

# ULOGA PROINFLAMATORNOG CITOKINA INTERLEUKINA-6 U RAZVOJU I PROGRESIJI ADENOKARCINOMA PROSTATE

---

Miličević, Nevenka

Doctoral thesis / Disertacija

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj  
Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine / Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:809289>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

**Nevenka Miličević**

**ULOGA PROINFLAMATORNOG CITOKINA  
INTERLEUKINA-6 U RAZVOJU I  
PROGRESIJI ADENOKARCINOMA  
PROSTATE**

**DISERTACIJA**

**Osijek, 2014.**

## **USTANOVA I SURADNICI**

Disertacija je izrađena na Klinici za urologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek, Odjelu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek i Zavodu za patologiju i forenzičku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek. Disertacija je dio projekta „Imunološki čimbenici razvoja i progresije karcinoma prostate“ odobrenog od strane Ministarstva obrazovanja, znanosti i sporta.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Josip Galić

## ZAHVALA

Zahvaljujem se mentoru prof. dr. sc. Josipu Galiću te svim djelatnicima Klinike za urologiju i Odjela za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek. Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr. sc. Milanki Mrčela i djelatnicima Zavoda za patologiju i forenzičku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Hvala svima onima koji su svojom podrškom i savjetima doprinijeli izradi ove disertacije.

Hvala mojoj prijateljici Vlasti.

Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji.

## SADRŽAJ

USTANOVA I SURADNICI .....	I
ZAHVALA .....	II
SADRŽAJ .....	III
POPIS OZNAKA I KRATICA .....	V
1. UVOD .....	1
1.1. ANATOMIJA I HISTOLOGIJA PROSTATE .....	2
1.2. HIPERPLAZIJA PROSTATE .....	3
1.3. UPALA PROSTATE .....	4
1.4. PROSTATICNA INTRAEPITELNA NEOPLAZIJA .....	4
1.5. KARCINOM PROSTATE .....	6
1.5.1. Epidemiologija i etiologija karcinoma prostate .....	6
1.5.2. Klinička slika karcinoma prostate .....	7
1.5.3. Patohistološka slika karcinoma prostate .....	8
1.5.4. Procjena stupnja i stadija karcinoma prostate .....	10
1.5.5. Dijagnostički postupci kod karcinoma prostate .....	14
1.5.6. Liječenje bolesnika s karcinomom prostate .....	20
1.6. CITOKINSKA I ENDOKRINA SIGNALIZACIJA KARCINOMA PROSTATE	23
1.7. INTERLEUKIN-6 .....	25
2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA .....	32
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	33
4. ISPITANICI I METODE .....	34
4.1. ISPITANICI .....	34
4.2. METODE ISTRAŽIVANJA .....	35
4.2.1. Analiza razine IL-6 u serumu .....	35
4.2.2. Patohistološka analiza uzoraka tkiva prostate .....	35
4.2.3. Imunohistokemijska analiza ekspresije IL-6 u uzorcima tkiva prostate.....	35
4.3. STATISTIČKA OBRADA DOBIVENIH PODATAKA .....	38
5. REZULTATI .....	39
5.1. DESKRIPTIVNI PODACI .....	39

5.2. REZULTATI ANALIZE SERUMSKE RAZINE IL-6, tPSA, fPSA I f/tPSA .....	40
5.2.1. Rezultati analize serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na dijagnozu .....	40
5.2.2. Rezultati analiza serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na GS .....	41
5.2.3. Rezultati analize serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na TNM stadij karcinoma prostate .....	42
5.2.4. Rezultati analize serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na postojanje metastaza u kostima .....	43
5.2.5. Povezanost serumske razine IL-6 s tPSA, fPSA i f/tPSA .....	44
5.3. REZULTATI IMUNOHISTOKEMIJSKE ANALIZE EKSPRESIJE IL-6 U STANICAMA TKIVA PROSTATE .....	45
5.3.1. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate ovisno o PHD .....	49
5.3.2. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s obzirom na GS .....	51
5.3.3. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s obzirom na TNM .....	52
5.3.4. Povezanost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s tPSA, fPSA i f/tPSA u serumu .....	53
6. RASPRAVA .....	55
7. ZAKLJUČCI .....	62
8. SAŽETAK .....	63
9. SUMMARY .....	64
10. POPIS LITERATURE .....	65
11. ŽIVOTOPIS .....	93

## POPIS OZNAKA I KRATICA

AAH	atipična adenomatozna hiperplazija
AMACR	alfa-metilacil-coA racemaza (engl. <i>alpha-methylacyl-CoA racemase</i> )
AR	androgeni receptor
ASAP	atipična proliferacija malih acinusa (engl. <i>atypical small acinar proliferation</i> )
bFGF	bazični fibroblastni čimbenik rasta (engl. <i>basic fibroblast growth factor</i> )
BPH	benigna hiperplazija prostate
bPSA	benigni PSA (engl. <i>benign PSA</i> )
C	medijan
CAB	kompletna blokada androgena (engl. <i>complete androgen blockade</i> )
CAG	(engl. <i>cytotoxin associated gene</i> )
cAMP	ciklički adenzin monofosfat (engl. <i>cyclic adenosine monophosphate</i> )
CC genotip	obje kopije gena sadrže C alel
CD4 T stanice	bijele krvne stanice koje šalju signal drugim stanicama imunog sutava
CIS	(engl. <i>cytokine inducible SH2-containing protein</i> )
Cox	ciklooksigenaza
cPSA	kompleksirani PSA (engl. <i>complex PSA</i> )
CRP	C reaktivni protein
CYP17	(engl. <i>cytochrome P450c17alpha gene</i> )
Cys C	cistatin C
DHT	dihidrotestosteron
Dkk-1	(engl. <i>Dickkopf-related protein 1</i> )
DRP	digitorektalni pregled
EGF	epidermalni čimbenik rasta (engl. <i>epidermal growth factor</i> )
Erk	(engl. <i>extracellular signal-regulated kinase</i> )
f/tPSA	omjer slobodan/ukupni PSA (engl. <i>free/total PSA ratio</i> )
FGF	fibroblastni čimbenik rasta (engl. <i>fibroblast growth factor</i> )
fPSA	slobodni PSA (engl. <i>free PSA</i> )
GS	Gleasonov zbroj (engl. <i>Gleason score</i> )
HE	hemalaun-eozin
HER2	receptor epidermalnog čimbenika rasta (engl. <i>human epidermal growth factor receptor 2</i> )
HGPIN	PIN visokog stupnja (engl. <i>high-grade PIN</i> )

HMWCK	citokeratin visoke molekularne težine (engl. <i>high-molecular weight cytokeratin</i> )
HRCaP	karcinom prostate neovisan o hormonu (engl. <i>hormone-refractory prostate cancer</i> )
IGF	inzulinu sličan čimbenik rasta (engl. <i>insuline-like growth factors</i> )
IHC	imunohistokemija
IL-6	interleukin-6
iPSA	inaktivni PSA (engl. <i>inactive PSA</i> )
JAK	Janus kinaza
KGF	keratinocitni čimbenik rasta (engl. <i>keratinocyte growth factor</i> )
Ki-67	stanični marker za proliferaciju
LGHPIN	PIN niskog stupnja (engl. <i>low-grade PIN</i> )
LHRH	hormon koji oslobađa luteinizirajući hormon (engl. <i>luteinizing-hormone-releasing hormone</i> )
LNCaP	stanice adenokarcinoma prostate koje su osjetljive na androgen
MAPK	mitogen aktivirana protein kinaza (engl. <i>mitogen activated protein kinase</i> )
MDA Pca 2b	androgen-ovisne stanične linije
MIB-1	monoklonsko protutijelo
MM	multipli mijelom
MSC	mesenhimalne matične stanice (engl. <i>mesenchymal stem cell</i> )
p63	protein koji je član obitelji transkripcijskih čimbenika
PHD	patohistološka dijagnoza
PI3K	fosfoinozitol 3 kinaza - lipidna kinaza koja se aktivira putem adaptora SH-2 domene signalima koji su poslani putem mnogih transmembranskih receptora (engl. <i>phosphoinositide 3-kinase</i> )
PIA	proliferacijska inflamatorna atrofija
PIN	prostatična intraepitelna neoplazija
PkB/Akt	protein kinaza B
proPSA	proenzim PSA (engl. <i>proenzyme PSA</i> )
prostein P501s	aminoacid protein
PSA	prostata specifični antigen
PSMA	prostata specifičan membranski antigen
Raf	protein obitelji kinaza koji posreduje slanje ekstracelularnog signala iz receptora čimbenika rasta u Ras-Raf putu
RANK	(engl. <i>receptor activator of nuclear factor <math>\kappa</math> B</i> )
RANKL	član TNF obitelji, ključan za osteoklastogenezu (engl. <i>receptor activator of</i>



	<i>nuclear factor kappa-B ligand</i> )
Ras	retikularni aktivirajući sustav (engl. <i>reticular activating system</i> )
R	Spearmanov koeficijent korelacije
RP	radikalna prostatektomija
SH2	modulira aktivnost protein tirozin kinaze koja je prisutna u karboksi-terminalnom dijelu src proteina (engl. <i>cytokine-inducible src homology proteins</i> )
sIL-6R	solubilni receptor za interleukin-6
SOCS	supresor citokinske signalizacije (engl. <i>suppressor of cytokine signaling</i> )
SRD5A2	gen koji kodira pretvaranje testosterona u DHT
STAT	signal transdjuser i aktivator transkripcije (engl. <i>signal transducer and activator transcription</i> )
TGF- $\alpha$	transformirajući čimbenik rasta alfa (engl. <i>transforming growth factor alfa</i> )
TGF $\beta$ 1	transformirajući čimbenik rasta $\beta$ 1 (engl. <i>transforming growth factor beta 1</i> )
TNF	čimbenik nekroze tumora (engl. <i>tumor necrosis factor</i> )
TNM	klasifikacija tumora prema proširenosti (engl. <i>tumor, nodus, metastases</i> )
tPSA	ukupni PSA (engl. <i>total PSA</i> )
TRIS pufer	(engl. <i>tris(hydroxymethyl)aminomethane</i> ) pufer
TRUZ	transrektalni ultrazvuk
TURP	transuretralna resekcija prostate
UICC	Međunarodna udruga za rak (franc. <i>Union Internationale Contre le Cancer</i> )
VEGF	vaskularni endotelni čimbenik rasta (engl. <i>vascular endothelial growth factor</i> )
Wnt	grupa signalizacijskih transdukcijskih puteva koja se sastoji od proteina koji prenose signale iz vana kroz receptore stanične membrane

## 1. UVOD

Prostata ili predstojna žlijezda organ je podložan bolestima kao što su upala prostate, benigna hiperplazija prostate (BPH), prostatična intraepitelna neoplazija (PIN) i karcinom prostate, koje značajno smanjuju kvalitetu života muškaraca i bitno utječu na njegovu duljinu. Iako se mogu javiti i kod mlađih muškaraca, te se bolesti češće dijagnosticiraju nakon 50. godine života.

Adenokarcinom prostate u svim se svjetskim statistikama nalazi među najčešćim malignim tumorima muškaraca i među najčešćim uzrocima smrti. Zbog velike biološke varijabilnosti karcinoma prostate, liječnicima je veliki problem odrediti koji bolesnici imaju agresivni karcinom, a koji spororastući, biološki gotovo benigni tumor. Agresivnost tumora može se predvidjeti do određenog stupnja primjenom postojećih kliničkih parametara kao što su Gleasonov zbroj (engl. *Gleason score*, GS), prostata specifični antigen (PSA) i stadij tumora. Međutim, ti parametri ne mogu se upotrebljavati za precizno razlikovanje agresivnih karcinoma od karcinoma koji sporo rastu i koji tijekom bolesnikova života možda neće postati klinički značajni (1).

Intenzivno se provode istraživanja potencijalnih biomarkera koji bi poboljšali mogućnost otkrivanja karcinoma prostate u ranom stadiju i koji bi mogli otkriti one tumore koji stvarno predstavljaju značajan rizik mortaliteta i morbiditeta bolesnika. Idealni biomarker trebao bi biti jednostavno detektibilan i omogućiti točan monitoring bolesti u bilo kojem stadiju (2).

Uloga interleukina-6 (IL-6) u karcinomu kompleksna je i uključuje autokrine i parakrine mehanizme. Uzimajući u obzir da IL-6 potiče tumorogenezu, ne iznenađuje činjenica da su povišene serumske razine IL-6 i njegova solubilnog receptora (sIL-6R) povezane s lošim kliničkim ishodom mnogih karcinoma, uključujući karcinom prostate (3,4).

Istraživanja na tom području omogućuju bolje razumijevanje etiopatogeneze bolesti prostate i učinkovitiji terapijski pristup.

Ovo istraživanje obuhvatit će analizu razine IL-6 u serumu bolesnika i imunohistokemijsku (engl. *immunohistochemistry*, IHC) analizu ekspresije IL-6 u uzorcima tkiva prostate.

## 1.1. ANATOMIJA I HISTOLOGIJA PROSTATE

Prostata ili predstojna žlijezda ili kestenjača neparan je žljezdano-mišićni organ koji okružuje početnih 3 cm mokraćne cijevi u muškaraca. Volumen prostate može jako varirati (10 – 80 ml) ovisno o tjelesnoj masi muškarca te o njegovoj dobi (5). Smještena je u prostatičnoj loži koju proksimalno čini vrat mokraćnog mjehura, distalno aponeuroza zdjelične dijafragme koja okružuje uretru, s prednje strane puboprostatični ligamenti, straga rektovezikalna fascija (*fascia Denonvilier*) i lateralno prostatična lateralna aponeuroza. Prostata odraslog čovjeka teži prosječno 30 g. Prostata je plitkim brazdama podijeljena u tri režnja: desni, lijevi i središnji (lat. *lobus*). Izvana je prostata obavijena tankom, ali čvrstom ovojnicom (lat. *capsula prostatica*). Oko kapsule se nalazi rahlo vezivno tkivo, a između njih je prostatični venski splet. Venski splet u doticaju je s venskim spletom mokraćnog mjehura te s kralježničnim spletom. Arterijska krv dolazi u prostatu preko prostatičnih ogranaka dviju zdjeličnih arterija. Stroma prostate isprepletana je simpatičkim i parasimpatičkim živčanim vlaknima. Parasimpatička vlakna kontroliraju sekretornu funkciju žljezdanog epitela prostate, dok simpatička vlakna kontroliraju zatvaranje vrata mokraćnog mjehura tijekom ejakulacije (6). Prostatična žlijezda omogućava prolaz urinu i dodaje nutritivne izlučevine u spermu time formirajući sjeme tijekom ejakulacije.

Bazalni dio prostate leži neposredno ispod vrata mjehura, a apikalni dio prostate leži direktno iznad urogenitalne dijafragme. Prostatična uretra prolazi vertikalno kroz centar žlijezde i nagnuta je anteriorno u razini verumontanuma (7). Posteriorno, prostata i seminalne vezikule odvojene su od rektuma tankim, poput filma, konektivnim tkivom nazvanim *Denonvilliers fascia*. Na najapikalnijem dijelu žlijezde skeletni mišić urogenitalne dijafragme širi se u prostatu (8,9). Prostatična žlijezda sastoji se od unutarnje i vanjske koncentrične zone. Klinički detektibilni karcinomi pretežno pogađaju vanjski dio žlijezde, a BPH primarno zahvaća centralni unutarnji dio žlijezde (10). Iz praktičnih razloga, McNealov model često se pojednostavljuje tako da se centralni unutarnji periuretralni dio prostate naziva tranzicijska zona, a vanjski periferni dio označava kao periferna zona i uključuje centralnu zonu koja je smještena prema bazi prostate (7).

