

# **Diagnosztikus problémák és prognosztikai faktorok prosztatatarákban**

Ph.D. Tézis

**Dr. Tarján Miklós**

Témavezető:

Prof. Dr. Cserni Gábor

SZTE - Patológiai Intézet

Bács-Kiskun Megyei Kórház – Patológiai Osztály

Central Hospital Falun, Sweden

Department of Pathology and Clinical Cytology

Szeged

2013

## 1. Bevezetés

A prosztatatarák (Pca) a leggyakrabban előforduló rosszindulatú daganat férfiakban, elsősorban a nyugati társadalmakban. A fejlett nyugati országokban, a 90-es évektől kezdődően, a széles körben elterjedt prosztata specifikus antigén (PSA) szűrésnek és az azt követő szisztémás biopsziás mintavételnek köszönhetően jelentős emelkedés tapasztalható az incidenciában. Érdekes módon, ennek ellenére, a mortalitásban nem történik meg a hasonló mértékű változás. A PSA szűrés elterjedése lehetővé tette, hogy a betegséget még időben diagnosztizálják és a betegek nagy részének esélye legyen a kuratív kezelésre, ami elsősorban a radikális prosztatektómiát (RP) jelenti.

Különböző hisztológiai tényezőket javasolnak a betegség prognózisának meghatározására. Ezek közül a legfontosabbak a hisztológiai grádus (Gleason score), a hisztológiai típus, a sebészi szél állapota, az extracapsuláris terjedés (ECE) jelenléte, a vesicula seminalis érintettség, a tumor nagysága, a patológiai stádium, a nyirokcsomók állapota és az érbetörés. A tapasztalat azonban az, hogy ezen morfológiai paraméterek pontos meghatározása ellenére sem jósolható meg minden esetben a betegség lefolyása. Ezért szükségességét érezzük további prognosztikai markerek felismerésének és igazolásának, hogy pontosabban tudjuk megbecsülni a betegség lefolyását és elkerüljük a betegek esetleges túl-, vagy alulkezelését.

Nemzetközi tanulmányok azt igazolják, hogy azok a Pca-k, amelyek duktális megjelenést mutatnak, agresszívebben viselkednek, mint azok, amelyekben ez nem igazolható. Biopsziás mintákban a duktális jelleg felismerése nem egyszerű, hiszen a minta nagysága nem teszi lehetővé, hogy az egész daganatot vizsgáljuk, ezért jogos igény, hogy olyan biomarkereket találjunk, amelyek segítik a pontos tumor típus meghatározását preoperatív mintákon is.

A sikeres kezelés szempontjából lényeges kérdés, hogy a daganat a diagnózis pillanatában a szervben belül helyezkedik el vagy már azon túlterjedt. Ennek megítélésére az általában használt klinikai prognosztikai paraméterek (szérum PSA szintjének mérése, rektális digitális vizsgálat), a Gleason score, továbbá a fejlett képalkotó vizsgálatok (pl. MRI) sem mindig elegendők. Szem előtt kell azt is tartani, hogy nem mindenhol tudnak alkalmazni drága vizsgálati eljárásokat arra, hogy igazolják az ECE-t.

## **2. Célkitűzések:**

**2.1** Annak vizsgálata, hogy azok a Pca-k, amelyek duktális differenciációt mutatnak, valóban agresszívebben viselkednek-e, mint azok, amelyek tiszta acináris megjelenésűek.

**2.2** A munkánkban 9 különböző immunhisztokémiai markert (Ki-67, p53, p16, p27, Cox-2, EGFR, tenascin-C, chromogranin A, bcl-2) teszteltünk abból a célból, hogy alkalmasak-e a duktális megjelenés igazolására.

**2.3** A hisztológiai módszer tökéletesítése annak érdekében, hogy preoperatív biopsziában el tudjuk különíteni a duktális rákot (DAP) az acináristól (AAP).

**2.4** Arra keressük a választ, hogy transzrektális ultrahang vezérelt szextáns vagy oktáns biopsziák elemzésével lehetőség van-e információt szerezni az ECE jelenlétéről, azaz a pozitív biopsziák száma alapján tudunk-e segíteni az urológusnak a RP indikációjában.

**2.5** A meglévő prognosztikai faktorok segítségével próbálunk kidolgozni egy hasznos kombinációt, amelynek ismerete pontosabb terápiás tervezést tesz lehetővé a klinikus számára.

