb;47(2):287-97.
93. Fang J, Metter EJ, Landis P, et al. Low levels of prostate-specific antigen predict long-term risk of prostate cancer: results from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. Urology. 2001;58:411-416. [Abstract](#)
94. Fang J, Metter EJ, Landis P, et al. PSA velocity for assessing prostate cancer risk in men with PSA levels between 2.0 and 4.0 ng/mL. Urology. 2002;59:889-93;discussion 893-894.
95. Ficarra V, Novara G, Artibani W, et al. Retropubic, laparoscopic, and robot-assisted radical prostatectomy: a systematic review and cumulative analysis of comparative studies. Eur Urol 2009 May;55(5):1037-63
96. **Fradet Y, Saad F, Aprikian A, Dessureault J, Elhilali M, Trudel C, Mâsse B, Piché L, Chypre C.** uPM3, a new molecular urine test for the detection of prostate cancer. Urology. **2004** Aug;64(2):311-5;
97. Freedland SJ, Humphreys EB, Mangold LA, et al. Risk of prostate cancer-specific mortality following biochemical recurrence after radical prostatectomy. JAMA. 2005;294:433-439. [Abstract](#)
98. Fuchsjager M, Shukla-Dave A, Akin O, et al. Prostate cancer imaging. Acta Radiol 2008;49:107-20
99. Fukatsu, T., et al. , 2004, *Genetic polymorphisms of hormone-related genes and prostate cancer risk in the Japanese population.* Anticancer Res. **24**(4): p. 2431-7.) (
100. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. JAMA. 1995;273:289-294. [Abstract](#)
101. Gelmann EP, Chia D, Pinsky PF, et al. Relationship of demographic and clinical factors to free and total prostate-specific antigen. Urology. 2001;58:561-566.

102. Gelmann EP, Chia D, Pinsky PF, et al. Relationship of demographic and clinical factors to free and total prostate-specific antigen. *Urology*. 2001;58:561-566
103. **Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, Blase A, Bodrug S, Clark C, Brentano S, Mathis J, Pham J, Meyer T, Cass M, Hodge P, Macairan ML, Marks LS, Rittenhouse H.** APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem*. 2006 Jun;52(6):1089-95.
104. Haese A, Becker C, Noldus J, et al. Human glandular kallikrein 2: a potential serum marker for predicting the organ confined versus non-organ confined growth of prostate cancer. *J Urol*. 2000;163:1491-1497. [Abstract](#)
105. Haese A, Dworschack RT, Partin AW. Percent free prostate specific antigen in the total prostate specific antigen 2 to 4 ng./mL. range does not substantially increase the number of biopsies needed to detect clinically significant prostate cancer compared to the 4 to 10 ng./mL. range. *J Urol*. 2002;168:504-508. [Abstract](#)
106. Haese A, Graefen M, Becker C, et al. The role of human glandular kallikrein 2 for prediction of pathologically organ confined prostate cancer. *Prostate*. 2003;54:181-186. [Abstract](#)
107. Haese A, Graefen M, Noldus J, et al. Prostatic volume and ratio of free-to-total prostate specific antigen in patients with prostatic cancer or benign prostatic hyperplasia. *J Urol*. 1997;158:2188-2192. [Abstract](#)
108. Haese A, Graefen M, Steuber T, Becker C et al – Human Glandular Kallikrein 2 Levels in serum for discrimination of pathologically organ-confined from locally advanced prostate cancer in total PSA levels below 10 ng/ml – *The Prostate* 49, 101-109, 2001
109. Haese A, Graefen M, Steuber T, et al. Human glandular kallikrein 2 levels in serum for discrimination of pathologically organ-confined from locally-advanced prostate cancer in total PSA-levels below 10 ng/mL. *Prostate*. 2001;49:101-109. [Abstract](#)
110. Hara R, Jo Y, Fujii T, et al. Optimal approach for prostate cancer detection as initial biopsy: prospective randomized study comparing transperineal versus transrectal systematic 12-core biopsy. *Urology* 2008 Feb;71(2):191-5.
111. Harnden P, Shelley MD, Coles B, et al. Should the Gleason grading system for prostate cancer be modified to account for high-grade tertiary components? A systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncology* 2007 May;8(5):411-9.
112. Heijmink SW, Fütterer JJ, Hambroek T, et al. Prostate cancer: body-array versus endorectal coil MR imaging at 3 T – comparison of image quality, localization, and staging performance. *Radiology* 2007;244(1):184-95.