Mikroskopski gledano, prostatu čini žljezdani epitel i fibromuskularna stroma. Duktusi se sastoje od izduženih tubularnih struktura koje se granaju i završavaju slijepo u oblim acinusima. Rezani u presjeku ne razlikuju se od acinusa. Luminalna površina benignih žlijezda prostate često ima valovite obrise i papilarne izdanke. Ove žlijezde sastoje se od triju staničnih populacija: sekretornih, bazalnih i neuroendokrinih stanica (11-13). Bazalne stanice

smještene su između sekretornih stanica i bazalne membrane. Oblika su cigare s dugim osovinama paralelnim s bazalnom membranom. Bazalne stanice mogu imati ili fino granuliran, ravnomjerno raspoređen kromatinski obrazac ili izražene nukleole te pokazuju citoplazmatsko bojenje s keratinom visoke molekularne težine (ili nuklearnu reaktivnost za p63) (14-17). Za bazalne stanice smatra se da predstavljaju odjeljak za matične stanice unutar prostate (18). Neuroendokrine stanice djeluju na regulaciju rasta i funkciju sekretornih stanica (19). Stroma prostate sastoji se od glatkih mišićnih stanica, fibroblasta, limfocita i neuromuskularnog tkiva uklopljenog u ekstracelularni matriks. Dokazi upućuju na to da epitelno-stromalna interakcija igra važnu ulogu u normalnoj morfogenezi prostate (20).

## **1.2. HIPERPLAZIJA PROSTATE**

Prostata se polagano povećava od rođenja, a nakon puberteta brzo, i to 21 – 30 godina, kada teži prosječno 20 g (21). Učestalost BPH izuzetno je rijetka kod muškaraca mlađih od 40 godina, a nakon 40. godine BPH je najčešći urološki poremećaj kod muškarca. Najranije BPH nodule pretežno su stromalne i sastoje se većinom od fibroznog tkiva pomiješanog s glatkim mišićima (10,22). Te stromalne nodule smještene su submukozno u periuretralnom dijelu i rijetko dostižu veliku dimenziju, osim blizu vrata mjehura, gdje mogu protrudirati kao solitarna središnja masa u lumen mjehura. Veće i brojnije BPH nodule smještene su tipično više lateralno, unutar tranzicijske zone. Rijetko, BPH nodule mogu biti pronađene unutar periferne zone. Te lateralno smještene nodule pretežno su, od početka, žljezdane i većinom uzrokuju klinički evidentnu BPH.

Histološki gledano, žljezdana komponenta sastoji se od nodula malih i velikih acinusa u liniji bazalnih i sekretornih stanica. Neke žlijezde pokazuju papilarne izdanke i izbočine koje sadržavaju centralnu fibrovaskularnu jezgru, a neke su dilatirane i cistične. Nagomilani epitelni nodusi označavaju se kao adenoze. Stromalna komponenta često pokazuje i fibrozne i glatkomišićne elemente. Benignu prostatu u uzorku dobivenom biopsijom iglom trebalo bi dijagnosticirati kao "benigno prostatično tkivo", a ne kao "benignu prostatičnu hiperplaziju". Prvo, mnogi uzorci dobiveni biopsijom iglom nisu čak ni uzorci tranzicijske zone. Drugo, histološki nalazi u uzorcima koji su dobiveni biopsijom iglom, s iznimkom stromalnih nodula, ne koreliraju s veličinom prostate ili simptomima urinarne opstrukcije (23).

### 1.3. UPALA PROSTATE

Unutar područja BPH nodula ili difuzno obično se vide stromalni infiltrati limfocita i plazma stanica. Međutim, u većini slučajeva ti se nalazi ne poistovjećuju s infektivnim procesom ili kliničkim simptomima prostatitisa (24,25). Iako se čini da akutna upala korelira s porastom serumskog PSA, postoje oprečne studije o učinku kronične upale (26,27). Infarkti prostate nalaze se u otprilike 20 – 25% uzoraka s BPH (22,28,29). Iako i akutni i kronični prostatitis čine značajni udio u urološkoj praksi, obično se dijagnosticiraju klinički i tretiraju antibioticima, bez potrebe za kirurškom intervencijom.

Uglavnom se ne radi histološko ispitivanje uzoraka dobivenih iz simptomatskog prostatitisa. Teško je razlikovati histološki kronični infekciozni prostatitis od nespecifične kronične upale koja se vidi u hiperplaziji, ali za akutni bakterijski prostatitis karakteristični su sloj neutrofila unutar i oko acinusa, intraduktalni deskvamirajući stanični ostaci te stromalni edem i hiperemija. Stvaranje mikroapscesa rijetko je, a učinkoviti antibiotici doveli su do opadanja incidencije simptomatskih apscesa prostate (30).

### 1.4. PROSTATIČNA INTRAEPITELNA NEOPLAZIJA

Prostatična intraepitelna neoplazija (PIN) dijeli se u dva stupnja: niski (engl. *low-grade PIN*, LGPIN) i visoki stupanj (engl. *high-grade PIN*, HGPIN). HGPIN ima izražene nukleole za razliku od LGPIN-a. Ponekad se dijagnoza HGPIN-a postavlja i u odsutnosti izraženih nukleola ako postoji značajni nuklearni pleomorfizam (31). Postoje također slučajevi u kojima je stupanj nuklearne izraženosti graničan. Neki ga autori smatraju LGPIN-om, a drugi HGPIN-om. To pridonosi različitoj incidenciji HGPIN-a koja je zabilježena u uzorcima dobivenim biopsijom prostate iglom i kreće se u rasponu 1 – 24%, a u većini studija u rasponu 4 – 5% (32).

Četiri glavna uzorka HGPIN-a jesu resičasti, mikropapilarni, kribriformni i pljosnati (33). Ostali uzorci PIN-a jesu uzorak prstena pečatnjaka, mali stanični neuroendokrini uzorak, mucinozni uzorak i pjenušavi uzorak (34).

Obilje dokaza pokazuje da je HGPIN prekursor lezije nekih karcinoma prostate. Postoji povećana incidencija HGPIN-a te veći broj žarišta HGPIN-a u prostatama koje su zahvaćene karcinomom (35). Također, porastom količine HGPIN-a raste i broj multifokalnih karcinoma. Daljnji histološki dokaz da je HGPIN prekursor nekih karcinoma prostate jest prisutnost zona HGPIN-a iz kojih pupaju žlijezde karcinoma prostate (36). Nekoliko studija također je zabilježilo porast HGPIN-a u perifernoj zoni prostate, koje je izvorno mjesto za

većinu adenokarcinoma prostate. Ekspresija različitih biomarkera ili je jednaka u HGPIN-u i karcinomu ili u HGPIN-u postoji prijelazna jačina ekspresije od benignog do malignog tkiva prostate (35,37).

HGPIN prepoznaje se kao dobro diferencirana premaligna lezija koja je prisutna u prosjeku 5 – 10 godina prije razvoja karcinoma prostate (38-40).

Na malom povećanju, žlijezde s HGPIN-om imaju bazofilni izgled i sadrže povećane jezgre, hiperkromatizam, preklapajuće jezgre, amfofilnu citoplazmu i epitelnu hiperplaziju. Najraniji oblik HGPIN-a okarakteriziran je nuklearnom atipijom unutar epitela bez epitelne hiperplazije (32).

Promjene u stanicama PIN-a neposredno iznad bazalnog sloja izraženije su, što se pripisuje fenomenu poznatom kao sazrijevanje (maturacija). Potrebno je paziti da se atipija, ako je prisutna u bazalnim stanicama, ne zamijeni s PIN-om. Citoplazma tih stanica najčešće je lagano amfofilna i granulirana premda ponekad može biti eozinofilna i svijetla (32,40,41).

Rana stromalna invazija, koja je najraniji znak karcinoma, može se vidjeti u oko 2% HGPIN-ova, na mjestima prekida bazalnih stanica (42).

PIN je uvijek praćen kapilarnom proliferacijom u stromi. Stupanj mikrovazalne gustoće u PIN-u jačine je između benignog epitela i karcinoma (43).

Genetske promjene koje se često nalaze u karcinomu – kao što su gubitak alela na 8p12-21 (44), gubitak heterozigotnosti na 8p22, 12pter-p12, 10q11.2 i amplifikacija dijelova 7, 8, 10 i 12 kromosoma – vide se i u PIN-u (44,45). PIN je povezan s progresivnim abnormalnostima fenotipa i genotipa koje su posrednici između normalnog epitela prostate i karcinoma (46). Calvo i suradnici (47) identificirali su više od 400 gena koji su abnormalno eksprimirani i u HGPIN-u i u karcinomu prostate.

Osim dobi, rasna pripadnost također utječe na incidenciju PIN-a. Istraživanja pokazuju da je incidencija PIN-a viša kod Afroamerikanaca (48-51). Afroamerikanci s PIN-om skloniji su razvoju agresivnijeg, klinički značajnog karcinoma prostate (52). Powell i suradnici (50) analizirali su prostate Afroamerikanaca dobivene autopsijom te su pretpostavili da u dobi 40 – 49 godina počinju rasne razlike u razvoju karcinoma prostate jer kod većeg broja Afroamerikanaca s PIN-om dolazi do razvoja karcinoma. Također se vjeruje da je PIN rizični čimbenik za biokemijski povrat nakon konačnog liječenja kod Afroamerikanaca (52).

Afroamerikanci sa serumskom razinom PSA < 4 ng/ml imaju veću incidenciju PIN-a nego bijelci u uzorcima prostate koji su dobiveni biopsijom iglom (53).

Mnogi autori slažu se da nalaženje PIN-a u bioptičkom uzorku prostate ne treba utjecati na odluku o terapiji (54). Liječenje bolesnika s HGPIN-om ne provodi se.

Profilaktička radikalna prostatektomija (RP), zračenje i oduzimanje androgena nisu prihvaćeni za liječenje bolesnika koji imaju samo HGPIN. *Acapodene*, anti-estrogen za liječenje HGPIN-a i smanjenje incidencije karcinoma prostate, trenutno je u fazi kliničkog istraživanja i preliminarni rezultati ohrabruju (55).

Ukoliko se u bioptičkom uzorku dijagnosticira PIN, neophodno je praćenje bolesnika. Biopsija prostate izvodi se u razmacima 3 – 6 mjeseci tijekom 2 godine, a potom u razmacima od 12 mjeseci tijekom života bolesnika (56,57).

Druge prekanceroze jesu atipična adenomatozna hiperplazija (AAH), atipična proliferacija malih acinusa (ASAP), proliferacijska inflamatorna atrofija (PIA). Istraživanja su pokazala da PIA može predstavljati međufazu u razvoju karcinoma prostate (58,59).

## **1.5. KARCINOM PROSTATE**

### **1.5.1. Epidemiologija i etiologija karcinoma prostate**

U 2007. godini karcinom prostate bio je najčešći karcinom u SAD-u, čineći oko 29% karcinoma kod muškaraca (60). Međutim, do smrti je došlo u samo 9% slučajeva. Stopa smrtnosti od karcinoma prostate opada od 1990. Dok je sredinom 1970-ih 69% muškaraca s karcinomom prostate preživjelo do 5 godina, u današnje vrijeme nitko ne umire od karcinoma prostate unutar 5 godina. Incidencija karcinoma prostate pronađena na autopsiji raste s dobi i varira ovisno o metodi uzimanja uzoraka žlijezde. Kod muškaraca mlađih od 50 godina osobito je povećan broj karcinoma prostate nasumično uzetih dijelova prostata. U pažljivo rađenoj studiji Sakra i suradnika (61) utvrđena je visoka incidencija (34%) histološki moguće dijagnosticiranih, ali klinički nejasnih karcinoma prostate kod muškaraca mlađih od 50 godina koji su umrli od traume.

Nađeno je da su muškarci mlađi od 50 godina imali širok spektar bolesti koji je varirao od malih, beznačajnih tumora do naprednih, neizlječivih karcinoma prostate. Mlađi muškarci koji su bili kandidati za RP nisu imali lošiju prognozu poslije operacije od starijih muškaraca. Karcinom prostate kod tih muškaraca otkriven je u sklopu obrade drugih genitourinarnih simptoma koji nisu bili u vezi s prostatom (62,63).

Karcinom prostate u dječjoj dobi i adolescenata rijedak je. U literaturi je zabilježeno 5 slučajeva kod bolesnika mlađih od 10 godina i 21 slučaj kod bolesnika u dobi između 10 i 21 godinu (64). Bolesnici obično imaju opstruktivne simptome i u naprednom su stadiju bolesti, pokazujući metastatski obrazac sličan onomu koji se vidi kod odraslih. Tumori su često loše

diferencirani i ne odgovaraju na terapiju, a oboljeli prežive u prosjeku između 3 i 10 mjeseci (65).

Većina studija pokazala je da Afroamerikanci imaju viši stadij bolesti odmah dijagnosticiran nego bijelci i tako imaju sveukupno veću stopu mortaliteta od karcinoma prostate (60). Međutim, u nekim izvještajima Afroamerikanci i bijelci imali su jednaku stopu preživljenja po stadijima (66,67). Neke studije pokazale su da poslije RP-a rasne razlike utječu na preživljenje bez bolesti (68).

U skandinavskim zemljama relativno je veća stopa obolijevanja od karcinoma prostate nego u zemljama Azije, koje imaju vrlo nisku stopu. Migracijom osoba iz zemalja s niskom incidencijom u zemlje s visokom incidencijom, stopa kliničkih karcinoma prostate raste sugerirajući time ulogu čimbenika okoline (69).

Zbog šire primjene dijagnostičkih testova, kao što su PSA i biopsija prostate pod kontrolom transrektalnog ultrazvuka (TRUZ), te starenja populacije najvjerojatnije se ne radi o stvarnom porastu incidencije karcinoma prostate (70). U čimbenike rizika za razvoj karcinoma prostate ubrajaju se: dob, rasna i etnička pripadnost, hormoni, prehrana, alkohol, pušenje, dijabetes, vazektomija, profesionalna ekspozicija (drvena prašina, kadmij, pesticidi, akrilonitril-akrilična vlakna), infekcije i genetika. Smatra se da prehrana s manje crvenog mesa i masnoća te više voća i povrća djeluje protektivno. Najveću antikancerogenu aktivnost imaju slatko korijenje, češnjak, soja, kupus, đumbir, citrusi, tamnolisnato povrće i omega-3 masne kiseline. Uporaba nesteroidnih protuupalnih lijekova (NSAID), posebice aspirina, može smanjiti rizik razvoja karcinoma prostate 24 – 66% (71). Vjerojatno protektivnu ulogu imaju i antioksidansi kao vitamin E i D, selen, cink, karotenoid (72-74).

Obiteljsku sklonost razvoju karcinoma prostate ima 9% oboljelih (75-79). Za rast i razvoj stanica prostate i za razvoj karcinoma prostate važni su androgeni, posebno testosteron, odnosno njegov aktivni oblik dihidrotestosteron (DHT), koji nastaje u prostati pod utjecajem 5- $\alpha$ -reduktaze (80,81).

Veću vjerojatnost razvoja klinički agresivnog karcinoma prostate imaju mlađi bolesnici, ali izlječenje je moguće ako se karcinom otkrije u ranom stadiju (76).

### **1.5.2. Klinička slika karcinoma prostate**

Simptomi koji se javljaju u početku nisu specifični za karcinom prostate i prisutni su i kod drugih bolesti prostate. Skupinu nespecifičnih simptoma donjeg urinarnog trakta (engl. *lower urinary tract symptoms*, LUTS) dijelimo na iritativne (nikturija, polakisurija, urgencija,



urgentna inkontinencija) i opstruktivne (naprezanje, tanki mlaz mokraće, produljeno mokrenje, osjećaj nepotpunog pražnjenja mjehura) (82).