## **3. Betegek és módszerek:**

### **3.1 Beteganyag**

Tanulmányunkhoz 110 RP-án átesett beteg mintája állt rendelkezésre, akiket 2000. január - 2006. december között operáltak kórházunkban. Ezek közül 21 esetben bilaterális kismedencei lymphadenectomiát is végeztek. Minden esetben a preoperatív stádiumfelmérés szerven belüli tumort igazolt. A lényeges hisztológiai morfológiai adatok mellett egyéb fontos klinikai információkat gyűjtöttük össze. Minden egyes betegnél figyelembe vettük a preoperatív, posztoperatív és a legutolsó PSA értékeket. Információkat szereztünk a különböző nem sebészi terápiás beavatkozásokról.

Adatokat gyűjtöttünk az esetleges lokális recidíváról, lokoregionális nyirokcsomó és/vagy távoli áttétekről, illetve a biokémiai visszaesésről (PSA $\geq$ 0,2 ng/ml). A fent említett szempontok alapján a betegek követése 2010. augusztus 31-én zárult le, ami 5,1 éves (4-10 év) átlagos követési időt jelentett.

Egy korábbi időszakból (2000. január-2005. augusztus), 84 betegben elemeztük a transzrektális ultrahang vezérelt szextáns (60 eset) vagy oktáns (24 eset) biopsziákat.

### **3.2 Szövetteni vizsgálat**

A RP-ás mintákat, melyeket teljes egészében beágyaztunk egyrésről hagyományos óriásmetszet (10x8 cm-es blokk) technikával, másrészt intézetünkben kifejlesztett háromdimenziós (3D) technikával vizsgáltuk. Ezen kombinált módszer alkalmas arra, hogy morfológiai alapon nagyobb biztonsággal elkülönítsük a DAP-ot az AAP-tól. A duktális jelleg meghatározásánál figyelembe vettük az irodalomban már leírt szövettani kritériumokat, melyek alapján papilláris, cribriform és solid DAP-ok ismertek. A 3D vizsgálattal a DAP morfológiai kritériuma a következő: torz, szabálytalan alakú és/vagy számtalan duktális képlet jelenléte periurethrális és/vagy subcapsuláris lokalizációban; ezek a tumorban vagy annak közelségében helyezkednek el. Ezen feltételek alapján meghatározott tiszta DAP (1 eset) és kevert, DAP-AAP esetek között nem tettünk különbséget, és a továbbiakban összevonva, DAP-ként tárgyaltuk őket. A duktális differenciáció kiterjedését nem vizsgáltuk.

A hagyományos óriásmetszet technika lehetővé teszi azt is, hogy pontosan meghatározzunk egyéb szövettani jellemzőket, így a daganat pontos differenciációját (Gleason score), multifokálisát, az egyes tumorgócok méretét, az ECE-t, a radikálisítást, az érbetörést és a vesicula seminalis érintettségét. Ezen morfológiai paraméterek mellett az intraepithelialis neoplasia (PIN) jelenlétét is rögzítettük. A teljes anyagot (84 preoperatív biopszia és 110 RP minta) retrospektív módszerrel vizsgáltuk.

### **3.3 Immunohisztokémiai vizsgálat**

Az immunohisztokémiai vizsgálatához úgynevezett többszörös biopsziás blokkot, szöveti multiblokkot – tissue micro array (TMA)- alkalmaztunk, és a mintákat az egyes beágyazott prosztataektómiás blokkból a legrepresentatívabb tumoros területből vettük. Kilenc különböző immunohisztokémiai markert vizsgáltunk. Ki-67, p53, p16, p27 és bcl-2 esetekben a 10%-os határértéket vettük figyelembe annak érdekében, hogy elkülönítsük a magasán és alacsonyan expresszáló csoportokat. A chromogranin A esetében szemikvantitatív módszert alkalmaztunk, melynek lényege, hogy 400-szoros nagyításon megszámláltuk a sejteket “a legaktívabb területen”. Ez alapján négy csoportot alkotunk 0-tól 3-ig (0=negatív; 1=1-4 pozitív sejt; 2=5-19 pozitív sejt; 3=20 vagy több pozitív sejt). A Cox-2 vizsgálatában a festődés intenzitása alapján egy négyes skálát (0, negatív; 1, gyenge; 2, közepes; 3, erős) alkalmaztuk. Ezekben az esetekben a 2 és 3 értékeket vettük pozitívnak.

Tenascin C esetében a tumoros stromában és periglandulárisan is három csoportot alkotva (0, negatív/normál; 1, enyhe/közepes; 2, erős) vizsgáltuk a festődés intenzitását, és az 1, valamint a 2 értékeket számítottuk pozitívnak. Epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) esetében négyes skálát (0= negatív; 1= a tumorsejtek <10%-ban teljes membrán pozitivitás vagy a tumorsejtek >10%-ban inkomplett pozitivitás; 2= enyhe, közepes membrán pozitivitás a tumorsejtek >10%-ban; 3= erős pozitivitás a tumorsejtek >10%-ban) vettünk figyelembe. Bármilyen 10% feletti komplett festődést már pozitív eredménynek tekintettünk.