113. Hiramatsu, M., et al. , 1997, *Aromatase in hyperplasia and carcinoma of the human prostate*. Prostate. **31**(2): p. 118-24
114. Hoivels AM, Heesakkers RAM, Adang EM, et al. The diagnostic accuracy of CT and MRI in the staging of pelvic lymph nodes in patients with prostate cancer: a meta-analysis. *Clinical Radiology* 2008;63:387-95.
115. Hoshi S, Kobayashi S, Takahashi T et al – Enzyme-linked immunosorbent assay detection of PSA mRNA in prostate cancer – *Urology*, 53(1), 1999, 228 - 235
116. Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Research* 1941;1:293–7.
117. Huggins C, Stevens Jr RE, Hodges CV. Studies on prostatic cancer. II. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch Surg* 1941;43:209–23.
118. Husarik DB, Miralbell R, Dubs M, et al. Evaluation of [(18)F]-choline PET/CT for staging and restaging of prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008 Feb;35(2):253-63.
119. Ilic D, O'Connor D, Green S, et al. Screening for prostate cancer: a Cochrane systematic review. *Cancer Causes Control* 2007 Apr;18(3):279-85
120. Irani J, Levillain P, Goujon JM, et al. Inflammation in benign prostatic hyperplasia: correlation with prostate specific antigen value. *J Urol*. 1997;157:1301-1303.
121. Jack Groskopf, Sheila M.J. Aubin, Ina Lim Deras et al (2006)- APTIMA PCA3 Molecular Urine Test:Development of a Method to Aid in the Diagnosis of Prostate Cancer *Clinical Chemistry* 52:6 1089–1095
122. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008 Mar;58(2):71-96.
123. Jung K, Elgeti U, Lein M, et al. Ratio of free or complexed prostate-specific antigen (PSA) to total PSA: which ratio improves differentiation between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer? *Clin Chem*. 2000;46:55-62.
124. Katz AE, Olsson CA, Raffo A et al: Molecular staging of prostate cancer with the use of an enhanced reverse-transcriptase-PCR assay. *Urology*, 43, 1994, 765-775
125. Khan MA, Partin AW, Rittenhouse HG, et al. Evaluation of proprostate specific antigen for early detection of prostate cancer in men with a total prostate specific antigen range of 4.0 to 10.0 ng/mL. *J Urol*. 2003;170:723-726. [Abstract](#)
126. Khan MA, Sokoll LJ, Chan DW, et al. Clinical utility of proPSA and "benign" PSA when percent free PSA is less than 15%. *Urology*. 2004;64:1160-1164. [Abstract](#)

127. Khoo VS, Pollack A, Cowen D et al – Relationship of Ki67 labeling index to DNA-ploidy; S-phase fraction and outcome of prostate cancer treated with radiotherapy – *The Prostate*, 1999
128. Klotz L. Active surveillance for prostate cancer: trials and tribulations. *World J Urol* 2008 Sep;26(5):437-42
129. Kuban DA, Tucker SL, Dong L, et al. Long term results of the MD Anderson randomized dose escalation trial for prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008 Jan;70(1):67-74.
130. Kumar-Sinha, C., Shah E.B et al 2004– Elevated alfa-methyl-CoA racemase enzymatic activity in prostate cancer – *Am. J. Pathol.*, March, 164; 787-793
131. Kvåle R, Møller B, Wahlqvist R, Fosså SD, Berner A, Busch C, Kyrдалen AE, Svindland A, Viset T, Halvorsen OJ Concordance between Gleason scores of needle biopsies and radical prostatectomy specimens: a population-based study. *BJU Int.* 2009 Jun;103(12):1647-54
132. Kwiatkowski MK, Recker F, Piironen T, et al. In prostatism patients the ratio of human glandular kallikrein to free PSA improves the discrimination between prostate cancer and benign hyperplasia within the diagnostic "gray zone" of total PSA 4 to 10 ng/mL. *Urology.* 1998;52:360-365. [Abstract](#)
133. Lee CT, Scardino PT. Percent free prostate-specific antigen for first-time prostate biopsy. *Urology.* 2001;57:594-598. [Abstract](#)
134. Lein M, Jung K, Elgeti U, et al. Comparison of the clinical validity of free prostate-specific antigen, alpha-1 antichymotrypsin-bound prostate-specific antigen and complexed prostate-specific antigen in prostate cancer diagnosis. *Eur Urol.* 2001;39:57-64. [Abstract](#)
135. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem.* 1991;37:1618-1625. [Abstract](#)
136. Lin DW, Gold MH, Ransom S, et al. Transition zone prostate specific antigen density: lack of use in prediction of prostatic carcinoma. *J Urol.* 1998;160:77-81;discussion 81-82.
137. Maeda H, Arai Y, Aoki Y, et al. Complexed prostate-specific antigen and its volume indexes in the detection of prostate cancer. *Urology.* 1999;54:225-228. [Abstract](#)
138. Magklara A, Scorilas A, Catalona WJ, et al. The combination of human glandular kallikrein and free prostate-specific antigen (PSA) enhances discrimination between prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in patients with moderately increased total PSA. *Clin Chem.* 1999;45:1960-1966. [Abstract](#)