Karcinom prostate može biti simptomatski, okultni i latentni (83). Latentni se oblik otkriva slučajno, obično pri transuretralnoj resekciji prostate (TURP) zbog benigne hiperplazije prostate. Preko 50% muškaraca iznad 80 godina ima latentni oblik karcinoma prostate koji ne metastazira i ne uzrokuje smrt. Ne postoje točni kriteriji po kojima bi se određeni karcinom prostate smatrao latentnim i na taj način smanjio broj nepotrebnih biopsija i operacija (84).

Kod osoba s tumorom koji se lokalno proširio ponekad je teško razlučiti je li riječ o lokalno uznapredovalom karcinomu prostate ili o primarnom karcinomu rektuma (85).

Vrlo se rijetko karcinom prostate primarno manifestira simptomima koji nastaju kao posljedica metastaza u kostima, kao što je patološka fraktura kralježaka s posljedičnom paraplegijom (86,87).

U sklopu progresije bolesti pojavljuje se febrilnost, najčešće zbog uroinfekcije. U tom stadiju bolest je praćena i drugim znakovima progresivne zloćudne bolesti poput kaheksije, diseminirane intravaskularne koagulacije, sekundarne anemije ili pancitopenije, mučnine i povraćanja (88).

### **1.5.3. Patohistološka slika karcinoma prostate**

Adenokarcinom prostate čini 90 – 95% primarnih karcinoma prostate. Rijetki tipovi karcinoma prostate jesu: atrofični adenokarcinom, karcinom pločastih stanica, uretalni karcinom, neuroendokrini karcinom, sarkomatoidni karcinom i karcinom nalik na limfoepiteliom (89).

U stražnjim i lateralnim dijelovima periferne zone nastaje 70 – 75% karcinoma prostate, u prijelaznoj zoni 15 – 20% karcinoma, a oko 10% karcinoma nastaje u centralnoj, periuretralnoj zoni. Tumori iz prijelazne zone manji su i nižeg gradusa u usporedbi s tumorima iz periferne zone (90). Histološki arhitekturni kriteriji za karcinom prostate jesu infiltrativni rast karcinoma i odsutnost bazalnih stanica. Osnovni citološki kriterij jest prisutnost makronukleola u jezgri karcinomskih stanica (91). U karcinomu prostate krvarenje i nekroza izuzetno se rijetko vide i makroskopski i mikroskopski (90). Makroskopski se karcinom prostate može zamijeniti s područjima žljezdane atrofije, infarktom u fazi cijeljenja, hiperplazijom strome, granulomskim prostatitisom i infekcijama prostate (90, 92).

Mikroskopski izgled karcinoma prostate može biti sličan žlijezdi normalnog prostatičnog tkiva kod dobro diferenciranih karcinoma prostate, a kod slabije diferenciranih karcinoma prostate tkivo prostate često se jedva prepoznaje (91).

Postoji nekoliko lezija koje oponašaju adenokarcinom prostate.

**Adenoza** je najčešća lezija koja može biti zamijenjena s karcinomom (42). Obično se naziva atipičnom adenomatoznom hiperplazijom, što dovodi do pogrešnog poistovjećivanja adenoze s PIN-om, koji je prekursor nekih karcinoma prostate (93). Incidencija adenoze u TURP-u iznosi 2,2 – 19,6% (94,95).

**Minimalni karcinom prostate** (tumor manji od 1 mm ili tumor koji zahvaća manje od 5% cilindra) ne smije se zamijeniti s ASAP-om (96,97). U do 70% ponovljenih biopsija u kojima je inicijalno postavljena dijagnoza ASAP-a dijagnosticira se karcinom (98). ASAP se sastoji od 3 – 5 žlijezda suspektnog izgleda koje ne ispunjavaju sve arhitekturne i citološke kriterije za postavljanje dijagnoze karcinoma (96).

**Atrofični adenokarcinom** ima žlijezde koje su obložene epitelnim stanicama s oskudnom citoplazmom. Na dijagnozu karcinoma upućuju infiltrativni rast, odsutnost bazalnih stanica i citološka atipija (89,90,99).

**Pseudohiperplastični adenokarcinom** izgleda benigno, ali može biti vrlo agresivan. Za dijagnozu je potrebno IHC bojenjem dokazati odsutnost bazalnih stanica (90,99-101).

**Adenokarcinom pjenušavih stanica** sastoji se od žlijezda koje su obložene atipičnim epitelnim stanicama s obilnom pjenušavom citoplazmom i sitnom, hiperkromatskom jezgrom koja obično nema nukleola (90,99,102).

**Mucinozni adenokarcinom** histološki je obilježen obilnom produkcijom izvanstanične sluzi u kojoj se vide nakupine malignih stanica (90,99,103).

**Adenoskvamozni karcinom** većinom nastane nekoliko godina poslije liječenja karcinoma zračenjem ili hormonalno. Podrijetlo čistog karcinoma pločastih stanica nejasno je. Oba tipa karcinoma vrlo su agresivna (90,104).

**Urotelni karcinom** prostate može biti primaran ili nastati širenjem tumora mjehura i uretre i ima lošu prognozu (90,105).

**Neuroendokrini karcinom malih stanica** većinom se otkrije u uznapređovalom stadiju kada već postoje metastaze. Mikroskopski izgleda kao karcinom malih stanica pluća. Prognoza mu je izrazito loša (90,106).

**Karcinom nalik limfoepiteliomu** histološki je sličan nazofaringealnom limfoepiteliomu i obilježen je prominentnim limfoidnim infiltratom (90,99).

**Sarkomatoidni karcinom** u 50% slučajeva pojavljuje se na mjestu karcinoma koji je liječen zračenjem ili hormonalno. Ponašanje tumora vrlo je agresivno (90,107).

**Adenokarcinom prostatičnih duktusa** najčešće se nalazi zajedno s adenokarcinomom prostate (u oko 5% slučajeva) pokazujući acinarnu diferencijaciju. On može rasti kao prominentni tumor u uretru, najčešće oko verumontanuma. Bolesnici mogu imati opstruktivne simptome i/ili veliku ili mikroskopsku hematuriju. Iako duktalni adenokarcinom IHC-om jako eksprimira PSA, pokazuje varijabilnu razinu PSA u serumu. Većina duktalnih adenokarcinoma jako je agresivna, prosječnog GS = 8 (108).

#### 1.5.4. Procjena stupnja i stadija karcinoma prostate

Sustavi bazirani na histološkom stadiju karcinoma prostate uglavnom se oslanjaju na opseg diferencijacije, arhitekturne uzorke rasta, mitotsku aktivnost i abnormalnost jezgre te na taj način određenom tipu karcinoma pridodaju određeni stadij bolesti. Podcijenjenost (engl. *undergrading*) stupnja diferenciranosti karcinoma u uzorcima koji su dobiveni biopsijom iznosi 20 – 45% (109,110).

Danas najčešće korišten i od Svjetske zdravstvene organizacije preporučen sustav za određivanje diferenciranosti karcinoma prostate jest Gleasonov gradus, odnosno GS (90,99). Gleasonov sustav određivanja diferenciranosti prvi je put objavljen 1974. godine (111). Prema toj shemi ukupni stupanj diferenciranosti određuje se zbrajanjem stupnjeva diferenciranosti dviju najzastupljenijih komponenti tumora. U svakoj biopsiji određuje se Gleason uzorak za najzastupljeniji (primarni) i sljedeći po zastupljenosti (sekundarni) histološki oblik. Zbrajanjem vrijednosti Gleason uzorka primarne i sekundarne komponente dobije se GS. U slučaju da karcinom prostate ima samo jedan Gleason uzorak, GS se dobiva dupliciranjem Gleason uzorka. Postoji pet stupnjeva diferenciranosti karcinoma prostate prema Gleasonu, odnosno pet uzoraka. Gleason uzorak 1 predstavlja najbolje diferencirani karcinom prostate, dok je Gleason uzorak 5 najslabije diferenciran. Budući da postoji pet stupnjeva Gleason uzorka, GS se može kretati 2 – 10. Dobro diferencirani karcinomi prostate imaju GS 2 – 4, srednje diferencirani 5 – 6, a slabo diferencirani 8 – 10. Karcinom prostate GS = 7 smatra se srednje do slabo diferenciranim, a ovisno o prevladavajućoj komponenti može biti svrstan u jednu od dvije kategorije. (90,99). GS na biopsiji korelira sa stupnjem proširenosti bolesti (112). Viši GS povezan je s lošijom prognozom i višim stadijem bolesti (113). U GS = 7 bolest je lokalizirana u samo 29% slučajeva (112,114). GS i proširenost

tumora u trenutku dijagnoze imaju bitnu ulogu u određivanju načina liječenja i izravno utječu na prognozu kod bolesnika (115).

Biopsija prostate radi se transrektalnim pristupom pod kontrolom TRUZ-a uporabom bioptičke igle promjera 18 *gaugea* i automatskog „pištolja“ za tkivne biopsije. Bolesnik zauzima litotomijski ili bočni položaj. Biopsija prostate ambulantni je zahvat bez anestezije, a bolesnik mora biti pripremljen primjenom laksativa i antibiotika širokog spektra (116). Uzima se 12 bioptata (6 iz lijevog i 6 iz desnog režnja prostate), koji se šalju na patohistološku dijagnozu (PHD) istog dana. Biopsija se često ponavlja ukoliko nakon negativnog PHD-a ranije biopsije i dalje postoji povišena serumska razina PSA te ako se u prethodnoj biopsiji dijagnosticirala prekanceroza ili ako dođe do većeg skoka serumske razine PSA u kratkom vremenu (117-120). Biopsija prostate većinom se izvodi pri serumskoj vrijednosti PSA višoj od 4 ng/ml. Apsolutna indikacija za biopsiju jest serumska razina PSA viša od 10 ng/ml, pozitivan digitorektalni pregled (DRP) bez obzira na razinu PSA. Kod bolesnika starijih od 70 godina indikacija za biopsiju jest vrijednost PSA u serumu viša od 6,5 ng/ml. Stopa rasta PSA veća od 0,75 ng/ml tijekom jedne godine kao indikacija za biopsiju prostate ima svoja ograničenja zbog potrebe višestrukog mjerenja (121).

TNM (engl. *tumor, node, metastases*) klasifikacija karcinoma prostate ima svrhu odrediti proširenost bolesti kako bi se odabrao najbolji način liječenja, predvidjela prognoza te pratio rezultat liječenja. Whitmore je 1956. godine predložio da se bolesnike s karcinomom prostate svrstava u četiri skupine: A, B, C, D (122). Prvi sustav TNM klasifikacije karcinoma prostate sastavila je Međunarodna udruga za rak (franc. *Union Internationale Contre le Cancer, UICC*) 1978. godine (123), a posljednja verzija napravljena je 2002. (124).

TNM sustav temelji se na vrijednostima pridodanim trima sastavnicama: T – primarni tumor, N – regionalni limfni čvorovi, M – udaljene metastaze. T sastavnica podijeljena je na četiri glavna stadija koji se mogu grupirati u dvije skupine bolesti: kad karcinom nije probio čahuru (T1 i T2) te kad se karcinom proširio izvan čahure (T3 i T4).

T1 je prvi stadij bolesti, a označava klinički latentni tumor koji je nemoguće vizualizirati dijagnostičkim pretragama. Tijekom T1 stadija tumor je lokaliziran unutar prostate (124). Kada se karcinom prostate klinički klasificira kao T1, čak u 18 – 49% slučajeva patolog ga klasificira kao lokalno uznapredovalu bolest (125).

T2 stadij označava tumor koji se proširio na dio prostate ili cijelu prostatu, ali nigdje ne probija čahuru. Karcinom je uznapredovao, a tumorske stanice zauzimaju dio jednog režnja ili dijelove obaju režnjeva prostate.

T3 stadij označava tumor proširen izvan kapsule prostate. Tumor često invadira u sjemene mjehuriće (124). Taj se stadij bolesti uglavnom tretira radioterapijom. Više od 50% bolesnika u T3 stadiju ima metastaze u regionalnim limfnim čvorovima u vrijeme otkrivanja bolesti i više od 75% bolesnika ne preživi duže od 10 godina (126).

T4 stadij označava tumor fiksiran ili proširen na susjedne strukture (npr. rektum, mokraćni mjehur, zdjelicu itd.). U ovom stadiju moguće je širenje karcinoma u regionalne limfne čvorove, ali i sistemsko metastaziranje (prvenstveno u kosti) (124). Karcinom prostate također ima tendenciju metastazirati u cervikalne limfne čvorove s lijeve strane ili u druge supradijafragmalne limfne čvorove, što može biti prvi znak karcinoma prostate (127). Kod bolesnika s metastazama u kostima stopa mortaliteta jest oko 15% u prve 3 godine, a nakon 10 godina 90%, dok većina bolesnika koji imaju povrat karcinoma nakon hormonske terapije umire unutar nekoliko godina (126).

Stupanj proširenosti karcinoma prostate važan je čimbenik koji određuje prognozu bolesti. Razlikovanje intrakapsularne (T1 i T2) i ekstrakapsularne (T3 i T4) bolesti bitno je za odabir načina liječenja (128). Kombinacija serumskog PSA, GS-a dobivenog biopsijom prostate i kliničkog pregleda najbolje može predvidjeti patološki stadij kod svakog bolesnika (129). DRP vrlo često podcjenjuje stadij bolesti i pozitivna korelacija između DRP-a i patološkog stadija bila je manja od 50% (130).

Kompjutorizirana tomografija (CT) i magnetska rezonancija (MR) pokazale su se pouzdanima samo u procjeni stadija uznapredovale bolesti (131). Standardni dio radikalnog operativnog zahvata za lokaliziranu bolest jest operativna limfadenektomija i koristi se u procjeni N stadija karcinoma prostate. Dodatne informacije o odnosu prostate s okolnim strukturama i stanju mokraćnog sustava mogu dati infuzijska urografija i ultrazvučna pretraga. Scintigrafija skeleta, uz mjerenje razine kisele prostatične i alkalne fosfataze u serumu, koristi se za dijagnozu metastatske bolesti (132). Smatra se da je scintigrafija kostiju nepotrebna kod bolesnika bez simptoma koji imaju PSA manji od 20 ng/ml, normalnu razinu alkalne fosfataze u serumu te dobro i srednje diferencirani karcinom prostate (133). Međutim, kod bolesnika sa slabo diferenciranim karcinomom i lokalno proširenom bolešću, scintigrafija kostiju neophodna je bez obzira na razinu PSA u serumu (134).

TNM klasifikacija karcinoma prostate iz 2009. godine prikazana je u tablici 1 (135).