### **3.4 A biomarker tanulmány statisztikai elemzése**

Az egyes paraméterek és a biomarkerek AAP-hez és DAP-hoz való viszonyának értékeléséhez khi-négyszet ( $\chi^2$ ) tesztet alkalmaztunk. Azokban az esetekben, ahol az esetek száma kevesebb volt ötnél, Fisher féle egzakt próbát használtunk. Logisztikus regressziós modell segítségével minden egyes biomarker esetében meghatároztuk az esélyhányadost (odds ratio) AAP és DAP vonatkozásában. Az egyváltozós analízis során szignifikáns különbséget mutató biomarkerek esetében a többváltozós logisztikus regressziós modell segítségével kiválasztottuk a legjelentősebb biomarkereket. ROC (receiver-operating characteristic) görbe segítségével ábrázoltuk a három kiválasztott biomarker AAP és DAP elkülönítésében mutatkozó értékét, és

Hanley szerint értékeltük a görbe alatti területet és annak 95%-os konfidencia intervallum (CI) értékét. A három kiválasztott biomarker elkülönítő képességét a DAP megjósolására 24 preoperatív mintán is teszteltük, aminek kapcsán a három biomarker 8 féle különböző kombinációját állítottuk fel.

### **3.5 ECE tanulmány statisztikai elemzése**

84 betegben elemezzük a transzrektális ultrahang vezérelt szextáns (60 eset) vagy oktáns (24 eset) biopsziákat, és minden esetben meghatározzuk a pozitív biopsziák számát. A pozitív biopsziák száma és a prosztatektómiás mintákban igazolt ECE közötti összefüggést khi-négyzet ( $\chi^2$ ) teszttel vizsgáltuk, először 168 (84 beteg) prosztata oldal tekintetében, majd következő lépésben a domináns prosztata (a legnagyobb tumorgócot tartalmazó) oldal vonatkozásában is. Mindkét esetben meghatároztuk a specificitást, szenzitivitást és a pozitív valamint negatív prediktív értékeket. 10 ng/ml-nél magasabb preoperatív PSA értékeket és 7 vagy annál nagyobb Gleason score-t az irodalmi adatok alapján magas-rizikójú paraméternek tekintettük. Ezen paramétereket kombináltuk a pozitív biopsziák számával és khi-négyzet próbával elemeztük a prediktív értéküket az ECE megítélésének vonatkozásában.

### **3.6 Etika**

A tanulmányra, a helyi előírásoknak megfelelően, engedélyt kaptunk az Uppsala-Örebro Egészségügyi Régió Etikai Bizottságától (Dnr:2010/087). Minden túlélő beteg írásos beleegyezést adott a szövettani minták és az adatok előre meghatározott kutatáscélú felhasználásához.

## **4. Eredmények**

### **4.1 DAP és AAP összehasonlítása**

Kombinált, 3D és hagyományos óriásmetszet technikával 13 (12 kevert és 1 tiszta forma) esetben igazoltunk DAP-ot. A maradék 97 esetben AAP-t találtunk. DAP-ban a következő paraméterek fordultak elő szignifikánsan nagyobb gyakorisággal: pozitív rektális digitális vizsgálat ( $p=0.0049$ ), transzrektális ultrahanggal meghatározott nagyobb prosztata méret ( $p=0.0021$ ), pT3 vagy előrehaladottabb daganat ( $p<0.0001$ ), legnagyobb tumorgóc  $>20\text{mm}$  ( $p=0.0020$ ), magas grádusú PIN ( $p=0.0079$ ), Gleason

score  $\geq 7$  ( $p < 0,0001$ ), pozitív sebési szél ( $p = 0,0219$ ), ECE ( $p < 0,0001$ ), érinvázio ( $p = 0,0033$ ), ondóhólyag érintettség ( $p = 0,0213$ ), biokémiai/lokális visszaesés, regionális nyirokcsomó- és távoli metasztázis ( $p < 0,0001$ ). AAP-ban a következő paraméterek fordultak elő szignifikánsan nagyobb gyakorisággal: előfordulási arány, pT1 és pT2 daganat ( $p < 0,0001$ ), legnagyobb tumorgóc  $< 20\text{mm}$  ( $p = 0,0020$ ), Gleason score  $\leq 6$  ( $p < 0,0001$ ). Nem találtunk szignifikáns statisztikai különbséget a betegek életkorában, a pre- és posztoperatív PSA szintben, a tumoros góccok számában és a tumor kiterjedésében.