139. **Makarov DV, Trock BJ, Humphreys EB, Mangold LA, Walsh PC, Epstein JI, Partin AW** Updated nomogram to predict pathologic stage of prostate cancer given prostate-specific antigen level, clinical stage, and biopsy Gleason score (**Partin** tables) based on cases from 2000 to 2005. *Urology*. 2007 Jun;69(6):1095-101.
140. Makinen T, Tammela TL, Hakama M, et al. Prostate cancer screening within a prostate specific antigen range of 3 to 3.9 ng./mL.: a comparison of digital rectal examination and free prostate specific antigen as supplemental screening tests. *J Urol*. 2001;166:1339-1342. [Abstract](#)
141. Masterson TA, Touijer K. The role of endorectal coil MRI in preoperative staging and decision-making for the treatment of clinically localized prostate cancer. *MAGMA* 2008 Nov;21(6):371-7.
142. Mattei A, Fuechsel FG, Bhatta Dhar N, et al. The template of the primary lymphatic landing sites of the prostate should be revisited: results of a multimodality mapping study. *Eur Urol* 2008 Jan;53(1): 118-25.
143. Matzkin H, Eber P, Todd B, et al. Prognostic significance of changes in prostate-specific markers after endocrine treatment of stage D2 prostatic cancer. *Cancer*. 1992;70:2302-2309. [Abstract](#)
144. Meijers-Heijboer, H., et al. 2002, *Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations*. *Nat Genet.* **31**(1): p. 55-9.)
145. Mikolajczyk SD, Grauer LS, Millar LS, et al. A precursor form of PSA (pPSA) is a component of the free PSA in prostate cancer serum. *Urology*. 1997;50:710-714. [Abstract](#)
146. Mikolajczyk SD, Marker KM, Millar LS, et al. A truncated precursor form of prostate-specific antigen is a more specific serum marker of prostate cancer. *Cancer Res*. 2001;61:6958-6963. [Abstract](#)
147. Mikolajczyk SD, Marks LS, Partin AW, et al. Free prostate-specific antigen in serum is becoming more complex. *Urology*. 2002;59:797-802. [Abstract](#)
148. Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, et al. "BPSA," a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2000;55:41-45. [Abstract](#)
149. Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, et al. A precursor form of prostate-specific antigen is more highly elevated in prostate cancer compared with benign transition zone prostate tissue. *Cancer Res*. 2001;60:756-759.
150. Miller JI, Ahmann FR, Drach GW, et al. The clinical usefulness of serum prostate specific antigen after hormonal therapy of metastatic prostate cancer. *J Urol*. 1992;147:956-961. [Abstract](#)

151. Mononen, N., et al. , 2006, *Profiling genetic variation along the androgen biosynthesis and metabolism pathways implicates several single nucleotide polymorphisms and their combinations as prostate cancer risk factors*. Cancer Res. **66**(2): p. 743-7
152. Moreno JG, Croce CM, Fisher R et al: Detection of hematogenous micrometastasis in patients with prostate cancer – Cancer Res 52, 6110-6112, 1992
153. Morgentaler A, Traish AM. Shifting the paradigm of testosterone and prostate cancer: the saturation model and the limits of androgen-dependent growth. Eur Urol 2009;55:310–21.
154. Morgentaler A. Testosterone and prostate cancer: an historical perspective on a modern myth. Eur Urol 2006;50: 935–9.
155. Morgentaler A. Testosterone replacement therapy and prostate cancer. Urol Clin North Am 2007;34:555–63.
156. Morris DL, Dillon PW, Very DL, et al. Bayer Immuno 1 PSA Assay: an automated, ultrasensitive method to quantitate total PSA in serum. J Clin Lab Anal. 1998;12:65-74. [Abstract](#)
157. **Nakanishi H**, Groskopf J, Fritsche HA, Bhadkamkar V, Blase A, Kumar SV, Davis JW, Troncoso P, Rittenhouse H, Babaian RJ. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. **J Urol.** **2008** May;179(5):1804-9;
158. Nam RK, Diamandis EP, Toi A, et al. Serum human glandular kallikrein-2 protease levels predict the presence of prostate cancer among men with elevated prostate-specific antigen. J Clin Oncol. 2000;18:1036-1042. [Abstract](#)
159. Neal DE, Jr., Clejan S, Sarma D, et al. Prostate specific antigen and prostatitis. I. Effect of prostatitis on serum PSA in the human and nonhuman primate. Prostate. 1992;20:105-111.
160. Nixon RG, Wener MH, Smith KM, et al. Biological variation of prostate specific antigen levels in serum: an evaluation of day-to-day physiological fluctuations in a well-defined cohort of 24 patients. J Urol. 1997;157:2183-2190. [Abstract](#)
161. Nixon RG, Wener MH, Smith KM, et al. Day to day changes in free and total PSA: significance of biological variation. Prostate Cancer Prostatic Dis. 1997;1:90-96. [Abstract](#)
162. Nurmikko P, Pettersson K, Piironen T, et al. Discrimination of prostate cancer from benign disease by plasma measurement of intact, free prostate-specific antigen lacking an internal cleavage site at Lys145-Lys146. Clin Chem. 2001;47:1415-1423. [Abstract](#)

163. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, et al. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges. *JAMA*. 1993;270:860-864. [Abstract](#)
164. Oesterling JE, Rice DC, Glenski WJ, et al. Effect of cystoscopy, prostate biopsy, and transurethral resection of prostate on serum prostate-specific antigen concentration. *Urology*. 1993;42:276-282.
165. Ohori M, Dunn JK, Scardino PT. Is prostate-specific antigen density more useful than prostate-specific antigen levels in the diagnosis of prostate cancer? *Urology*. 1995;46:666-671.
166. Okegawa T, Noda H, Nutahara K, et al. Comparison of two investigative assays for the complexed prostate-specific antigen in total prostate-specific antigen between 4.1 and 10.0 ng/mL. *Urology*. 2000;55:700-704. [Abstract](#)
167. Ornstein DK, Smith DS, Rao GS, et al. Biological variation of total, free and percent free serum prostate specific antigen levels in screening volunteers. *J Urol*. 1997;157:2179-2182. [Abstract](#)
168. Panel NCCNPC. Guidelines for the Detection, Prevention, and Risk Reduction of Prostate Cancer. Available at: http://www.nccn.org/physician_gls/f_guidelines.html Accessed November 11, 2005.
169. Partin AW, Brawer MK, Bartsch G, et al. Complexed prostate specific antigen improves specificity for prostate cancer detection: results of a prospective multicenter clinical trial. *J Urol*. 2003;170:1787-1791. [Abstract](#)
170. Partin AW, Catalona WJ, Finlay JA, et al. Use of human glandular kallikrein 2 for the detection of prostate cancer: preliminary analysis. *Urology*. 1999;54:839-845. [Abstract](#)
171. Partin AW, Catalona WJ, Southwick PC, et al. Analysis of percent free prostate-specific antigen (PSA) for prostate cancer detection: influence of total PSA, prostate volume, and age. *Urology*. 1996;48:55-61. [Abstract](#)
172. Patel A, Dorey F, Franklin J, et al. Recurrence patterns after radical retropubic prostatectomy: clinical usefulness of prostate specific antigen doubling times and log slope prostate specific antigen. *J Urol*. 1997;158:1441-1445. [Abstract](#)
173. Peter J, Unverzagt C, Krogh TN, et al. Identification of precursor forms of free prostate-specific antigen in serum of prostate cancer patients by immunosorption and mass spectrometry. *Cancer Res*. 2001;61:957-962. [Abstract](#)
174. Petricoin EF III, Ornstein DK, Pawletz CP, et al. Serum proteomic patterns for detection of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94:1576-1578. [Abstract](#)
175. Potters L, Morgenstern C, Calugaru E, et al. 12-year outcomes following permanent prostate brachytherapy in patients with clinically localized prostate cancer. *J Urol* 2008 May;179(5Suppl.): S20-S24.

176. Pound CR, Partin AW, Eisenberger MA, et al. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy. *JAMA*. 1999;281:1591-1597. [Abstract](#)
177. Prestigiacomo AF, Stamey TA. Physiological variation of serum prostate specific antigen in the 4.0 to 10.0 ng./mL. range in male volunteers. *J Urol*. 1996;155:1977-1980. [Abstract](#)
178. Punglia RS, D'Amico AV, Catalona WJ, et al. Effect of verification bias on screening for prostate cancer by measurement of prostate-specific antigen. *N Engl J Med*. 2003;349:335-342. [Abstract](#)
179. Quinn M, Babb P. Patterns and trends in prostate cancer incidence, survival, prevalence and mortality. Part I: international comparisons. *BJU Int* 2002 Jul;90(2):162-73
180. Recker F, Kwiatkowski MK, Piironen T, et al. The importance of human glandular kallikrein and its correlation with different prostate specific antigen serum forms in the detection of prostate carcinoma. *Cancer*. 1998;83:2540-2547. [Abstract](#)
181. Rittenhouse HG, Finlay JA, Mikolajczyk SD, et al. Human Kallikrein 2 (hK2) and prostate-specific antigen (PSA): two closely related, but distinct, kallikreins in the prostate. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1998;35:275-368. [Abstract](#)
182. Roberts SG, Blute ML, Bergstralh EJ, et al. PSA doubling time as a predictor of clinical progression after biochemical failure following radical prostatectomy for prostate cancer. *Mayo Clin Proc*. 2001;76:576-581. [Abstract](#)
183. Roddam AW, Allen NE, Appleby P, et al., Endogenous Hormones Prostate Cancer Collaborative Group. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. *JNCI* 2008;100:170–83.
184. Ruckle HC, Klee GG, Oesterling JE. Prostate-specific antigen: critical issues for the practicing physician. *Mayo Clin Proc*. 1994;69:59-68.
185. Schalken J, Hessels D, Verhaegh G, 2003 – New targets for therapy in prostate cancer:DD3/PCA3, a highly prostate-cancer specific gene- *Urology*, 62, Suppl 5A, 34-43
186. Schiavina R, Scattoni V, Castellucci P, et al. (11)C-choline positron emission tomography/computerized tomography for preoperative lymph-node staging in intermediate-risk and high-risk prostate cancer: comparison with clinical staging nomograms. *Eur Urol* 2008 Aug;54(2):392-401
187. Schmid H-P, Engeler DS, Pummer K, et al. Prevention of prostate cancer: more questions than data. *Cancer Prevention. Recent Results Cancer Res* 2007;174:101-7.
188. Schmid HP, McNeal JE, Stamey TA. Observations on the doubling time of prostate cancer. The use of serial prostate-specific antigen in patients with untreated

disease as a measure of increasing cancer volume. *Cancer*. 1993;71:2031-2040.

[Abstract](#)

189. Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al; ERSPC Investigators. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 2009 Mar 26;360(13):1320-8.