Tablica 1. TNM klasifikacija karcinoma prostate iz 2009. godine

	<b>STADIJ</b>	<b>KARAKTERISTIKE</b>
<b>KLINIČKI PRIMARNI TUMOR (CT)</b>	<b>TX</b>	Primarni tumor se ne može procijeniti
	<b>T0</b>	Ne postoji primarni tumor
	<b>T1</b>	Klinički nedetektibilni tumor
	<b>T1a</b>	Tumor je slučajan nalaz u manje od 5% reseciranog tkiva
	<b>T1b</b>	Tumor je slučajan nalaz u više od 5% reseciranog tkiva
	<b>T1c</b>	Tumor detektiran biopsijom prostate (samo povišen PSA)
	<b>T2*</b>	Palpabilni tumor unutar prostate
	<b>T2a</b>	Tumor zahvaća polovinu jednog lobusa prostate ili manje
	<b>T2b</b>	Tumor zahvaća više od jedne polovine jednog lobusa prostate, ali ne oba lobusa
	<b>T2c</b>	Tumor zahvaća oba lobusa
	<b>T3</b>	Ekstrakapsularno širenje tumora prostate
	<b>T3a</b>	Ekstrakapsularno širenje tumora, unilateralno ili bilateralno s mikroskopskim širenjem na vrat mokraćnog mjehura
	<b>T3b</b>	Tumor zahvaća sjemene mjehuriće
<b>T4</b>	Tumor je fiksiran ili infiltrira okolne organe, osim sjemenih mjehurića: vanjski sfinkter, rektum, levatore i/ili zdjelični zid	
<b>PATOLOŠKI PRIMARNI TUMOR (pT)</b>	<b>pT2**</b>	Lokaliziran unutar prostate
	<b>pT2a</b>	Jednostrano
	<b>pT2b</b>	Obostrano
	<b>pT3</b>	Ekstraprostatično širenje
	<b>pT3a</b>	Ekstraprostatično širenje
	<b>pT3b</b>	Invazija sjemenih mjehurića
	<b>pT4</b>	Invazija mjehura ili rektuma
<b>REGIONALNE METASTAZE U LIMFNIM ČVOROVIMA</b>	<b>NX</b>	Regionalni limfni čvorovi ne mogu se procijeniti
	<b>N0</b>	Bez metastaza u regionalnim limfnim čvorovima
	<b>N1</b>	Regionalne metastaze
<b>UDALJENE METASTAZE</b>	<b>MX</b>	Udaljene metastaze ne mogu se procijeniti
	<b>M0</b>	Bez udaljenih metastaza
	<b>M1</b>	Udaljene metastaze
	<b>M1a</b>	Metastaze u neregionalne limfne čvorove
	<b>M1b</b>	Metastaze u kostima
	<b>M1c</b>	Metastaze u ostala sijela

\* tumor nađen u jednom ili oba lobusa prostate pomoću biopsije ali nije palpabilan i ne može se radiološki utvrditi ubraja se u T1a.

\*\* invazija u apeks ili u (ali ne izvan) prostatičnu kapsulu. Tumor se ubraja u T2.

### 1.5.5. Dijagnostički postupci kod karcinoma prostate

DRP, određivanje PSA u serumu, TRUZ i biopsija prostate standardni su dijagnostički postupci. Dijagnoza se potvrđuje nalazom tumorskih stanica u bioptičkom materijalu uzoraka tkiva prostate (131,136).

Prije Ablinova otkrića PSA (137,138), za rano otkrivanje karcinoma prostate liječnici su se isključivo oslanjali na DRP. Stopa otkrivanja karcinoma prostate pomoću DRP-a iznosi 0,8 – 1,4% (139,140). Prostatična žlijezda suspekt na karcinom prostate asimetrična je i tvrđe konzistencije. Nedostatak DRP-a jest niska senzitivnost, a pozitivna prediktivna vrijednost abnormalnog DRP-a iznosi samo 22 – 36% (131). Iako su neki T1c stadiji karcinoma prostate mali, u 51% slučajeva nalaze se u perifernoj zoni pa bi bilo za očekivati da su palpabilni. Ostalih 15 – 25% stadija T1c karcinoma prostate nije palpabilno jer su smješteni u tranzicijskoj zoni (141,142). Ne postoji jasan dogovor između urologa o tome što treba smatrati abnormalnim DRP-om (141). Kada je koncentracija PSA u serumu 4 – 10 ng/ml, incidencija otkrivanja karcinoma prostate pri biopsiji prostate u muškaraca s normalnim DRP-om prosječno je 25%. Među muškarcima s razinom PSA u serumu 4 – 10 ng/ml i abnormalnim DRP-om, prosječno ih 50% ima karcinom prostate na biopsiji. Kod serumske razine PSA preko 10 ng/ml incidencija karcinoma prostate na biopsiji raste 30 – 40% kod muškaraca s normalnim DRP-om te do 70% kod muškaraca s abnormalnim DRP-om (93).

Karcinom prostate na TRUZ-u uglavnom izgleda kao hipoehogena periferna zona, premda mogu biti i hiperehogene ili izoehogene. Unatoč tome što su početne studije zagovarale veliku vrijednost tog testa za otkrivanje karcinoma prostate, kasniji izvještaji zabilježili su njegovu nisku senzitivnost i specifičnost (144,145). Danas se TRUZ uglavnom koristi za iglom ultrazvučno vođenu biopsiju prostate. Druga uloga TRUZ-a jest u određivanju veličine prostate kada se želi procijeniti gustoća PSA. Ipak, nema visoke korelacije između volumena prostate procijenjenog TRUZ-om i stvarnog volumena prostate (146). Ograničenja u vezi s korištenjem TRUZ-a povezuju se s različitom opremom koja se koristi i s činjenicom da pregled uvelike ovisi o izvršitelju.

PSA je serinska proteaza iz obitelji humanog glandularnog kalikreina koja se nalazi u sjemenoj i prostatičnoj tekućini te u serumu. Radi se o glikoproteinu građenom od 244 aminokiselina molekularne mase oko 30 000 daltona, a njegov fiziološki supstrat jest semenogelin I. U sjemenu tekućinu PSA dospijeva iz epitelnih stanica acinusa i prostatičnih kanalića. Glavna je zadaća PSA likvefakcija sjemenog koagula. Značajan dotok PSA u

cirkulaciju zapaža se samo uz narušenu mikroarhitekturu tkiva prostatične žlijezde. PSA u serumu cirkulira u nekoliko različitih molekularnih oblika. 70 – 90% PSA u cirkulaciji kovalentnim je vezama vezano na inhibitore proteinaza ( $\alpha_1$ -antikimotripsin i  $\alpha_2$ -makroglobulin) u veliki makromolekularni kompleks. Taj PSA nazivamo kompleksiranim PSA (cPSA).

Svi testovi za određivanje cPSA mjere isključivo PSA vezan za  $\alpha_1$ -antikimotripsin, a ne i PSA vezan za  $\alpha_2$ -makroglobulin (147). Ukupni PSA (engl. *total* PSA, tPSA) sastoji se od vezanog i slobodnog PSA (engl. *free* PSA, fPSA), koji je enzimski inaktivan i ne tvori kompleks s inhibitorima proteinaza te čini 10 – 30% tPSA (148). Taj slobodni PSA može biti u nekoliko molekularnih oblika – benigni PSA (bPSA) (28%), inaktivni PSA (iPSA) (39%) i proPSA (33%) – koji su podrijetlom iz različitih regija prostate. U BPH nalazi se apsolutni porast koncentracije iPSA i bPSA u serumu, odnosno njihov povećani udio u frakciji fPSA.

ProPSA (engl. *proenzyme PSA*) podrijetlom je iz periferne regije prostate, gdje pretežito nastaje karcinom prostate. ProPSA preteča je PSA, odnosno međuprodukt u nastanku zrelog, cjelovitog proteina te njegova povećana koncentracija u serumu upućuje na karcinom prostate. PSA nastaje u sekretornim stanicama kao inaktivni propeptid (244 aminokiseline) i u lumenu kanalića od propeptidnog lanca odcjepljuje se oligopeptid duljine 7 aminokiselinskih ostataka. Nakon te protolitičke hidrolize proPSA molekule nastaje enzimski aktivan, zreli PSA (237 aminokiselina) (147). Humani kalikrein 2 (hK2) odgovoran je za cijepanje ovog peptidnog lanca tijekom procesa aktivacije PSA. Otkrivene su različite nepotpuno rascijepljene forme proPSA koje su vjerojatno povezane s karcinomom prostate (149).

Catalona i suradnici (150) utvrdili su da proPSA ima veću selektivnost u otkrivanju karcinoma kod  $GS \geq 7$  u rasponu tPSA 2 – 10 ng/ml u usporedbi s fPSA i tPSA. Razina PSA < 4 ng/ml predstavlja uredan nalaz. Ipak, oko 20% bolesnika s karcinomom prostate ima vrijednost PSA < 4 ng/ml (151-153).

Thompson i suradnici (154) otkrili su karcinom prostate kod približno 15% muškaraca s PSA u rasponu normalnih vrijednosti (0 – 4 ng/ml), a oko 15% tih muškaraca imalo je  $GS \geq 7$ .

Dakle, nakon naglog porasta PSA testiranja uočeno je da postoji znatan rizik od karcinoma prostate bez obzira na razinu PSA u serumu i zabilježeno je da *screening* programi bazirani na PSA mogu previdjeti znatan broj karcinoma prostate. Razina PSA u serumu povišena je i kod većih benignih prostata, u starijoj dobi bolesnika, kod upale prostate te nakon DRP-a.



Uz tPSA, omjer slobodnog i ukupnog PSA (f/tPSA) pomaže u razlikovanju karcinoma prostate od BPH. Taj se odnos izražava u postocima te f/tPSA iznad 20% uz serumsku razinu PSA 4 – 10 ng/ml povećava vjerojatnost da se radi o BPH. Time se smanjuje broj nepotrebnih biopsija prostate (155,156).

Utvrđeno je da postotak fPSA može poboljšati specifičnost PSA testiranja. Udio fPSA viši od 25% ukazuje na niži rizik od karcinoma prostate u usporedbi s onim kada je razina fPSA manja od 10%. Neki autori preporučuju korištenje testa kod muškaraca s normalnim DRP-om i serumskom razinom PSA između 4 i 10 ng/ml prije odluke hoće li se izvoditi ponovna biopsija poslije inicijalne negativne biopsije. Općenito, kombinacija abnormalnog DRP-a, TRUZ-a i PSA testova povećava vjerojatnost otkrivanja karcinoma prostate na biopsiji u odnosu na svaki test pojedinačno (157,158).

Povišene razine serumskog PSA povezane su i s volumenom prostate, a razina PSA u serumu raste i starenjem. Smatra se da i volumen prostate raste starenjem te da muškarci iznad 70. godine života imaju vrijednost PSA i do 6,5 ng/ml (159). Preporučena dob-specifična gornja razina serumskog PSA jest 2,5 ng/ml za dob 40 – 49 godina; 3,5 ng/ml za dob 50 – 59 godina; 4,5 ng/ml za dob 60 – 69 godina i 6,5 ng/ml za dob 70 – 79 godina. Rezultat korištenja takvih dob-specifičnih raspona PSA veći je broj izvedenih biopsija kod mlađih muškaraca koji imaju nisku razinu PSA u serumu i manje biopsija izvedenih kod starijih muškaraca sa serumskom razinom PSA nešto iznad „normalnog *cutoffa*“ od 4,0 ng/ml.

Gustoća PSA računa se dijeljenjem ukupne serumske razine PSA s procijenjenim volumenom žlijezde (obično utvrđenim TRUZ mjerenjem) i njezina gornja normalna vrijednost prosječno iznosi 0,15. Postoje oprečne studije o prednosti gustoće PSA nad PSA za otkrivanje karcinoma. Nadalje, mjerenje volumena prostate TRUZ-om ne korelira dobro sa stvarnim volumenom prostate.

Stopa rasta PSA koja najbolje razlikuje muškarce s karcinomom i bez karcinoma prostate jest 0,75 ng/ml na godinu. Kako bi ovaj test bio valjan, potrebna su barem tri mjerenja PSA u razdoblju 1,5 – 2 godine. Nakon RP-a serumska razina PSA trebala bi pasti na nemjerljivu razinu. Slično, nakon radioterapije, serumska razina PSA past će, iako ne u istoj mjeri kao nakon RP-a. Tri uzastopna porasta serumske razine PSA nakon radioterapije znače neuspjeh liječenja karcinoma prostate radioterapijom. Međutim, mnogi kliničari još izvode i biopsiju kako bi utvrdili povrat karcinoma prostate (93).

Biokemijskim povratom smatra se porast PSA nakon inicijalnog pada zbog nekog oblika liječenja. Nakon RP-a recidivom se smatra porast PSA u dva mjerenja na vrijednosti veće od 0,2 ng/ml, a nakon radioterapije više od 2 ng/ml iznad najniže vrijednosti. Ne

preporučuje se uvoditi hormonsku terapiju odmah pri porastu PSA, već samo ako je došlo do simptomatske lokalne progresije, ako je bolest metastatska, ako je GS bio 8 – 10 i ako je vrijeme udvostručenja PSA razmjerno kratko (3 – 12 mjeseci) (160,161).

Mnogi kliničari oslanjaju se na nomograme, kao što su Partinove tablice (162), Kattanov nomogram (163) i D'Amicov nomogram (164), da bi olakšali planiranje liječenja koje se bazira na očekivanoj prognozi. Međutim, korištenje ovih nomograma može biti ograničeno zbog nemogućnosti točnog predviđanja prognoze u općoj populaciji bolesnika. Intenzivno se provode istraživanja potencijalnih biomarkera koji bi poboljšali sposobnost otkrivanja karcinoma prostate u ranom stadiju. Najvažnije je prepoznati biomarkere koji bi mogli otkriti one tumore koji stvarno mogu predstavljati značajan rizik mortaliteta i morbiditeta bolesnika. Idealni biomarker trebao bi biti jednostavno detektibilan i omogućiti točan monitoring bolesti u bilo kojem stadiju (2).

U genetske čimbenike rizika za karcinom prostate ubrajaju se oni uključeni u puteve androgenog metabolizma (165). Gen koji je u žarištu proučavanja jest androgeni receptor (AR) koji veže testosteron i DHT i transaktivira gene s elementima odgovora na androgen. AR ima nekoliko polimorfizama, od kojih većina leži na prvom od njegovih osam eksona. Postoje dvije dužine polimorfizama, (CAG)<sub>n</sub> i (GGC)<sub>n</sub> i pojedinačni nukleotidni polimorfizam (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP), G1733A. Brojne kontrolirane studije navode različite stupnjeve povezanosti između CAG (engl. *cytotoxin associated gene*) ponovljene dužine polimorfizama i rizika od karcinoma prostate (166-169). Još jedan gen koji se povezuje s većim rizikom od karcinoma prostate jest CYP17 (engl. *cytochrome P450c17alpha gene*). Većina studija podupire hipotezu da CYP17\*A2 alel predisponira muškarce za karcinom prostate putem povećane biosinteze testosterona (170-172). Kittles i suradnici (172) izvijestili su da je C alel CYP17 polimorfizam značajno povezan s većim rizikom za karcinom prostate i klinički naprednom bolesti kod crnaca. CC genotip bio je značajno povezan s višim stupnjem i stadijem karcinoma prostate.

Polimorfizmi u genu SRD5A2, koji kodira enzim 5- $\alpha$ -reduktazu, također se povezuju s višim rizikom za karcinom prostate. S obzirom na rezultate *Prostate Cancer Prevention Trial* u kojem je za 24,8% reduciran rizik karcinoma prostate kod muškaraca koji su primili inhibitor ovog enzima (npr. finasterid), funkcionalni polimorfizmi ovih gena mogu biti vrlo važni u individualnom riziku muškaraca za karcinom prostate (173).

$\alpha$ -metilacil-CoA racemaza (engl. *alpha-methylacyl-CoA racemase*, AMACR) gen, smješten na kromosomu 5, *up-reguliran* je u karcinomu prostate (174). Otkrivene su mnoge

varijante dodatnih prognostičkih molekularnih markera za karcinom prostate. Neke od njih, kao Ki-67 (MIB-1) označavajući indeks, koriste se rutinski (175).

Brojni drugi molekularni markeri povezuju se s rizikom progresije bolesti. Različiti istraživači utvrdili su povišene razine serumskog transformirajućeg čimbenika rasta  $\beta 1$  (engl. *transforming growth factor beta 1*, TGF $\beta 1$ ), IL-6 i sIL-6R kod bolesnika s metastatskim karcinomom prostate (176,177).