A RP-ás minták részletes feldolgozása során a DAP tumorokban mindössze csak 15%-ban (2/13), AAP esetében pedig 73%-ban (71/97) igazoltuk a daganat szervben belüli elhelyezkedését. Az átlagos 5,1 éves követési idő alatt az összes DAP-os betegben igazolható volt a betegség valamilyen fokú progressziója: biokémiai visszaesés 8 esetben, csak nyirokcsomó metasztázis 2 esetben és távoli áttét 3 esetben. Egy beteg a betegség szövödménye következtében meghalt. Ezzel szemben a 97 AAP-s beteg közül 86 (89%) esetben nem volt progresszió. A maradék 11 esetben is csak a PSA szint emelkedésével igazolt biokémiai visszaesés mutatkozott. Ezen AAP-s tumorokra a daganat nagy kiterjedése volt jellemző, vagy legalább 25 mm-es legnagyobb tumorgóccal vagy extenzív többgócúsággal. Az AAP-s betegek közül 3 halálesetet regisztráltak, amelyek egyike sem volt összefüggésbe hozható az alapbetegséggel.

#### **4.2 Rossz prognózisra utaló biomarkerek elemzése**

Figyelembe véve a korábban leírt kritériumokat, Ki-67-tel a DAP-ok 69%-ban, az AAP-k 26%-ban mutattak expressziót legalább a sejtek 10%-ában. Továbbiakban az AAP tumorok chromogranin A-val 18%-ban, EGFR-rel 5%-ban, p53-al 12%-ban mutattak pozitivitást. Ugyanakkor a DAP tumorok ugyanezen markerekkel 69, 46, illetve 77%-ban voltak pozitívak. A tenascin C AAP tumorokban stromális festődést 5%-ban, periglanduláris festődést 74%-ban mutatott, míg ugyanezen lokalizációban ductális tumorokban a tenascin C expressziója 23%, illetve 100% volt. A p27, cox-2, p16 és bcl-2 vizsgálatokban statisztikailag szignifikáns különbséget nem találtunk a két tumortípus között. A többváltozós (adjusted) analízis alapján megállapítható, hogy a vizsgált biomarkerek közül három képes legjobban a két

tumortípus elkülönítésére. Az EGFR-nek 11-szeres (aOR=11,25; 95% CI: 1,71-74,10), a chromogranin A-nak 12-szeres (aOR=11,56; 95% CI: 2,04-65,38), és a p53-nak 21-szeres (aOR=20,83; 95% CI: 3,71-116,94) a megkülönböztető ereje, és a három biomarker kombinációjával 94% (AUC 0,94; 95% CI: 0,88-0,99) pontossággal elkülöníthető a két daganat. Ezen biomarkerek kiváló prediktív értékét a 24 preoperatív (12 AAP és 12 DAP eset) biopszián elvégzett statisztikai elemzéssel is alátámasztottuk. Megállapítható volt, hogy DAP kockázata a pozitív biomarkerek számával emelkedik. Így ha mindhárom marker pozitív, majdnem 100%, kettő pozitivitása esetén 91-95%, egy pozitív eredmény esetén 46-61%, és ha mindegyik negatív, akkor csak 7% az esély a DAP-ra.

### **4.3 ECE előrejelzése**

A 168 prosztata oldal vizsgálatával, a három, illetve négy core biopsziából 39 esetben (23,2%) a biopsziák mindegyike daganatmentes volt, 67 esetben (39,8%) egy, 39 esetben (23,2%) kettő, és 23 esetben (13,6%) három biopsziában volt daganat. A vizsgálat során szignifikáns kapcsolat mutatkozott a pozitív biopsziák száma és a szövettanilag igazolt ECE között ( $p=0,0003$ ). Amikor egy sem vagy legfeljebb egy biopszia tartalmazott daganatot, ECE csak 5,1%-ban, illetve 13,4% -ban volt a RP anyagában. Ezzel szemben, amikor kettő, illetve három biopszia volt érintett már 35,8% és 65,2%-ban volt jelen ECE. A domináns oldal vizsgálatával is hasonló eredményt kaptunk. ECE az esetek 5,7%-ban volt jelen, ha csak egy biopszia tartalmazott daganatot. Ezzel szemben két minta érintettsége esetén 20,6%-ban, három biopszia pozitivitása esetén 60%-ban igazoltunk ECE-t ( $p=0,008$ ). A fentiek alapján megállapítható, hogy ha legfeljebb egy biopsziában van daganat, az jelentősen alacsonyabb rizikót jelent az ECE-re, mint amikor kettő vagy három minta érintett. Így a további statisztikai elemzéskor az érintetlen vagy legfeljebb egy érintett minta eseteit negatív teszt eredménynek tekintettük. Ezzel szemben, amikor kettő vagy három minta volt érintett, az eseteket a statisztikai vizsgálat kapcsán pozitív eredménynek minősítettük. Ezen elvek alapján a 168 prosztata oldal elemzésekor a pozitív prediktív érték 46,7%, míg a negatív prediktív érték 89% volt. A domináns oldal elemzésével ugyanezen paraméterek vizsgálatokor 37%-ot, illetve 94%-ot kaptunk.