190. Schroder FH, van der Crujisen-Koeter I, de Koning HJ, et al. Prostate cancer detection at low prostate specific antigen. *J Urol*. 2000;163:806-812. [Abstract](#)

191. Schröder FH. Progress in understanding androgen-independent prostate cancer (AIPC): a review of potential endocrine-mediated mechanisms. *Eur Urol* 2008 Jun;53(6):1129-37.

192. Smith DC, Pienta KJ. The use of prostate-specific antigen as a surrogate end point in the treatment of patients with hormone refractory prostate cancer. *Urol Clin North Am*. 1997;24:433-437. [Abstract](#)

193. Smith DS, Catalona WJ, Herschman JD. Longitudinal screening for prostate cancer with prostate-specific antigen. *JAMA*. 1996;276:1309-1315.

194. Smith RA, Cokkinides V, Eyre HJ. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer. *CA Cancer J Clin*. 2004;54:41-52. [Abstract](#)

195. Soloway MS, Soloway CT, Williams S, et al. Active surveillance; a reasonable management alternative for patients with prostate cancer: the Miami experience. *BJU Int* 2008 Jan;101(2):165-9.

196. Stamey TA, Yemoto CE. Examination of the 3 molecular forms of serum prostate specific antigen for distinguishing negative from positive biopsy: relationship to transition zone volume. *J Urol*. 2000;163:119-126. [Abstract](#)

197. Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, et al. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res*. 1991;51:222-226. [Abstract](#)

198. Stephan C, Lein M, Jung K, et al. The influence of prostate volume on the ratio of free to total prostate specific antigen in serum of patients with prostate carcinoma and benign prostate hyperplasia. *Cancer*. 1997;79:104-109. [Abstract](#)

199. Stephenson AJ, Kattan MW, Eastham JA, et al. Prostate cancer-specific mortality after radical prostatectomy for patients treated in the prostate-specific antigen era. *J Clin Oncol* 2009 Sep;27(26):4300-5.

200. Steuber T, Nurmikko P, Haese A, et al. Discrimination of benign from malignant prostatic disease by selective measurements of single chain, intact free prostate specific antigen. *J Urol*. 2002;168:1917-1922. [Abstract](#)

201. Takayama TK, Fujikawa K, Davie EW. Characterization of the precursor of prostate-specific antigen. Activation by trypsin and by human glandular kallikrein. *J Biol Chem*. 1997;272:21582-1588. [Abstract](#)

202. Takenaka A, Hara R, Ishimura T, et al. A prospective randomized comparison of diagnostic efficiency between transperineal and transrectal 12-core prostate biopsy. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 2008 June;11:134-8.
203. Tanaka, Y., et al. , 2002, *Polymorphisms of the CYP1B1 gene have higher risk for prostate cancer*. *Biochem Biophys Res Commun.* **296**(4): p. 820-646).
204. Tang, Y.M., et al. 2000., *Human CYP1B1 Leu432Val gene polymorphism: ethnic distribution in African-Americans, Caucasians and Chinese; oestradiol hydroxylase activity; and distribution in prostate cancer cases and controls*. *Pharmacogenetics*, **10**(9): p. 761-6.)
205. Tchetgen MB, Song JT, Strawderman M, et al. Ejaculation increases the serum prostate-specific antigen concentration. *Urology.* 1996;47:511-516.
206. Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, et al. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/mL or lower. *JAMA.* 2005;294:66-70. [Abstract](#)
207. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, et al. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *N Engl J Med.* 2003;349:215-224. [Abstract](#)
208. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level < or =4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med.* 2004;350:2239-2246. [Abstract](#)
209. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene.* **2007** Jul 5;26(31):4596-9.
210. **Tomlins SA**, Bjartell A, Chinnaiyan AM, Jenster G, Nam RK, Rubin MA, Schalken JA. **ETS** gene fusions in prostate cancer: from discovery to daily clinical practice. *Eur Urol.* **2009** Aug;56(2):275-86.
211. Tremblay RR, Deperthes D, Tetu B, et al. Immunohistochemical study suggesting a complementary role of kallikreins hK2 and hK3 (prostate-specific antigen) in the functional analysis of human prostate tumors. *Am J Pathol.* 1997;150:455-459. [Abstract](#)
212. Uchida T, Shoji S, Nakano M, et al. Transrectal high-intensity focused ultrasound for the treatment of localized prostate cancer: eight-year experience. *Int J Urol* 2009 Nov;16(11):881-6.
213. Van Poppel H, Joniau S. An analysis of radical prostatectomy in advanced stage and high-grade prostate cancer. *Eur Urol* 2008 Feb;53(2):253-9.
214. Viani GA, Stefano EJ, Afonso SL. Higher-than-conventional radiation doses in localized prostate cancer treatment: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009 Aug;74(5):1405-18