Ostali molekularni prognostički čimbenici koji se intenzivno istražuju jesu regulatorni proteini staničnog ciklusa, kao ciklin D1, p21 i p27 (178), mikrovezalna gustoća (179,180), mikrosatelitska nestabilnost (181) i caveolin-1 (182).

Umjesto mjerenja pojedinačnih proteinskih biomarkera, nove metode nastoje definirati obrasce individualnih grupa proteina koje se povezuju s pojedinim bolestima. SELDI-TOF (engl. *surface-enhanced laser desorption/ionization – time-of-flight*) relativno je nova tehnologija koja koristi ProteinChip sistem (Ciphergen Biosystems, Fremont, SAD) za hvatanje grupa proteina na kromatografskoj površini radi dobivanja masenog spektra ili profila koji dozvoljava analizu velikog broja proteina unutar uzorka (183,184).

Imunohistokemija (IHC) ili imunocitohistokemija metoda je kojom se lokaliziraju specifični antigeni u tkivu ili stanicama, a bazira se na prepoznavanju kompleksa antigen-antitijelo svjetlosnim mikroskopom (185). U biopsiji prostate od velike su koristi imunomarkeri koji mogu pomoći postavljanju dijagnoze karcinoma u malim žarištima atipičnih žlijezda i mogu biti dragocjeni jer ponovljene biopsije ne dosežu uvijek ciljno žarište (186).

PSA ekspresija na razini IHC-a specifičan je i senzitivniji marker prostatičnog podrijetla sa senzitivnošću do 97,4% (187). Uretralne, periuretralne i perianalne žlijezde rijetko pokazuju PSA reaktivnost. Ekstraprostatične neoplazme povremeno ekspimiraju PSA uključujući uretralne i periuretralne adenokarcinome, kloakogeni karcinom, pleomorfni adenom žlijezda slinovnica i salivarni duktalni karcinom, kao i rijetki mamarni karcinomi (188-190).

Prostata-specifičan membranski antigen (PSMA) jest tip II membranskog glikoproteina koji je ekspimiran u tkivu prostate te manje u perifernom i centralnom živčanom sustavu, tankom crijevu i salivarnom žljezdanom tkivu. PSMA ekspresija također je nađena u endotelnim stanicama neovaskulature mnogih solidnih tumora uključujući karcinom renalnih stanica (191-195). Benigne i maligne epitelne stanice prostate ekspimiraju PSMA, s tim da maligne stanice jače ekspimiraju PSMA. On je ekspimiran i u HGPIN-u (196). PSMA ekspresija korelira sa stadijem karcinoma prostate i GS-om (197). Veća PSMA ekspresija jest

neovisan prediktor povrata karcinoma prostate (198,199). Budući da se PSMA ekspresija održava u karcinomu prostate koji je hormonski neovisan, on je koristan u dijagnostici takvih slučajeva (193,200). Nadalje, PSMA se istražuje kao cilj terapije kod karcinoma prostate i drugih solidnih tumora s obzirom na njegovu ekspresiju neovaskulature ekstraprostatičnih tumora (201-203). Citoplazmatska i, u manjoj mjeri, membranska PSMA ekspresija utvrđene su u 11% analiziranih adenokarcinoma mokraćnog mjehura (204).

Prostata-specifična kiselina fosfataza (engl. *prostate-specific acid phosphatase*, PSAP) marker je podrijetlom iz prostate koji je bio korišten za imunooznačavanje karcinoma prostate prije otkrića PSA. Trenutno, njegovo korištenje kao markera u bolestima prostate smanjeno je zbog njegova relativnog nedostatka specifičnosti u usporedbi s PSA (205,206).

Prostein-P501S eksprimiran je i u benignom i u neoplastičnom tkivu prostate. Tipično P501S bojenje jest perinuklearne citoplazmatske (Golgi) lokalizacije i pjegava obrasca. Ekspresija je zadržana u loše diferenciranom i metastatskom karcinomu prostate (207). Ekspresija P501S nije se pokazala u ekstraprostatičnim karcinomima, što ga čini korisnim za diferenciranje *high-grade* karcinoma prostate od drugih *high-grade* karcinoma, uključujući kolorektalni i urotelijalni karcinom (106,187,204,207-210).

$\alpha$ -metilacil-CoA racemaza (AMACR) jest enzim koji ima ključnu ulogu u peroksisomalnoj  $\beta$ -oksidaciji razgranatog lanca masnih kiselina. Luo i suradnici (211) pokazali su da i karcinom prostate i HGPIN imaju značajno veću ekspresiju AMACR-a nego normalni epitel prostate. I netretirane metastaze i hormon rezistentni metastatski karcinom prostate općenito održavaju jako pozitivnu reaktivnost za AMACR (odsustvom bazalnih staničnih markera poput nuklearnog proteina p63 i HMWCK) (212).

Citoplazmatsko AMACR bojenje, kombinirano s HMWCK, pokazalo se izrazito korisnim u pružanju dodatne sigurnosti za postavljanje dijagnoze karcinoma prostate u malom žarištu dobivenom biopsijom iglom (212-215). Međutim, AMACR ekspresija nađena je i u HGPIN-u i nekim benignim oponašateljima karcinoma prostate, kao što su žljezdana atrofija, djelomična atrofija i adenoza. Prema tome, AMACR od male je koristi kao pojedinačni marker u rješavanju diferencijalne dijagnoze karcinoma prostate u takvim lezijama. Zbog toga se preporuča korištenje panela imunobojenja uključujući AMACR, HMWCK i p63 (pozitivno AMACR imunobojenje uz negativne bazalne stanične markere) za utvrđivanje atipičnih žljezdanih prostatičnih žarišta (216-220).

Citokeratin visoke molekularne težine (engl. *high-molecular weight cytokeratin*, HMWCK) vrlo je koristan u isticanju prisutnosti ili odsutnosti bazalnih stanica u žarištu atipičnih žljezda prostate (16,221-223). 34 $\beta$ E12 trenutno je najrasprostranjeniji klon koji se

koristi ili samostalno ili kao komponenta koktela s trima antitijelima uključujući drugi marker bazalnih stanica (p63, AMACR). Citokeratin 5/6 (CK5/6) može biti korišten kao HMWCK marker samostalno ili u kombinaciji s p63 i AMACR (186). Takvi kokteli omogućuju razlikovanje benignih od malignih lezija u tkivu prostate (224).

p63 ekspresija u prostati ograničena je na bazalne stanice i njegova ekspresija nedostaje u sekretornim i neuroendokrinim stanicama (225). Posljednji eksperimentalni dokazi također sugeriraju da je p63 gen esencijalan za normalnu funkciju matičnih stanica prostate (226). Potrebno je uzeti u obzir da benigne prostatične žlijezde iz tranzicijske zone mogu biti povod za varijabilno bojenje bazalnih stanica, što može rezultirati povremenim negativnim bojenjem bazalnih stanica u takvim benignim žlijezdama (227).

IHC ima bitnu ulogu u dijagnostici PIN-a jer se njime može razlikovati PIN od karcinoma prostate, posebice kribriiformni tip PIN-a od kribriiformnog karcinoma prostate (228). Kod karcinoma prostate bazalni sloj stanica nedostaje, dok je kod PIN-a održan ili fragmentiran. Fragmentirani bazalni sloj nalazi se u 56% PIN-ova i učestalost fragmentiranja veća je u onim žlijezdama s PIN-om koje su bliže žarištu karcinoma. Količina fragmentiranosti bazalnog sloja raste i s povećanjem gradusa PIN-a (229).

Korištenje IHC markera koji pomažu postavljanju dijagnoze karcinoma prostate u morfološki atipičnom malom žarištu žlijezda prostate, trenutno je uobičajena laboratorijska praksa. Kako je navedeno ranije, korišten samostalno ili kombiniran s dva ili tri markera u panelu, HMWCK i/ili p63 i/ili AMACR više pomaže u potvrđivanju odsutnosti bazalnog sloja kombiniranog s pozitivnom AMACR ekspresijom u tako malom žarištu. Takav panel također se koristi za razlikovanje malih žarišta karcinoma prostate koji graniče s HGPI-om gdje bi se prekinuti (fragmentirani) sloj bazalnih stanica trebao uočiti pomoću imunobojenja (186).

Danas se dijagnosticira više od 200 000 novih slučajeva karcinoma prostate i godišnje umire više od 30 000 muškaraca od karcinoma prostate (230). Metode koje se danas koriste za rano otkrivanje karcinoma prostate nedovoljno su točne jer se njima ne mogu razlikovati beznačajni od klinički značajnih i potencijalno smrtonosnih karcinoma prostate.

### **1.5.6. Liječenje bolesnika s karcinomom prostate**

Različiti oblici liječenja utječu na kvalitetu života bolesnika. RP i radikalna radioterapija učinkoviti su oblici liječenja za karcinome koji su stvarno ograničeni na prostatu (231).

Oesterling i suradnici pronašli su da je kod 53% bolesnika liječenih RP-om bolest bila ograničena na prostatu, 35% imalo je ekstrakapsularno širenje bolesti, dok je 9% imalo širenje karcinoma u sjemene mjehuriće (232). Da bi se riješio problem tzv. predijagnosticiranosti (engl. *overdiagnosis*) karcinoma prostate, predložena su dva konzervativna terapijska postupka: 1) *watchful waiting* (konzervativni terapijski postupak do trenutka pojave lokalne ili sistemske progresije bolesti kada se bolest počinje liječiti palijativno) i 2) aktivno praćenje (bolesnik se poslije postavljanja dijagnoze prati, a liječenje počinje kad bolest pokaže progresiju) (83).

Terapija izbora za bolesnike sa stadijem T1 ili T2 karcinoma prostate jest RP, iako i radioterapija pokazuje istu učinkovitost u toj skupini bolesnika (233).

Radikalno kirurško liječenje podrazumijeva RP s ekstirpacijom zdjelčnih limfnih čvorova i odstranjenje cijele prostate. Važno je sačuvati oba žilno-živčana snopa da se izbjegne impotencija poslije operacije koja se javlja u 30 – 100% slučajeva te inkontinencija koja se javlja u do 18% bolesnika poslije RP-a (234,235). Ostali operativni zahvati kod bolesnika s lokaliziranim karcinomom prostate jesu perinealna prostatektomija (236), laparoskopna prostatektomija (237) i laparoskopna operacija koju izvodi robot spojen na laparoskop (238).

Stadij bolesti najvažniji je prognostički čimbenik u postoperativnom razdoblju, odnosno činjenica je li tumor ograničen na prostatu ili je probio kapsulu i proširio se u sjemenske mjehuriće. Ako je tumor ograničen na prostatu, 90% bolesnika preživi pet godina nakon operacije bez znakova bolesti (239).

GS u uzorku tkiva prostate također je važan prognostički čimbenik za ishod nakon RP-a. Slabije diferencirani karcinom (veći gradus) znači slabiju prognozu. Stamy i suradnici (9) zaključili su da je pri gradusu 4 i 5 prognoza lošija (240).

Nakon operativnog zahvata, svaka tri mjeseca u prvoj godini kontrolira se serumski PSA, u drugoj godini dvaput godišnje, kasnije jedanput godišnje. Ukoliko nakon operativnog zahvata dođe do porasta serumskog PSA, odnosno biokemijskog povrata, bolesnika se upućuje na iradijacijsku terapiju (241).

Terapija izbora za bolesnike s T3 stadijem jest vanjsko zračenje. Adjuvantna i neoadjuvantna hormonska terapija poboljšavaju preživljenje bez bolesti (242). Radikalna radioterapija jest alternativa RP-u kod bolesnika s lokaliziranim karcinomom prostate te terapija izbora kod bolesnika s lokalno uznapredovalim tumorom. Preživljenje bez biokemijskog povrata bolesti ne razlikuje se između bolesnika liječenih RP-om i radikalnom radioterapijom (243).

Kod starijih bolesnika ili kada je operativni zahvat kontraindiciran, metoda izbora jest iradijacijska terapija (244). Umor, eritem kože, akutni urinarni i crijevni simptomi, letargija i gubitak pubične dlakavosti uobičajeni su simptomi tijekom radioterapije. Incidencija kasnih urinarnih ili rektosigmoidalnih teških nuspojava jest 3 – 5%, a srednje teških 7 – 10%. Proktitis ili proktosigmoiditis s rektalnim krvarenjem i anemijom vide se u 1 – 3% zračenih bolesnika. Eretilna disfunkcija prisutna je u visokom postotku, do 50% (245).

Kod lokalno uznapredovalog karcinoma prostate ili metastatske bolesti (regionalni i udaljeni limfni čvorovi, udaljeni organi) terapija je palijativna. Cilj palijativne terapije jest učiniti operativnu ili kemijsku kastraciju lijekovima, odnosno ukinuti utjecaj testosterona na prostatu. Remisija prosječno traje 18 mjeseci, ali može trajati i nekoliko godina, ovisno o kliničkom stadiju bolesti. Osim operativno (obostrana orhidektomija), kastracija se može učiniti i LHRH agonistima (engl. *luteinizing hormone-releasing hormone*) te antiandrogenima. Postoje nesteroidni i steroidni antiandrogeni. Nuspojave nakon pada razine serumskog testosterona jesu: impotencija, gubitak libida, debljanje, naleti vrućine, ginekomastija (246-248). Nadbubrežna žlijezda sintetizira 5% testosterona, zbog čega neki autori zagovaraju kombiniranu terapiju koja će smanjiti sintezu testosterona u testisima, a s druge strane blokirati učinak testosterona iz nadbubrežnih žlijezda. Kompletna blokada androgena (engl. *complete androgen blockade*, CAB) obuhvaća dodatak antiandrogena standardnoj medikamentnoj kastraciji i LHRH agonistima. Po novim saznanjima najbolja hormonska terapija jest CAB i ona se ne bi trebala prekidati ni nakon pojave refraktornosti na prvu liniju u metastatskoj bolesti (249,250)

Od palijativnih postupaka najznačajniji su liječenje sekundarizama na kostima zračenjem, transuretralna resekcija prostate, perkutana nefrostomija (251).

Za karcinom prostate koji progredira uprkos kastracijskoj razini testosterona u serumu, smatra se o androgenu neovisnim (engl. *androgen independent prostate carcinoma*, AIPC) ili karcinomom refraktornim na hormone (engl. *hormone refractory prostate carcinoma*, HRPC). Biološku situaciju u tumoru bolje odražava naziv karcinom otporan na kastraciju (engl. *castration resistant prostate carcinoma*, CRPC). Za liječenje takvih bolesnika na raspolaganju je kemoterapija (252-255).

Glavne posljedice koštanih metastaza jesu bol, hiperkalcemija, patološka fraktura na mjestu metastazom razorene kosti, kompresija kralježnične moždine. Za sprječavanje, odgađanje ili usporavanje tih komplikacija u liječenju se koriste bifosfanati (256-258).

Krioterapija je kirurški postupak za liječenje ograničenog karcinoma prostate i podrazumijeva ablaciju tkiva ekstremno niskim temperaturama. Eksperimentalne metode

liječenja ograničenog karcinoma prostate jesu fokusirani ultrazvuk visokog intenziteta (engl. *high-intensity frequency ultrasound*, HIFU) i intersticijska ablacija tumora radiofrekvencijom (engl. *radiofrequency interstitial tumor ablation*, RITA) (259).