Amennyiben a pozitív biopsziák számát kombináltuk a preoperatív PSA és biopsziás Gleason score értékeivel, növelni tudtuk a vizsgálat prediktív értékét. Abban az esetben, amikor 10 ng/ml-nél kevesebb preoperatív PSA érték mellett a Gleason score 7-nél kisebb volt, és nem több, mint egy biopszia tartalmazott csak daganatot, a daganat minden esetben a prosztatán belül volt. Ezzel szemben, amikor a PSA érték  $\geq 10$  ng/ml-nél, a Gleason score  $\geq 7$ -nél és egyenél több biopsziás minta tartalmazott daganatot, 77%-ban találtunk ECE-t.

## 5. Megbeszélés

Amikor 1967-ben a DAP-ot először “endometriális karcinómaként” írták le az alapján, hogy a szövettani képe emlékeztetett az endometriális karcinómára, azt feltételezték, hogy ez a típusú daganat a verumontanumból, azaz a Müller csőből indul ki. Ma már tudjuk, hogy ez nem így van és ezért az endometriális karcinóma elnevezés már nem helyén való.

Az irodalmi adatok alapján a DAP tiszta formájának gyakorisága 0,4-1%-ra tehető, míg a kevert AAP/DAP tumorok gyakoriságát 5% felső határig említik. Vizsgálatunkban, mi sokkal magasabb arányban, 11,8%-ban találtunk dukális differenciációt, ami talán a nem szokványos 3D és a hagyományos óriásmetszet technika kombinációjából származó jobb vizualizációval indokolható. Ugyanezzel magyarázható egy másik lényeges észrevétel, hogy az általunk igazolt 13 DAP esetből 12 elsősorban a prosztata perifériájára lokalizálódott.

Számos differenciáldiagnosztikus probléma nehezíti a DAP diagnózist core biopsziás mintában azáltal, hogy a tumornak csak egy kis részletét láthatjuk. A legnagyobb problémát a cribriform-papilláris high-grade PIN elkülönítése jelenti, bár van néhány szövettani jellemző, ami segíthet a pontos diagnózisban. A DAP gyakran tartalmaz igazi papilláris struktúrákat fibrovasculáris tengellyel, míg PIN-ben ez hiányzik. Továbbá a DAP mutathat stromális fibrózist, haemosiderin lerakódást és perineurális inváziót. Végül a DAP felépülhet igen nagy egymáshoz szorosan illeszkedő mirigyekből, míg PIN-ben a mirigyek eloszlása és a nagysága inkább a benignus mirigyekhez áll közelebb. A másik lényeges probléma az intraduktális karcinóma

(IDC) kérdésköre, amiben azoknak az állásfoglalását támogatjuk, akik azt mondják, hogy ezt a szövettani kategóriát újabban DAP-nak kell tekintenünk.

Az irodalmi adatok többsége arról számol be, hogy a DAP sokkal agresszívabb formája a prosztatataráknak, mint az AAP. Ezen adatok alapján az 5 éves túlélés mindössze 15-43% DAP-os betegekben. Továbbá a betegek 25-40%-ában már metasztázis van a diagnózis pillanatában, hozzáátéve, hogy a metasztázis helye is néha szokatlan a prosztatatarákban, mint például here, bőr, hímvesztő és egyéb zsigeri szervek. Tanulmányunk is számos adattal támasztja alá, hogy a dukttális differenciáció jelenléte egy agresszívabb lefolyást jelent, továbbá a követési idő alatt kizárólag csak DAP-os betegekben észleltünk zsigeri metasztázist (2 eset), lokoregionális nyirokcsomó áttétet (2 eset), csontmetasztázist (2 eset) és prosztatatarákkal összefüggő halálozást (1 eset).