215. Wilt TJ, Brawer MK, Barry MJ, et al. The Prostate Cancer Intervention Versus Observation Trial: VA/ NCI/AHRQ Cooperative Studies Program #407 (PIVOT): design and baseline results of a randomized controlled trial comparing radical prostatectomy to watchful waiting for men with clinically localized prostate cancer. *Contemp Clin Trials* 2009 Jan;30(1):81-7.
216. Woodrum DL, Brawer MK, Partin AW, et al. Interpretation of free prostate specific antigen clinical research studies for the detection of prostate cancer. *J Urol*. 1998;159:5-12. [Abstract](#)
217. Wu JT, Zhang P, Liu GH, et al. Development of an immunoassay specific for the PSA-ACT complex without the problem of high background. *J Clin Lab Anal*. 1998;12:14-19. [Abstract](#)
218. Yossepowitch O, Eggener SE, Bianco FJ Jr, et al. Radical prostatectomy for clinically localized, high risk prostate cancer: critical analysis of risk assessment methods. *J Urol* 2007 Aug;178(2):493-9; discussion 499.
219. Young CY, Andrews PE, Montgomery BT, et al. Tissue-specific and hormonal regulation of human prostate-specific glandular kallikrein. *Biochemistry*. 1992;31:818-824. [Abstract](#)
220. Zelefsky MJ, Kuban DA, Levy LB, et al. Multi-institutional analysis of long-term outcome for stages T1-T2 prostate cancer treated with permanent seed implantation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007 Feb;67(2):327-33.
221. Zelefsky MJ, Levin EJ, Hunt M, et al. Incidence of late rectal and urinary toxicities after threedimensional conformal radiotherapy and intensity-modulated radiotherapy for localized prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008 Mar;70(4):1124-9.
222. Zelefsky MJ, Nedelka MA, Arican ZL, et al. Combined brachytherapy with external beam radiotherapy for localized prostate cancer: reduced morbidity with an intraoperative brachytherapy planning technique and supplemental intensity-modulated radiation therapy. *Brachytherapy* 2008 Jan-Mar; 7(1):1-6.
223. Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, et al. Purification and characterization of different molecular forms of prostate-specific antigen in human seminal fluid. *Clin Chem*. 1995;41:1567-1573. [Abstract](#)
224. Zietman AL, Tibbs MK, Dallow KC, et al. Use of PSA nadir to predict subsequent biochemical outcome following external beam radiation therapy for T1-2 adenocarcinoma of the prostate. *Radiother Oncol*. 1996;40:159-162. [Abstract](#)
225. Yeager, M., et al. , 2007, *Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24*. *Nat Genet*. **39**(5): p. 645-649.

226. Haiman, C.A., et al. , 2007, *Multiple regions within 8q24 independently affect risk for prostate cancer*. Nat Genet. **39**(5): p. 638-44

Публикации научни съобщения и научно-изследователски проекти, свързани с дисертационния труд.

Публикации във връзка с дисертационния труд:

1. A meta-analysis of genome-wide association studies to identify prostate cancer susceptibility loci associated with aggressive and non-aggressive disease.

Amin Al Olama A, Kote-Jarai Z, Schumacher FR, Wiklund F, Berndt SI, Benlloch S, Giles GG, Severi G, Neal DE, Hamdy FC, Donovan JL, Hunter DJ, Henderson BE, Thun MJ, Gaziano M, Giovannucci EL, Siddiq A, Travis RC, Cox DG, Canzian F, Riboli E, Key TJ, Andriole G, Albanes D, Hayes RB, Schleutker J, Auvinen A, Tammela TL, Weischer M, Stanford JL, Ostrander EA, Cybulski C, Lubinski J, Thibodeau SN, Schaid DJ, Sorensen KD, Batra J, Clements JA, Chambers S, Aitken J, Gardiner RA, Maier C, Vogel W, Dörk T, Brenner H, Habuchi T, Ingles S, John EM, Dickinson JL, Cannon-Albright L, Teixeira MR, Kaneva R, Zhang HW, Lu YJ, Park JY, Cooney KA, Muir KR, Leongamornlert DA, Saunders E, Tymrakiewicz M, Mahmud N, Guy M, Govindasami K, O'Brien LT, Wilkinson RA, Hall AL, Sawyer EJ, Dadaev T, Morrison J, Dearnaley DP, Horwich A, Huddart RA, Khoo VS, Parker CC, Van As N, Woodhouse CJ, Thompson A, Dudderidge T, Ogden C, Cooper CS, Lophatonanon A, Southey MC, Hopper JL, English D, Virtamo J, Le Marchand L, Campa D, Kaaks R, Lindstrom S, Diver WR, Gapstur S, Yeager M, Cox A, Stern MC, Corral R, Aly M, Isaacs W, Adolfsson J, Xu J, Zheng SL, Wahlfors T, Taari K, Kujala P, Klarskov P, Nordestgaard BG, Røder MA, Frikke-Schmidt R, Bojesen SE, FitzGerald LM, Kolb S, Kwon EM, Karyadi DM, Orntoft TF, Borre M, Rinckleb A, Luedeke M, Herkommer K, Meyer A, Serth J, Marthick JR, Patterson B, Wokolorczyk D, Spurdle A, Lose F, McDonnell SK, Joshi AD, Shahabi A, Pinto P, Santos J, Ray A, Sellers TA, Lin HY, Stephenson RA, Teerlink C, Muller H, Rothenbacher D, Tsuchiya N, Narita S, Cao GW, **Slavov C**, Mitev V; UK Genetic Prostate Cancer Study Collaborators/British Association of Urological Surgeons' Section of Oncology; UK ProtecT Study Collaborators; Australian Prostate Cancer Bioresource; PRACTICAL

Consortium, Chanock S, Gronberg H, Haiman CA, Kraft P, Easton DF, Eeles RA.