## 1.6. CITOKINSKA I ENDOKRINA SIGNALIZACIJA KARCINOMA PROSTATE

Embrionalni razvoj prostate reguliran je međudjelovanjem epitelnih i mioepitelnih stanica kao i stromalnih stanica, uključujući fibroblaste, miofibroblaste, imune stanice i endotelne stanice. Medijatori ovih međudjelovanja jesu solubilni androgeni i njihovi receptori koji su prisutni i u epitelnim i u stromalnim stanicama te peptidni čimbenici rasta i njihovi receptori, kao što su TGF- $\alpha$  i TGF- $\beta$ , epidermalni čimbenik rasta (engl. *epidermal factor growth*, EGF) i bazični fibroblastni čimbenik rasta-2 (engl. *basic fibroblast growth factor*, bFGF-2) (260,261). Keratinocitni čimbenik rasta (engl. *keratinocyte growth factor*, KGF) važan je u razvoju prostate i smatra se da ovaj citokin kontrolira proliferaciju epitelnih stanica na parakrini način (262). Inzulinu slični čimbenici rasta (engl. *insuline-like growth factors*, IGF) jesu polipeptidni čimbenik rasta s funkcionalnom homologijom za inzulin, ali za razliku od inzulina ti proteini stvaraju se lokalno od različitih tkiva (263,264).

Hormoni igraju središnju ulogu u biologiji prostate. Androgeni su potrebni za razvoj, rast i funkciju prostate. Estrogeni također mogu utjecati na rast i diferencijaciju prostate. I androgeni i estrogeni mogu biti upleteni u karcinogenezu prostate (265-268). Hormonalna karcinogeneza u odgovoru na testosteron i estradiol podupire koncept da je hormonalna karcinogeneza posredovana putem parakrinih čimbenika čija je izraženost ovisna o stromalnim AR. Stromalno mikrokruženje igra ključnu ulogu u hormonalnoj karcinogenezi (269).

AR je član obitelji steroidnih nuklearnih receptora i eksprimiran je u skoro svim tkivima karcinoma prostate, uključujući tumore neosjetljive na androgene i njihove metastaze. AR posreduje djelovanju lipofilnih liganda, uključujući steroidne, retinoidne, vitamin D3 i tiroidne hormone. AR upravlja sklopom bazalnog transkripcijskog kompleksa i kofaktorima koji su ovisni o androgenima na ciljanom genu promotoru time povisujući transkripciju (270).

AR je fosfoprotein koji posreduje djelovanju testosterona i DHT-a djelujući kao transkripcijski čimbenik. AR je nađen u mnogim tkivima obaju spolova, ali je najobilniji u tkivima muškaraca. Za izbjegavanje apoptoze kao i za rast karcinoma prostate potrebni su androgeni. Zbog toga se u liječenju karcinoma prostate provodi blokada djelovanja androgena ili odstranjenje testikularnih androgena.



Stanice tumora prostate imaju nekoliko mogućih mehanizama pomoću kojih mogu postati neosjetljive na androgene. Karcinom prostate počinje kao tumor koji ovisi o androgenima i koji se može uspješno liječiti androgen-ablacijskom terapijom ili strategijama koje reduciraju koncentraciju testosterona. Unatoč tom liječenju karcinom prostate s vremenom preraste u tumor koji je neovisan o androgenu, odnosno HRCaP, i više se ne može liječiti hormonskim terapijama. Prema tome, progresija androgen-ovisnog do androgen-neovisnog ključni je korak u razvoju karcinoma prostate, ali molekularna osnova za razvoj karcinoma prostate koji je neovisan o hormonima slabo je razumljiva (271).

Mehanizmi koji mogu pridonijeti progresiji karcinoma prostate od androgen-ovisnog do androgen-neovisnog jesu:

- 1) povećanje broja AR ili mutacije u AR-hormonvezujućoj domeni mogu promijeniti njegovu funkciju (272-274),
- 2) regrutiranje nesteroidnih receptor-signalizacijskih transdukcijskih puteva aktivira AR na mjestu na kojem je došlo do kliničke deprivacije androgena. AR bi mogao postati aktivan na ligand-neovisan način pomoću čimbenika rasta (IGF-1, EGF i KGF) te receptora čimbenika rasta HER2 (engl. *human epidermal growth factor receptor 2*). Ti čimbenici povezani su s različitim signalnim putevima te su mehanizmi koji su u podlozi androgene neovisnosti vjerojatno višestruki (275).

Pokazano je da prekomjerna ekspresija HER-2/neu-receptor-tirozin-kinaze može biti jedan od mehanizama za hormonsku neovisnost (276). Prekomjerna ekspresija IL-6 upletena je u malignu pretvorbu karcinoma prostate i IL-6 receptor eksprimiran je u većini staničnih linija karcinoma prostate (277). Nadalje, za IL-6 se pokazalo da regulira rast karcinoma prostate i transaktivira AR-gensku ekspresiju u odsutnosti androgena. IL-6 je nesteroidni aktivator AR-a putem intracelularnog međudjelovanja IL-6 i AR-signalizacijskog puta (278). Poznato je da IL-6 aktivira erbB2/HER2 i JAK (engl. *Janus kinase*) obitelj tirozin-kinaza kroz gp130 receptor s kasnijom aktivacijom mitogen aktivirane protein kinaze (engl. *mitogen activated protein kinase*, MAPK) i signal transdjusera aktivatora transkripcije (engl. *signal transducer and activator transcription*, STAT) (277).

Citokini čine raznoliku grupu intracelularnih signalizacijskih proteina koji reguliraju lokalne i sistemske imune i upalne odgovore kao i cijeljenja rana i hematopoezu. Razlikujemo proinflamatorne i antiinflamatorne citokine. Upalni citokini, uključujući TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6, aktiviraju koagulaciju i inhibiraju fibrinolizu, što može rezultirati difuznim oštećenjem endotela kapilara, s posljedičnom disfunkcijom brojnih organa (279).

Proliferacija i sazrijevanje normalnih i malignih stanica imunološkog sustava regulirani su interleukinima. Takvi citokini mogu također utjecati na proliferaciju i diferencijaciju drugih tipova stanica. Kada se stanice karcinoma prostate tretiraju s IL-6, aktivira se nekoliko puteva: apoptoza (280), inhibicija proliferacije (281), inhibicija DNA sinteze i zastoj u G1 fazi staničnog ciklusa (282) ili produženje intervala između mitoze i ponovnog prijanjanja stanica kćeri na podlogu (283).

## 1.7. INTERLEUKIN-6

IL-6 je pleiotropni citokin koji je prekomjerno eksprimiran u odgovoru na ozljedu, upalu i infekciju (284).

IL-6, također poznat kao interferon  $\beta_2$ , 26-kDa protein i B stanični stimulacijski faktor2, citokin je čije djelovanje uključuje stimulaciju sinteze imunoglobulina, povećanje rasta B stanica i modulaciju sinteze proteina akutne faze od strane hepatocita. Sinteza IL-6 stimulirana je od IL-1, TNF-a ili čimbenika rasta izoliranog iz trombocita (PDGF, engl. *platelet derived grow factor*) (285).

Humani IL-6 gen nalazi se na kromosomu 7p21 (286,287) i sastoji se od 5 eksona i 4 introna. Organizacija gena IL-6 pokazuje izrazitu sličnost s G-CSF (engl. *granulocyte-colony-stimulating factor*) genom. Oba gena imaju isti broj eksona i introna i veličina svakog eksona upadljivo je slična iako je duljina introna različita (288). Mehanizam kojim se regulira ekspresija IL-6 gena nije poznat. Pokazano je da porast intracelularnog cikličkog adenosin monofosfata (engl. *cyclic adenosine monophosphate*, cAMP) pojačava IL-6 gensku ekspresiju putem protein kinaze C-neovisnog mehanizma. IL-1 i čimbenik nekroze tumora (engl. *tumor necrosis factor*, TNF) također povisuju IL-6 mRNA razinu putem protein kinaze C-neovisnog mehanizma (285).

IL-6 proizvode različiti tipovi limfoidnih i nelimfoidnih stanica, kao što su T stanice, B stanice, monociti, fibroblasti, keratinociti, endotelne stanice, mezengijalne i određene tumorske stanice (289).

IL-6 inducira rast T stanica i diferencijaciju citotoksičnih T stanica (290), makrofaga (291), megakariocita (292) i osteoklasta (293) te proizvodnju IL-2 (294). IL-6 djeluje sinergistički s IL-3 u formiranju kolonija blast stanica pri hematopoezi (295).

Izlučivanje IL-6 regulira nekoliko fizioloških i patoloških čimbenika kao što su hormoni, citokini, prehrana, tjelesne aktivnosti, stres i hipoksija. IL-6 koji se luči od adipoznog tkiva može imati učinak na metabolizam kroz nekoliko mehanizama kao što su

ekspresija specifičnih gena adipoznog tkiva, oslobađanje triglicerida, smanjenje aktivnosti lipoprotein lipaze i senzitivnosti na inzulin (296).

Serumska razina IL-6 niska je ili nedetektibilna u normalnim fiziološkim uvjetima. Proizvodnja IL-6 u skeletnim mišićima raste 100 puta tijekom fizičke aktivnosti i IL-6 se znatno više proizvodi i oslobađa u razdoblju poslije vježbe, kada je aktivnost inzulina veća. S druge strane, IL-6 je povezan s debljinom i smanjenim djelovanjem inzulina (297).

Povišena razina IL-6 u serumu javlja se zajedno s povišenom razinom C-reaktivnog proteina (CRP) u stanjima kao što su depresija, kronična upala i kardijalne bolesti (298).

Učinci IL-6 u ciljnim stanicama ovise o prisutnosti njegova membranskog receptora. IL-6R eksprimiran je u tkivima epitelnog i mezenhimalnog podrijetla (299). Ovaj receptor sadrži dvije podjedinice, ligand-prepoznavajuću komponentu ( $\alpha$ -podjedinicu) gp80 (IL-6R $\alpha$ /gp80) i signal-transdukcijsku komponentu ( $\beta$ -podjedinicu) gp130 (289). Vezivanje IL-6 na  $\alpha$ -podjedinicu dovodi do dimerizacije  $\beta$ -podjedinice i posljedične aktivacije JAK-ova. Ovaj korak prati indukcija tirozin-fosforilacije i nuklearne translokacije signalnih prijenosnika i aktivatora transkripcijskih čimbenika i pokretanje genske transkripcije (300).

Dok je gp130 prisutan na gotovo svim stanicama u tijelu, IL-6R je prisutan samo na nekim stanicama, uglavnom hepatocitima i leukocitima. Stanice koje eksprimiraju samo gp130, a ne IL-6R, neosjetljive su na IL-6. IL-6R može postojati kao solubilni protein koji je stvoren ograničenom proteolizom receptora koji je vezan za membranu ili prijenosom iz naizmjenično cijepane mRNA. Taj sIL-6R može vezati IL-6 i solubilni kompleks sIL-6R/IL-6 može se vezati na gp130 na stanice koje nemaju za membranu vezan IL-6R i pokrenuti gp130 signalizaciju. Taj se proces naziva „trans-signalizacija“ (284).

Većina solubilnih receptora jesu antagonisti, ali neki su solubilni receptori agonisti. U takvim slučajevima kompleksi liganda i solubilnog receptora vežu se na ciljnoj stanici za druge receptorske podjedinice i započinju intracelularnu signalizaciju. sIL-6R obitelji citokina (sIL-6R, sIL-11R, solubilni cilijarni neurotrofički čimbenik receptor) agonisti su koji mogu prenijeti signale interakcijom s univerzalnim signal-transdukcijskim receptorom za sve citokine iz IL-6 obitelji, gp130. *In vivo*, IL-6/sIL-6R kompleks stimulira procesom trans-signalizacije nekoliko tipova stanica koje ne eksprimiraju membranski IL-6R i time ne odgovaraju na sam IL-6. Solubilni oblik IL-6 obitelji signalizacijskih receptorskih podjedinica gp130 prirodni je inhibitor IL-6 trans-signalizacijskog odgovora. Kod mnogih kroničnih upalnih bolesti kao što su kronične upalne bolesti crijeva, peritonitis, reumatoidni artritis, astma, karcinom kolona, IL-6 trans-signalizacija ključna je u održavanju bolesti, potičući prijelaz od akutne do kronične upale. Nadalje, tijek bolesti može biti prekinut pomoću

solubilnog gp130 (sgp130) proteina koji je prirodni inhibitor sIL-6R-ovisnog IL-6 odgovora (301).

IL-6 trans-signalizacija putem sIL-6R ima važnu ulogu u progresiji nekih autoimunih bolesti i karcinoma omogućujući odgovor na IL-6 u stanicama koje nemaju IL-6R. Tijekom imunog odgovora CD4 T stanice važan su izvor sIL-6R. (302). IL6R također ispuštaju apoptotički humani neutrofilni (303).

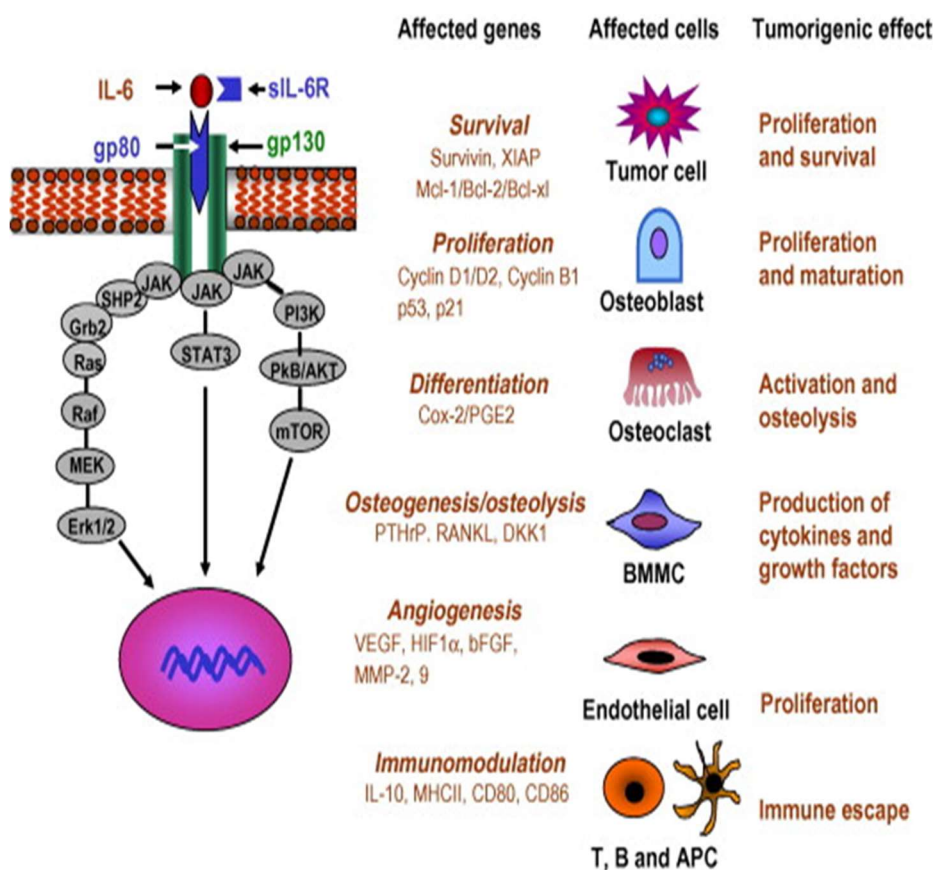
Razine IL-6 u serumu bolesnika s karcinomom jesu unutar raspona pikograma (100 – 500 pg/ml), dok je koncentracija sIL-6R u serumu bolesnika s karcinomom unutar raspona nanograma (ng/ml) (304). IL-6-tip citokina IL-6, IL-11, inhibitorni čimbenik leukemije (engl. *leukemia inhibitory factor*, LIF), onkostatina M (OSM), cilijarni neutrofilni čimbenik, kardiotrofin-1 i citokinu sličan kardiotrofin važna su obitelj posrednika uključenih u regulaciju akutne faze odgovora na ozljedu i infekciju. Ovi citokini također imaju ključnu ulogu u hematopoezi, regeneraciji jetre i neurona, embrionalnom razvoju i fertilitetu. Poremećena regulacija tih citokina i njihove signalizacije pridonosi početku i razvoju nekih bolesti, kao što su reumatoidni artritis, upalna bolest crijeva, osteoporoza, multipla skleroza i različiti tipovi karcinoma (npr. multipli mijelom i karcinom prostate) (305).