Az irodalomban nem találtunk olyan átfogó dolgot, amely a DAP immunohisztokémiai elkülönítésével foglalkozott volna, bár néhány közlemény fellelhető, amelyben arról számolnak be, hogy esetleg bcl-2 vagy CK20 pozitivitás jellemző lenne a DAP-ra, de egy specifikus immunohisztokémiai panelt eddig még nem sikerült felállítani. Munkánkban rámutattunk arra, hogy chromogranin A, p53, EGFR és a Ki-67 fokozottabb expressziója kapcsolatba hozható a dukttális differenciáció jelenlétével, ami alapján ezek ígértes immunohisztokémiai markereknek tünnek a dukttális fenotípus igazolására.

Néhány szerző arra mutatott rá, hogy a neuroendokrín differenciáció (NED) jelenléte prosztatatarákban kapcsolatban van olyan prognosztikus faktorokkal (pl. magasabb Gleason score), amelyek az agresszívabb biológiai lefolyást jelzik. A neuroendokrín sejtek nagyobb számát találták azokban a daganatokban, melyek már előrehaladottabb stádiumban voltak, és különösen azokban a betegekben, akik androgén szuppressziós kezelésben részesültek.

Feltételezett teória alapján azok a tumorok, amelyek az össejthierarchia magasabb fokán álló, érettebb progenitor sejtől indulnak ki, azok tisztább, monoklonális fenotípust mutatnak, míg azok a daganatok, amelyek egy pluripotens össejtből fejlődnek ki egy heterogén, kevert fenotípust reprezentálnak. Ez magyarázhatja a

neuroendokrin sejtek nagyobb jelenlétét differenciálatlanabb Pca-ban és talán a kapcsolatát a dukális differenciációval.

A p53 fehérje egy transzkripciós faktor, amelynek kulcs szerepe van a szövetek integritásának fenntartásában a sejtek DNS-tartalmát ért sérülés esetén. A p53 tumor szuppresszor aktivitása annak köszönhető, hogy a DNS károsodás mértékétől függően beindítja a hiba kijavítását vagy súlyosabb esetben leállítja a sejtciklust és apoptózist indukál, ily módon a „genom őre-ként” védelmezi a szervezetet.

Tumor szuppresszor hatásai különböző mechanizmusok révén valósulnak meg. Ez lehet a sejtciklus megállítása, az apoptózis kiváltása, a DNS hibák javításának serkentése és a sejtek öregedésének szabályozása. A legtöbb humán tumor esetében, így Pca-ban is bebizonyították, a p53 tumor szuppresszor gén vagy a p53-as út vonal hibás működését. A TP53 gén mutációja ismert késői esemény a Pca carcinogenezisében, de nem teljesen tisztázott, hogy vajon a vad típusú p53 jelentős mértékben expresszálódik-e a Pca korai stádiumában is. P53 nukleáris pozitivitás kapcsolatba hozható a high grade tumorokkal, az előrehaladottabb stádiummal, és bizonyították a negatív prognosztikus értékét, amit munkánkkal is alá tudunk támasztani.

Az EGFR tirozin-kináz aktivitással rendelkező transzmembrán fehérje, mely fiziológiásan fontos szabályozó szerepet tölt be a sejtproliferáció, a migráció és az apoptózis biológiai folyamataiban. A tirozin-kináz jelpálya szabályozatlan működése a tumorsejtek megnövekedett proliferációját és túlélését, valamint emelkedett inváziós és áttétképző készséget eredményez. Ezen jelátviteli utak rendellenes működését számos szolid tumorban írták már le, így Pca-ban is, amelyben az EGFR fokozottabb expressziója összefüggésbe hozható a rosszabb klinikai kórlefelgyással, a magasabb Gleason score-ral és a daganat hormonrefrakter fenotípusával.

Munkánk során statisztikailag igazolni tudtuk, hogy a chromogranin A, p53 és EGFR kombinációjával lehetőség van a DAP tumorokat elkülöníteni az AAP tumoroktól, és ennek elsősorban a preoperatív biopsziák vizsgálatában van jelentősége.

A várható radikalitás pontos preoperatív meghatározása, azaz hogy a daganat még szerven belül helyezkedik-e el, egy lényeges klinikai információ a kezelés megtervezéséhez, különösen azoknál a betegeknek, akiknél idegmegtartó prosztatektómiát és/vagy neoadjuváns terápiát terveznek. Általánosan elfogadott tény, hogy a pozitív sebészi szél az kapcsolatba hozható a betegség specifikus túléléssel.