Hum Mol Genet. 2013 Jan 15;22(2):408-15. doi: 10.1093/hmg/dds425. Epub 2012 Oct 12.

2. Seven prostate cancer susceptibility loci identified by a multi-stage genome-wide association study.

Kote-Jarai Z, Olama AA, Giles GG, Severi G, Schleutker J, Weischer M, Campa D, Riboli E, Key T, Gronberg H, Hunter DJ, Kraft P, Thun MJ, Ingles S, Chanock S, Albanes D, Hayes RB, Neal DE, Hamdy FC, Donovan JL, Pharoah P, Schumacher F, Henderson BE, Stanford JL, Ostrander EA, Sorensen KD, Dörk T, Andriole G, Dickinson JL, Cybulski C, Lubinski J, Spurdle A, Clements JA, Chambers S, Aitken J, Gardiner RA, Thibodeau SN, Schaid D, John EM, Maier C, Vogel W, Cooney KA, Park JY, Cannon-Albright L, Brenner H, Habuchi T, Zhang HW, Lu YJ, Kaneva R, Muir K, Benlloch S, Leongamornlert DA, Saunders EJ, Tymrakiewicz M, Mahmud N, Guy M, O'Brien LT, Wilkinson RA, Hall AL, Sawyer EJ, Dadaev T, Morrison J, Dearnaley DP, Horwich A, Huddart RA, Khoo VS, Parker CC, Van As N, Woodhouse CJ, Thompson A, Christmas T, Ogden C, Cooper CS, Lophatonanon A, Southey MC, Hopper JL, English DR, Wahlfors T, Tammela TL, Klarskov P, Nordestgaard BG, Røder MA, Tybjærg-Hansen A, Bojesen SE, Travis R, Canzian F, Kaaks R, Wiklund F, Aly M, Lindstrom S, Diver WR, Gapstur S, Stern MC, Corral R, Virtamo J, Cox A, Haiman CA, Le Marchand L, Fitzgerald L, Kolb S, Kwon EM, Karyadi DM, Orntoft TF, Borre M, Meyer A, Serth J, Yeager M, Berndt SI, Marthick JR, Patterson B, Wokolorczyk D, Batra J, Lose F, McDonnell SK, Joshi AD, Shahabi A, Rinckleb AE, Ray A, Sellers TA, Lin HY, Stephenson RA, Farnham J, Muller H, Rothenbacher D, Tsuchiya N, Narita S, Cao GW, **Slavov C**, Mitev V, Easton DF, Eeles RA; UK Genetic Prostate Cancer Study Collaborators/British Association of Urological Surgeons' Section of Oncology; UK ProtecT Study Collaborators, The Australian Prostate Cancer BioResource; PRACTICAL Consortium.

Nat Genet. 2011 Jul 10;43(8):785-91. doi: 10.1038/ng.882.

3. Identification of seven new prostate cancer susceptibility loci through a genome-wide association study.

Eeles RA, Kote-Jarai Z, Al Olama AA, Giles GG, Guy M, Severi G, Muir K, Hopper JL, Henderson BE, Haiman CA, Schleutker J, Hamdy FC, Neal DE, Donovan JL, Stanford JL, Ostrander EA, Ingles SA, John EM, Thibodeau SN, Schaid D, Park JY, Spurdle A, Clements J, Dickinson JL, Maier C, Vogel W, Dörk T, Rebbeck TR, Cooney KA, Cannon-Albright L, Chappuis PO, Hutter P, Zeegers M, Kaneva R, Zhang HW, Lu YJ, Foulkes WD, English DR, Leongamornlert DA, Tymrakiewicz M, Morrison J, Arden-Jones AT, Hall

AL, O'Brien LT, Wilkinson RA, Saunders EJ, Page EC, Sawyer EJ, Edwards SM, Dearnaley DP, Horwich A, Huddart RA, Khoo VS, Parker CC, Van As N, Woodhouse CJ, Thompson A, Christmas T, Ogden C, Cooper CS, Southey MC, Lophatananon A, Liu JF, Kolonel LN, Le Marchand L, Wahlfors T, Tammela TL, Auvinen A, Lewis SJ, Cox A, FitzGerald LM, Koopmeiners JS, Karyadi DM, Kwon EM, Stern MC, Corral R, Joshi AD, Shahabi A, McDonnell SK, Sellers TA, Pow-Sang J, Chambers S, Aitken J, Gardiner RA, Batra J, Kedda MA, Lose F, Polanowski A, Patterson B, Serth J, Meyer A, Luedeke M, Stefflova K, Ray AM, Lange EM, Farnham J, Khan H, Slavov C, Mitkova A, Cao G; UK Genetic Prostate Cancer Study Collaborators/British Association of Urological Surgeons' Section of Oncology; UK ProtecT Study Collaborators; PRACTICAL Consortium, Easton DF.