Kada se IL-6 veže na svoj receptor aktivira se nekoliko intracelularnih signalizacijskih puteva, kao što su Janus obitelj kinaza (JAK1, JAK2 i tirozin kinaza 2 – TYK2), koji su vezani na citoplazmatsku domenu gp130 (305).

IL-6 također aktivira Ras i potiče njegovu translokaciju u plazmatsku membranu gdje on aktivira Raf, mitogen aktiviranu protein kinazu (engl. *mitogen/extracellular signal-regulated kinase*, MEK) i mitogen aktivirani protein (engl. *mitogen activated protein*, MAP) (Erk1/2) (306).

Treći put aktiviran od IL-6 jest fosfoinozitol 3 kinaza (PI3K) – protein kinaza B (PKB/Akt) put jer JAK može fosforilirati PI3K (307).

Vezivanje STAT-3 na specifičnu DNA domenu potiče ekspresiju različitih gena (slika 1).



Slika 1. IL-6 posredovana signalizacija, genska ekspresija i djelovanje na stanice. IL-6 aktivira tri puta, STAT-3, Erk1/2 i PkB/Akt. To rezultira *up-regulacijom* brojnih gena koji utječu na preživljenje, proliferaciju, diferencijaciju, osteogenezu/osteolizu, angiogenezu i imunomodulaciju u različitim ciljnim stanicama. Ekspresija ovih gena ima nekoliko protumorogenih učinaka. (Dozvolom autora i časopisa, slika preuzeta iz članka Ara T, DeClerck YA. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. Eur J Cancer. 2010;46(7);1223-31.)

U *in vitro* uvjetima, bFGF i ciklooksigenaza (COX-2) jesu *downstream* efektori IL-6 inducirane angiogene aktivnosti u BBC stanicama. IL-6-posredovana bFGF *up-regulacija* događa se kroz aktivaciju JAK/STAT3 i PI3-kinase/Akt puteva. Sprječavanje stvaranja IL-6, inhibicija bFGF stvaranja ili sekrecije ili blokiranje JAK/STAT3 i PI3-Kinase/Akt signalizacijskih puteva mogli bi se koristiti za prevenciju ili liječenje karcinoma kože. Cox-2 također ima ulogu u IL-6-induciranoj angiogenezi (307).

TGF-beta pojačava djelovanje IL-6 koji pokreće aktivaciju STAT3 i STAT3-posredovanu gensku ekspresiju u hepatocitima (308).

IL-6 stimulira ekspresiju Cox-2 u osteoblastima, osteoklastima i tumorskim stanicama i proizvodnju prostaglandina E2 (PGE2) koji djeluje kao posrednik osteoklastične aktivnosti povisujući ekspresiju RANKL u osteoblastima i ekspresiju RANK u osteoklastima. Tako nastaje kaskada signala koji povisuju osteolizu (309,310).

IL-6 također međudjeluje s Wnt signalizacijskim putem koji regulira osteogenezu poticanjem diferencijacije mastocita u koštanoj srži (engl. *bone-marrow derived mast cells*, BMMC) u osteoblaste i sintezu kolagena od strane ovih stanica. Samu Wnt signalizaciju kontrolira nekoliko inhibitora, osobito Dickkopf-1 (Dkk-1) solubilni protein, koji eksprimiraju mnoge metastatske i karcinomske stanice, npr. stanice karcinoma dojke i mijeloma i odgovorni su za inhibiciju osteogeneze povezane s osteolitičkim koštanim metastazama (311).

IL-6 smanjuje sintezu gena poput tip II kolagena i proteina hrskavice pridonoseći smanjenju stvaranja nove kosti (312).

IL-6 također igra važnu ulogu u poticanju metastaza u druge organe osim kostiju. STAT-3 aktivacija koja ovisi o IL-6 u humanom melanomu potiče rast metastatskog tumora u mozgu putem pokretanja naglašene ekspresije bFGF-a, matriks metaloproteinaze (MMP-2) i vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) koji pridonose invaziji i angiogenezi (313).

Utvrđeno je da IL-6 i IL-8, koji su proizvedeni u primarnom tumoru, potiču regrutiranje cirkulirajućih tumorskih stanica natrag u njihov primarni tumor procesom „tumorskog samosijanja“ i time ubrzavaju rast tumora, angiogenezu i regrutiranje stromalnih stanica (314).

U stanicama mijeloma IL-6 prevenira diferencijaciju osteoplastnih progenitor stanica u zrele osteoblaste i prevenira osteolizu. Interakcija između stanica multiplog mijeloma (MM) i mezenhimalnih matičnih stanica (engl. *mesenchymal stem cell*, MSC) iz strome koštane srži rezultira stvaranjem i održavanjem osteolitičkih koštanih lezija. Poznato je da MM stanice potiču osteoklastičnu aktivnost i luče visoke razine Wnt inhibitora, Dkk-1, koji sprječava da se MSC diferenciraju u osteoblaste. Dkk1-blokirajući agensi mogli bi se koristiti ne samo za usporavanje progresije bolesti nego i za izlječenje postojećih osteolitičkih lezija (315).

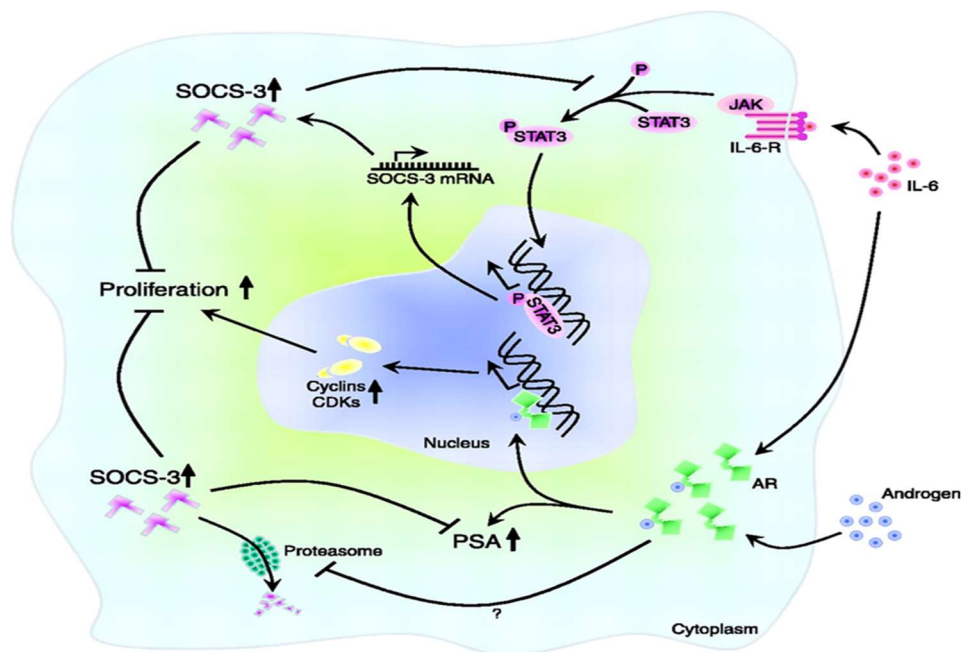
IL-6 povećava ekspresiju nekoliko proteina preživljenja, kao što je survivin. Aktivirana STAT-3 signalizacija pridonosi progresiji karcinoma dojke i rezistenciji na kemoterapeutike i barem djelomično inducira ekspresiju antiapoptičkog proteina survivina (316).

IL-6 tako pridonosi utočišnom učinku u koštanoj srži gdje tumorske stanice stječu rezistenciju na citotoksičnu kemoterapiju (317).

Izražena ekspresija proteina preživljenja obično je povezana s porastom kemorezistencije te je temeljna aktivacija STAT-3 otporna na kemoterapeutike. STAT-3 daje karcinomskim stanicama povećanu sposobnost preživljenja genotoksičnog liječenja. Budući

kemoterapeutski režimi mogli bi imati korist od kombiniranja konvencionalnih lijekova s novom ciljnom terapijom koja se upliće u STAT-3 signalizacijske puteve (318).

IL-6 ima višestruk učinak na tumorsku progresiju. Neki su učinci rezultat njegova direktnog djelovanja na tumorske stanice, drugi su rezultat njegova djelovanja na normalne stanice u tumorskom mikrookruženju, osobito osteoblaste, osteoklaste, endotelne stanice i imune stanice. Mnoštvo dokaza podupire protumorogeni učinak IL-6 u tumorskoj progresiji i koštanim metastazama te terapijsku efikasnost inhibitora IL-6 i IL-6 signaliziranja. Suvremeni pristupi liječenja usmjereni su na velike proteine poput humanih monoklonalnih antitijela (mAb) i malih molekula koje inhibiraju IL-6 posredovanu signalizaciju ili proizvodnju IL-6 (304).



Slika 2. SOCS-3 je uobičajeni negativni regulator za androgen i IL-6 puteve u karcinomu prostate. (Dozvolom autora, slika preuzeta iz članka Neuwirt H, i sur. *Suppressor of cytokine signalling-3 is up-regulated by androgen in prostate cancer cell lines and inhibits androgen-mediated proliferation and secretion. Endocr Relat Cancer. 2007;14(4):1007-19.*)

Supresori citokinske signalizacije (engl. *suppressors of cytokine signalling*, SOCS) mogu spriječiti kontinuiranu aktivaciju signalizacijskih puteva, a induciraju ih interleukini i različiti peptidni hormoni (319). SOCS-3 pripada obitelji SOCS, koja se sastoji od osam članova nazvanih SOCS 1 – 7 i CIS (engl. *cytokine inducible SH2-containing protein*). Ti proteini sadrže centralnu SH2 domenu i C-terminalno SOCS polje. (320,321).

SOCS proteini uključeni su u patološke promjene koje značajno mijenjaju JAK/STAT put i njegovu regulaciju. Ti glavni signalizacijski putevi djeluju na širok raspon fizioloških i patoloških procesa, uključujući upalne, maligne bolesti i imunološke poremećaje putem različitih mehanizama, kao što je vezivanje na fosforilirani citokinski receptor ili JAK (322).

Inhibitorna uloga SOCS-a dozvoljava samo prolaznu aktivaciju JAK-ova i STAT-ova i tako kontrolira trajanje signalizacije koja je inducirana od citokina. SOCS proteini kratkotrajno su prisutni zbog brze proteosomalne degradacije pokrenute od SOCS polja. To inhibitorno djelovanje samo je privremeno (323).

Vjeruje se da su SOCS proteini regulatori petlje negativnog *feedbacka* signalizacijskih puteva koji su posredovani citokinima. Ekspresija i funkcija SOCS proteina istraživana je u nekoliko malignih bolesti. U tim studijama otkriveno je da je SOCS upleten u regulaciju stanične proliferacije i apoptoze (319).

U liniji stanica karcinoma prostate SOCS-3 antagonizira učinke cAMP-a rezultirajući inhibicijom apoptoze i poticanjem stanične proliferacije (324).

Androgen može *up-regulirati* SOCS-3 proteinsku razinu bez utjecaja na transkripciju. Nadalje, SOCS-3 može antagonizirati proliferativne učinke androgena. *Up-regulacija* ciklina i kinaze ovisne o ciklinima (engl. *cyclin-dependant kinase*, Cdk) poslije androgene stimulacije može biti učinkovito inhibirana od SOCS-3. Androgen i IL-6 signalizacija u karcinomu prostate mogu dovesti do novog koncepta regulacije rasta i diferencijacije. To se bazira na činjenici da androgeni i IL-6 induciraju iste negativne regulatore signaliziranja, SOCS-3 (319).



## **2. HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA**

### **HIPOTEZA I**

Razina IL-6 u serumu je viša kod bolesnika kod kojih je biopsijom dokazan karcinom prostate u odnosu na druge bolesti prostate i ekspresija IL-6 veća je u uzorcima tkiva prostate u kojima je dokazan karcinom prostate.

### **HIPOTEZA II**

Razina IL-6 u serumu i ekspresija IL-6 u tkivu bolesnika agresivnijim oblikom karcinoma prostate više su u odnosu na manje agresivan karcinom prostate.

### 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- usporediti razinu IL-6 u serumu bolesnika s karcinomom prostate s razinom IL-6 u serumu bolesnika s BPH, PIN-om i kroničnim prostatitisom
- usporediti utvrđenu razinu IL-6 u serumu bolesnika s karcinomom prostate s priznatim prognostičkim čimbenicima (PSA, GS, T2 i T3/T4 stadij karcinoma prostate)
- usporediti IHC ekspresiju IL-6 u karcinomu prostate s izraženosti u BPH, PIN-u i kroničnom prostatitisu
- usporediti IHC ekspresiju IL-6 u karcinomu prostate s priznatim prognostičkim čimbenicima (PSA, GS, T2 i T3/T4 stadijem karcinoma prostate)

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. ISPITANICI

U istraživanje su uključeni bolesnici kojima je napravljena biopsija prostate, zbog sumnje na karcinom prostate, u razdoblju 9. studenog 2011. – 23. siječnja 2013. godine.

Svaki ispitanik bio je prethodno pregledan i dijagnostički obrađen na Klinici za urologiju gdje je donešena odluka za biopsiju prostate.

Prije same biopsije obavljen je intervju u kojem su od ispitanika uzeti podaci koji bi se mogli koristiti u statističkoj obradi i interpretaciji rezultata, a istovremeno su isti upoznati s načinom provođenja i svrhom ispitivanja te je potpisan pristanak bolesnika za navedeno istraživanje.

Obrađeno je 148 muškaraca u dobi između 33 i 82 godine. U istraživanje su uključeni samo oni muškarci koji su zadovoljavali sljedeće uvjete:

- 1) muškarci podvrgnuti biopsiji prostate na Klinici za urologiju sa sumnjom na karcinom prostate (PSA > 4 ng/ml i/ili pozitivnim DRP-om i/ili pozitivnim ultrazvučnim pregledom prostate)
- 2) postojanje svih kliničkih podataka i adekvatne PHD
- 3) ispitanik nije imao aktivnu infekciju ili upalnu bolest
- 4) ispitanik prije biopsije nije dobivao dodatnu hormonsku i/ili radioterapiju
- 5) ispitanik uz karcinom prostate nije imao dodatni maligni visceralni tumor
- 6) ispitanik tjedan prije biopsije nije bio podvrgnut DRP-u ili drugoj manipulaciji prostate

Klinički podaci o ispitanicima dobiveni su iz osobnih kartona bolesnika na Klinici za urologiju, a podaci o PHD-u iz kompjutorizirane baze podataka Kliničkog zavoda za patologiju i forenzičku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek. Svaki ispitanik dobio je jedinstveni broj s kojim je uključen u istraživanje, a radi zaštite osobnih podataka ispitanika.

Istraživanje je bilo prospektivno i provedeno na Klinici za urologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek u suradnji s Odjelom za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Osijek te Zavoda za patologiju i forenzičku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek.