Ismereteink szerint Gancarczky és munkatársai 1510 beteget magába foglaló tanulmányuk jelenti a legátfogóbb munkát, melyben igazolták azt, hogy a biopsziákban, a daganatszövet aránya százalékban kifejezve a legerősebb független paraméter az ECE megítélésére. Tőlük függetlenül mások is leírták, hogy a biopsziákban a daganat százalékos aránya, a kezelés előtti PSA érték és a biopsziás Gleason score a három legerősebb prediktív paramétere a betegség lokális kiterjedésének, így a várható sebészi szél vonatkozásban is van jósló képessége.

Tigrani és munkatársai 108 RP-án átesett beteg vizsgálatával azt igazolták, hogy a preoperatív paraméterek közül a pozitív biopsziák száma a legerősebb prognosztikus faktor a sebészi szél állapotának megjóslására. Ez nem meglepő, hiszen tudjuk, hogy a PSA emelkedés nem teljesen specifikus a prosztata rosszindulatú daganatára. Nagyobb szerepe elsősorban a szűrésben és a betegkövetésben van, és nem a várható radikalitás megítélésében, bár munkánkban bizonyos összefüggést találtunk a preoperatív PSA értékek és az ECE jelenléte között.

Bemutattuk továbbá, hogy a legalább 6 biopsziából álló transzrektális ultrahang vezérelt mintavétel alkalmas módszer lehet az ECE jelenlétének megbecsülésére. A prosztata oldalak vizsgálata igazolta, hogy ha kettő vagy három biopszia pozitív, akkor sokkal magasabb a rizikója az ECE-nek, mint akkor, ha legfeljebb csak egy minta tartalmaz daganatot. Igazoltuk, hogy ha a három-négy biopsziából kettő vagy három tartalmaz daganatot, a vizsgálat pozitív prediktív értéke alacsony, 37%, illetve 46.7%. Ugyanakkor ezen vizsgálat negatív prediktív értéke magas: 89%, illetve 94%, ha a három-négy biopsziából egyben sem vagy legfeljebb egyben van daganat.

Az irodalomból jól ismert, hogy bizonyos eltérés lehet a preoperatív és a végleges Gleason score között. Munkánkban bemutattuk, hogy ez a különbség csökkenthető volt a preoperatív biopsziák számának növelésével. Sextáns biopsziák esetében 57.6%, oktáns biopsziáknál 79.2% volt az egyezés.

Továbbá, az is általánosan elfogadott tény, hogy a magas Gleason score (7 vagy több) rosszabb prognózist jelent, míg alacsonyabb (5-6) esetén sokkal jobb az

életkilátások. Ezt alátámasztva, vizsgálatunkban pozitív összefüggést találtunk a preoperatív Gleason score és ECE jelenléte között.

A klinikai gyakorlatban különböző nomogramokat alkalmaznak a várható patológiai stádium és a betegség progresszió megbecslésére; ezek alapját képezhetik a kezelés megtervezésének. Svédországban három adatot vesznek figyelembe, úgy, mint a klinikai stádiumot, biopsziás Gleason score-t, és a PSA-t, ezek mértéke alapján alacsony, közepes és magas rizikójú csoportokat definiálnak, amelyekben a várható 10 éves betegségmentes túlélés 83, 46, illetve 29%-os.

A legismertebb algoritmus, amely a várható patológiai stádium megítélésére alkalmas, a hamburgi. Ez a rendszer is elsősorban a biopsziás Gleason score-t veszi alapul arra, hogy a lokoregionális nyirokcsomók állapotát megbecslje.

Briganti és mtsai, munkájukban 278 RP-án átesett beteg anyagait dolgozták fel, akiknél egyidejűleg nyirokcsomó disszekció is történt, és azt igazolták, hogy a biopsziás Gleason score mellett a daganatszövet százalékosan kifejezett éréré a két legerősebb paraméter a nyirokcsomó állapot megbecslésére. Ők egy olyan preoperatív nomogramot alkottak, amely 83% pontossággal megítéli a nyirokcsomók állapotát. Később Brigantiék eredményét Heidenreich és mtsainak 499 RP mintán végzett vizsgálata is megerősítette.

Munkánk ezen részének egyik fő célja az volt, hogy bizonyos preoperatív paraméterek alkalmazásával, olyan hasznos kombinációt találjunk, amellyel elég jól megítéljük a prosztata kapszula érintettségét. A pozitív biopsziák számát, a preoperatív PSA-t és a biopsziás Gleason score-t kombinálva javítani tudtuk a módszer prediktív értékét az ECE vonatkozásában.

## **6. Összefoglalás, következtetés**

**6.1** Eredményeink megerősítik a korábbi megfigyeléseket, hogy a ductális differenciáció jelenléte prosztatarákban kapcsolatba hozható a kedvezőtlen prognosztikai változókkal és kórlefolyással.