[Nat Genet.](#) 2009 Oct;41(10):1116-21. doi: 10.1038/ng.450. Epub 2009 Sep 20

4. Eeles RA, Olama AA, Benlloch S, et al Identification of 23 new prostate cancer susceptibility loci using the iCOGS custom genotyping array., Nature Genetics, под печат
5. Liquid chromatography method for simultaneous analysis of amino acids and biogenic amines in biological fluids with simultaneous gradient of pH and acetonitrile.
Lozanov V, Benkova B, Mateva L, Petrov S, Popov E, Slavov C, Mitev V. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2007 Dec 1;860(1):92-7. Epub 2007 Oct 22
6. Попов Е., Влахова А., Славов Ч., Христова С., Цветков М., - Молекулярни туморни маркери при карцином на простатната жлеза – настояще и перспективи – Урология и Ендоурология бр 1/2011
7. Е. Попов, **Ч. Славов** – „Карцином на простатната жлеза – съвременна диагностика и лечение“. Сп. GP News, бр. 5 (144), год. 13, май 2012, 5-8.
8. Попов Е., Бенкова Б., Матева Л., Славов Ч. и съавт – Клинично приложение на серумните и уринните нива на нискомолекулни полиамини като туморни маркери при пациенти с ДПХ и аденокарцином на простатата – сп. Medical Science 1/2007 – 23-36

Научни съобщения във връзка с дисертационния труд:

1. Popov E., Kachakova D. et al - Prostate cancer risk association with SNP polymorphic variants of CYP1B1 gene in Bulgarian population -25th anniversary EAU congress – Milan 2010
2. Kachakova D., Boyadzhieva M., Popov E. et al – Polymorphic variants in CYP 1B1 linked with increased risk for prostate cancer in Bulgarian patients – European Human Genetics Conference – Gothenburg 2010
3. Kachakova D., Popov E., Mitkova A. et al – association study of polymorphic variants of 8q24 linked with prostate cancer in Bulgarian patients – 21st meeting of the European Association for Cancer Research – Oslo 2010
4. Kachakova D., Popov E., Mitkova A. et al – Promoter hypermethylation of HIST1H4K and RASSF2 in urine from prostate cancer patients – 22nd congress of the European Association for Cancer Research – Barcelona 2012
5. Kachakova D., Popov E., Mitkova A. et al – association analysis in Bulgarian prostate cancer patients adds support to a newly identified susceptibility locus on chromosome 8q24 – European Human Genetics Conference – Amsterdam 2011
6. Popov E., Sabriev V., Vlahova A. et al – Secondary variables at initial prostate biopsy as a prognostic marker for lymph node involvement at radical prostatectomy – EAU 8th South Eastern European Meeting (SEEM) 2012
7. Попов Е., Славов Ч., Качакова Д. и др – Онкогенетика на простатния карцином – мултидисциплинарен подход и 5-годишен опит и резултати – 7-ми национален конгрес по Урология София 2011
8. Попов Е., Йотовски В., Деримачковски Г., Сабриев В., Славов Ч. – Трансверзален супрапубичен достъп за радикална простатектомия с тазова лимфна дисекция – 24 Варненски урологични дни - 2012

9. Popov E., Kachakova D., Boyadzhieva M. et al - Role of genetic polymorphisms in SRD5A2 gene in progression of prostate cancer – 9th international congress of medical sciences – Sofia 2010
10. Попов Е. - Консервативни методи на лечение на рак на простатната жлеза – симпозиуми „акад. Ч. Начев” БАН 2012

Участия в научно-изследователски проекти във връзка с дисертационния труд:

1. **2010-2012-** Национален Университетски Комплекс за Биомедицински и приложни Изследвания, инфраструктурен проект, МОН
2. **2010-2012-** Проучване на генетични варианти свързани с повишен риск и търсене на диагностични, прогностични и експресионни маркери при рака на простатата, МОН
3. **2010-2011-** Изследване на промоторно хиперметиране на биомаркери в урина, асоциирани с рака на простатата и оценяване на тяхната диагностична стойност при български пациенти, МУ-София **Договор 28/2010 на МУ-София – оценка на СМН - ВИСОКА**
4. Изследване влиянието на мутации в *BRCA1* и *BRCA2* гените върху развитие на рак на гърдата и рак на простатата **Договор № 27/2007 г. на МУ – София – оценка на СМН – ДОБРА**
5. Скринингов ВЕТХ анализ за нискомолекулни биомаркери при пациенти с установен карцином на пикочния мехур или карцином на простатната жлеза **Договор № 8/2006 г. на МУ – София – оценка на СМН – ОТЛИЧНА**
6. Анализ на полиморфни варианти в кандидат гени, асоциирани с рак на простатата **Договор № 51/2009 г. на МУ –София, оценка на СМН – ОТЛИЧНА**
7. Асоциация на полиморфни варианти в регулаторни гени на андрогенната биосинтеза (*CYP1B1*, *CYP19* и *SRD5A2*) с увеличен риск от развитие на рак на простатата в България - **Договор № 27-Д/2008 г. на МУ –София – ръководител на проекта – оценка на СМН – ОТЛИЧНА**
8. Practical Consortium – 2010 –до настоящия момент