**6.2** Az általunk vizsgált 9 immunohisztokémiai markerből a chromogranin A, p53 és az EGFR fokozott expresszióját sikerült kimutatni a ductális differenciációt mutató

daganatsejtekben. Ezen biomarkerek alkalmazása nem csak egy hasznos kiegészítő eljárás lehet majd a prosztatapatológiában, hanem egy alkalmas eszköz is a kedvezőtlen lefolyás megítélésére.

**6.3** A 3D hisztológiai módszer használata RP-ás mintán, kombinálva a fent említett immunhisztokémiai markerekkel alkalmasak arra, hogy elég jó pontossággal el tudjuk különíteni a DAP-ot az AAP-tól. Ezen tudás birtokában lehetőség van a terápia tervezésére is, ami azt jelenti, hogy bizonyos AAP esetekben alkalmazhatni lehetne a kevésbé radikális eljárásokat, míg kedvezőtlenebb lefolyású DAP-ban szükség lenne sokkal hatásosabb kezelési eljárásokat kifejleszteni.

**6.4** Vizsgálatunkban igazoltuk, hogy transzrektális ultrahang vezérelt szisztémás biopszia elemzésével hasznos információt kaphatunk a prosztatarak kiterjedéséről, és az ECE jelenlétéről. A prosztata oldalainak vizsgálatával megállapítottuk, hogy ha három (sextáns biopszia esetén) vagy négy (oktáns biopszia esetén) biopsziából, legfeljebb egy biopsziában van daganat, az jelentősen alacsonyabb rizikót jelent az ECE-re, mint amikor kettő vagy három minta érintett. Amennyiben egy sem vagy legfeljebb egy biopszia érintett a három vagy négy core biopsziából, nagy valószínűséggel azon a vizsgált oldalon nem várható extracapsuláris terjedés, figyelembe véve, hogy a vizsgálat negatív prediktív értéke 94%.

**6.5** Amennyiben ezen információkat (lásd 6.4) kombináltuk a preoperatív PSA és biopsziás Gleason score értékeivel, növelni tudtuk a vizsgálat pozitív prediktív értékét is az ECE megítélésére. Ezen információk hasznosak lehetnek a terápia megtervezésekor, különös tekintettel az idegmegtartó RP-ákra.

## **7. Köszönetnyilvánítás**

Köszönetemet fejezem ki elsősorban témavezetőmnek, Cserni Gábor professzornak, a Bács-Kiskun megyei kórház Patológiai osztály vezetőjének, szakmai tanácsaiért és személyes támogatásáért, amellyel mindvégig segítette tudományos munkámat.

Köszönöm jelenlegi főnökömnek Tot Tibor professzornak, hogy hasznos tanácsaival támogatta a tudományos tevékenységemet, és osztályán lehetővé tette, hogy kiváló szakmai körülmények között végezhessem a munkámat.

Köszönet illeti a tudományos munkában és a dolgozatok megírásában résztvevőket: Tabár László és Hsiu-His Chen professzorokat, Wendy Wut, Anna Lenngrént, Peter B. Deant, Dan Hellberget, akik nélkül ez az értekezés nem jöhetett volna létre.

Köszönettel tartozom a jelenlegi munkahelyem összes dolgozójának, akik magas fokú szakmai felkészültségükkel hozzájárultak a tudományos munka sikerességéhez.

Nem utolsó sorban, hálás vagyok feleségemnek, gyermekeimnek és szüleimnek, hogy szeretetükkel, türelmükkel és példamutatásukkal szilárd hátteret biztosítottak számomra.

#### **Az értekezés alapjául szolgáló publikációk:**

- I. Tarján M,** Tot T. Prediction of extracapsular extension of prostate cancer based on systematic core biopsies. *Scand J Urol Nephrol* 2006;40:459-64. **IF(2006): 1,089**
  
- II. Tarján M.** Prognostic significance of focal neuroendocrine differentiation in prostate cancer: cases with autopsy-verified cause of death. *Indian J Urol* 2010;26:41-45.
  
- III. Tarján M,** Lenngrént A, Hellberg D, Tot T. Immunohistochemical verification of ductal differentiation in prostate cancer. *APMIS* 2012;120:510-18. **IF(2012): 2,068**
  
- IV. Tarján M,** Chen H-H, Tot T, Wu W, Lenngrént A, Dean PB, Tabár L. Improved differentiation between ductal and acinar prostate cancer using 3-dimensional histology and biomarkers. *Scand J Urol Nephrol* 2012;46:258-66. **IF(2012): 1,007**