## **4.2. METODE ISTRAŽIVANJA**

### **4.2.1. Analiza razine IL-6 u serumu**

Krv za određivanje razine IL-6 u serumu prikupljala se u neheparinizirane epruvete prije same biopsije uz odvajanje seruma unutar jednoga sata od uzimanja krvi. Serum je čuvan na -70 °C i otopljen netom prije testiranja. IL-6 u serumu bolesnika određivan je elektrokemiluminiscentnim imunotestom (ECLIA) na COBASe 6000 uređaju tvrtke *ROCHE DIAGNOSTICS* (Mannheim, Njemačka). Najniža razina detektibilnosti IL-6 u serumu bila je 1,5 pg/ml. Razine tPSA, fPSA, f/tPSA u serumu izmjerene su neposredno nakon vađenja krvi.

### **4.2.2. Patohistološka analiza uzoraka tkiva prostate**

Biopsija prostate napravljena je pod kontrolom TRUZ-a iglom promjera 18 *gaugea*. Uzeto je 6 uzoraka, odnosno cilindara, iz lijevog i 6 uzoraka iz desnog režnja prostate. Cilindri tkiva nakon biopsije stavljeni su u kasetu na spužvicu. U svaku kasetu stavljen je jedan cilindar i označeno je mjesto iz kojeg je uzet. Kasetu je zatim zatvorena i stavljena u bočicu s formalinom. Materijal je poslan na PHD istog dana. Nakon što je patolog opisao i izmjerio primljene cilindre pristupilo se daljnjoj obradi cilindara u tkivnom procesoru. Dobiveni materijal uklopljen je u parafin i izrezan na rezove debljine 4 µm koji su deparafinizirani i obojeni standardnom metodom hemalaun-eozinom (HE). Dijagnoza je uglavnom postavljena već na malom ili srednjem povećanju, a temeljila se na kombinaciji arhitekturnih i citoloških kriterija. Glavni arhitekturni kriterij za karcinom bio je infiltrativni rast i odsutnost bazalnih stanica, dok je glavni citološki kriterij bio prisutnost mononukleola u jezgri tumorskih stanica. Svaki nalaz karcinoma sadržavao je Gleasonov uzorak i GS. Patohistološka analiza uzoraka cijele prostate rađena je tako da je uz GS određena i TNM klasifikacija karcinoma (odnosno T2, T3/T4 stadij karcinoma prostate).

### **4.2.3. Imunohistokemijska analiza ekspresije IL-6 u uzorcima tkiva prostate**

Uzorci prostate za IHC na IL-6 odabrani su tako da je uz promjenjeni dio prostate bilo i tkivo prostate koje nije zahvaćeno promjenom, a koje je također analizirano na prisutnost IL-6. Korištena su mišja antihumana IL-6 antitijela (NCL-L-IL-6) kupljena od *Leica Biosystems* (Newcastle, UK). Blokovi tkivnog *microarraya* (engl. *tissue microarray*, TMA) bili su napravljeni kako je prethodno opisano – uzorci tkiva prostate bili su odmah fiksirani u

20%-tnom formalinu, uklopljeni u parafin i podvrgnuti rutinskom PHD-u. Klinički stadij određen je u skladu s *UICC* (123).

### **Imunohistokemijski protokol za IL-6**

- 1) Iz parafinskih blokova tkiva prostate narezani su rezovi debljine 4  $\mu\text{m}$  i nanijeti na silanizirana mikroskopska stakalca (*DAKO*, Danska).
- 2) Rezovi na predmetnim stakalcima izravnati su na vodenoj kupelji na temperaturi od 50 °C.
- 3) Predmetna stakalca sušena su u termostatu 20 minuta na 60 °C.
- 4) Zatim su preparati deparafinizirani u ksilolu 30 minuta.
- 5) Nakon toga su isprani apsolutnim alkoholom te nakon toga destiliranom vodom.
- 6) Slijedilo je ispiranje predmetnih stakalaca u puferu PBS (engl. *phosphate-buffered saline*) pH = 7,2 i tretiranje s  $\text{H}_2\text{O}_2$  (*Dako-NoS 2023*) 30 minuta radi inaktivacije endogene peroksidaze.
- 7) Rezovi su zatim ostali u TRIS (engl. *tris(hydroxymethyl)aminomethane*) puferu 10 minuta.
- 8) Slijedila je uporaba primarnog protutijela IL-6 (*NCL-L-IL-6, klon 10C12, klasa IgG2a*) (*DAKO*, Danska) razrjeđenja 1 : 50 koje se inkubiralo na 5 °C u hladnjaku 20 sati.
- 9) Nakon toga su ispirani TRIS puferom i destiliranom vodom i zatim je uslijedila inkubacija epitop enzimom EnVision 30 minuta.
- 10) Mjesto nastalog imunokompleksa vizualiziralo se pomoću kromogena DAB-a (3,3-diaminobenzidin) tako da je u njemu inkubirano 20 minuta.
- 11) Zatim je slijedilo bojenje HE-om 6 minuta.
- 12) Nakon bojenja uslijedilo je ispiranje destiliranom vodom i dehidracija apsolutnim alkoholom te izbistravanje u ksilolu 10 minuta.
- 13) Na kraju su se predmetna stakalca lijepila kompatibilnim ljepilom za ksilol i pokrila su se pokrovnim stakalcima.

Dijagnostika je rađena svjetlosnim mikroskopom *KARL ZEIS imager A1*, povećanjem 40x i 100x, a po potrebi i većim za određivanje citoloških detalja kao što su tip kromatina, veličina nukleola, citoplazmatski detalji. U jednom je dijelu dijagnostički postupak uz standardno HE bojenje nadopunjen IHC pretragama CKHMW klon CK 34Be12, p63 i AMACR.

Svaki uzorak imao je pozitivnu probu (kolon) koju je proizvođač naveo kao pozitivnu probu. Rezultati IHC analize za navedeni biljeg prikazani su semikvantitativno određivanjem postotka imunoreaktivnih stanica. Postotak imunoreaktivnih stanica određivan je na cijeloj površini u odabranom prerezu, a označavan je kao: 0 ako nije bilo ekspresije IL-6; 1 za ekspresiju IL-6 u manje od 10% stanica; 2 za ekspresiju u 10 – 50%; 3 za ekspresiju IL-6 u više od 50% stanica.

### 4.3. STATISTIČKA ANALIZA DOBIVENIH PODATAKA

Dobiveni rezultati prikazani su tablično. Napravljena je deskriptivna statistika pomoću mjere centralne tendencije ( $C =$  medijan) i mjera raspršenja (totalni raspon, minimalna-maksimalna vrijednost) i analiza normaliteta distribucije Smirnov-Kolmogorovljevim testom. Shodno rezultatima u daljnjoj analizi primjenjivali su se neparametrijski testovi. Pri analizi razlika kvantitativnih vrijednosti između dviju skupina upotrijebljen je neparametrijski Mann-Whitney U test i Wilcoxonov test predznaka. Za međusobnu usporedbu triju skupina upotrijebljen je neparametrijski Kruskal-Wallis test. Frekvencije i postotak ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama ovisno o PHD-u, GS-u i TNM klasifikaciji prikazani su tablično. Spearmanov koeficijent korelacije ( $\rho$ ) korišten je za utvrđivanje međuodnosa pojedinih kvantitativnih varijabli. Sve vrijednosti ispod 0,05 smatrane su se značajnima. Za analizu je korišten statistički program *IBM SPSS Statistics Version 19*.

## 5. REZULTATI

### 5.1. DESKRIPTIVNI PODACI

Statističkom obradom dobivenih rezultata nije nađena značajna razlika u dobi između bolesnika s obzirom na četiri dijagnoze (Kruskal-Wallisov test,  $p = 0,121$ ). Prosječna dob svih bolesnika bila je 67 godina (raspon = 33 – 82).

Nije nađena značajna razlika u dobi između bolesnika s obzirom na GS (Mann-Whitneyjev U test,  $p = 0,095$ ). Prosječna dob bolesnika sa srednje diferenciranim karcinomom prostate bila je 65,5 godina (raspon = 33 – 81), a prosječna dob bolesnika sa slabo diferenciranim karcinomom prostate bila je 70 godina (raspon = 49 – 82).

Nije nađena značajna razlika u dobi s obzirom na T2 i T3/T4 stadij karcinoma prostate (Mann-Whitneyjev U test,  $p = 0,65$ ). Prosječna dob bolesnika s T2 stadijem karcinoma prostate bila je 61 godina (raspon = 49 – 70), a bolesnika s T3/T4 stadijem karcinoma prostate bila je 62 godine (raspon = 55 – 68).

U grupi bolesnika s PIN-om prosječna dob bila je 67,5 godina (raspon = 54 – 80), u grupi s BPH prosječna dob bila je 62 godine (raspon = 43 – 76), a u grupi bolesnika s kroničnim prostatitisom prosječna dob bila je 69 godina (raspon = 53 – 73).

Tablica 2 pokazuje da je u studiju bilo uključeno 148 bolesnika. Od toga 82 bolesnika imala su karcinom prostate, 25 bolesnika imalo je BPH, 24 bolesnika imala su PIN i 17 bolesnika kronični prostatitis. Srednje diferencirani karcinom prostate ( $GS \leq 7$  i  $3 + 4 = 7$ ) imao je 61 bolesnik, a loše diferenciran karcinom prostate ( $GS \geq 7$  i  $4 + 3 = 7$ ) imao je 21 bolesnik. Od 25 bolesnika podvrgnutih RP-u 16 bolesnika imalo je T2 stadij karcinoma prostate, 9 bolesnika T3/T4 stadij karcinoma prostate.



Tablica 2. Zastupljenost pacijenata u različitim praćenim kategorijama (dijagnoza, GS i TNM).

Dijagnoza	N	GS	N	Operacija	N	TNM	N
Karcinom prostate	82	$\leq 7$	61 (3+4=7)	RP	25	T2	16
		$\geq 7$				21 (4+3=7)	T3,T4
BPH	25						
PIN	24						
Prostatitis	17						
<b>Ukupno</b>	<b>148</b>						

GS – Gleason score, BPH – benigna hiperplazija prostate, PIN – intraepitelna neoplazija prostate, RP – radikalna prostatektomija, TNM – klasifikacija stadija tumora prema T (primarni tumor), N (regionalni limfni čvorovi), M (udaljene metastaze)

## 5.2. REZULTATI ANALIZE SERUMSKE RAZINE IL-6, tPSA, fPSA I f/tPSA

### 5.2.1. Rezultati analize serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na dijagnozu

Kruskal-Wallisovim testom nije nađena značajna razlika u serumskoj razini IL-6 kod bolesnika s karcinomom prostate, BPH, PIN-om i prostatitisom ( $p = 0,088$ ). Medijan serumske razine IL-6 kod karcinoma prostate bio je  $C = 2,09$  (raspon 1,49 – 16,75);  $C = 2,16$  (raspon 1,49 – 5,93) nađen je kod PIN-a;  $C = 1,63$  (raspon 1,49 – 3,84) kod BPH;  $C = 1,55$  (raspon 1,49 – 4,61) kod prostatitisa. Nadalje, ovim testom utvrđeno je da se razina PSA u krvi značajno razlikuje između četiriju grupa bolesnika ( $p = 0,00$ ). Mann-Whitneyjevim U testom utvrđena je značajna razlika u serumskoj razini PSA ( $p = 0,001$ ) između bolesnika s karcinomom prostate i PIN-om, kao i značajna razlika u serumskoj razini PSA između istih bolesnika ( $p = 0,001$ ). Ukratko, bolesnici s karcinomom prostate imali su više serumske

razine PSA od bolesnika s PIN-om i BPH. Nađeno je da je razlika u serumskoj razini PSA između bolesnika s karcinom prostate i prostatitisom na granici značajnosti ( $p = 0,052$ ). Također, Kruskal-Wallisovim testom utvrđena je značajna razlika u serumskoj razini f/tPSA između četiriju dijagnoza ( $p = 0,000$ ). Mann-Whitneyjevim U testom nađena je značajna razlika između bolesnika s karcinomom prostate i PIN-om ( $p = 0,000$ ), kao i razlika između bolesnika s karcinomom prostate i BPH ( $p = 0,003$ ) te između bolesnika s karcinomom prostate i prostatitisom ( $p = 0,004$ ). Zaključno, bolesnici s karcinomom prostate imali su niže serumske razine f/tPSA od svih ostalih grupa bolesnika. Konačno, Kruskal-Wallisovim testom nije nađena značajna razlika u fPSA razini između četiriju grupa bolesnika ( $p = 0,631$ ) (tablica 3).

Tablica 3. Serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA

	dob (godine)		IL-6 (pg/ml)		tPSA (ng/ml)		fPSA (ng/ml)		f/tPSA (%)		
	N	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon
Karcinom	82	67	33-82	2,09	1,49-16,75	9,20*	2,1-686,3	1,35	0,13-60,90	16*	5-33
PIN	24	67,50	54-80	2,16	1,49-5,93	4,80	1,4-20,0	1,20	0,47-4,17	22	17-37
BPH	25	62	43-76	1,63	1,49-3,84	5,70	1,7-15,3	1,22	0,28-2,72	20	9-40
Prostatitis	17	69	53-73	1,55	1,49-4,61	6,10	1,9-17,8	1,19	0,52-8,12	20	14-46

PIN – intraepitelna neoplazija prostate, BPH – benigna hiperplazija prostate, IL-6 – interleukin-6, tPSA – ukupni prostata specifični antigen, fPSA – slobodni prostata specifični antigen, f/tPSA – omjer slobodni/ukupni prostata specifični antigen

\* $p < 0,05$  smatra se statistički značajnim

### 5.2.2. Rezultati analize serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na srednje i loše diferencirani karcinom prostate

Mann-Whitneyjevim U testom utvrđeno je da su bolesnici s loše diferenciranim karcinomom prostate ( $GS \leq 7$ ;  $3 + 4 = 7$ ) imali značajno više serumske razine IL-6 nego grupa bolesnika sa srednje diferenciranim karcinomom prostate ( $GS \geq 7$ ;  $4 + 3 = 7$ ) ( $p = 0,007$ ). Medijan serumske razine za IL-6 kod loše diferenciranog karcinoma prostate bio je C

= 3,30 (raspon 1,49 – 10,67), a medijan serumske razine PSA bio je 54,30 (raspon 3,3 – 686,3); C=7,74 (raspon 0,13 – 60,9) za fPSA i C = 10 (raspon 5 – 30) za f/tPSA.

Nadalje, neparametrijskim Mann-Whitneyjevim U testom za nezavisne uzorke nađena je značajna razlika u razini PSA kod dviju grupa bolesnika, pri čemu je grupa s loše diferenciranim karcinomom prostate imala višu razinu PSA ( $p = 0,000$ ) te višu razinu fPSA ( $p = 0,000$ ). Između navedene dvije grupe bolesnika nije nađena značajna razlika u omjeru f/tPSA ( $p = 0,086$ ) (tablica 4).

Tablica 4. Serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA u grupi bolesnika sa srednje i loše diferenciranim karcinomom prostate

GS	N	dob (godine)		IL-6 (pg/ml)		tPSA (ng/ml)		fPSA(ng/ml)		f/tPSA (%)	
		medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon
≤7 3+4=7	61	66	33-81	1,76	1,49- 16,75	6,90	2,1- 42,6	1,18	0,31- 6,73	16	7-33
≥7 4+3=7	21	70	49-82	3,30*	1,49- 10,67	54,30*	3,3- 686,3	7,74*	0,13- 60,90	10	5-30

GS – Gleason zbroj, IL-6 – interleukin-6, tPSA – ukupni prostata specifični antigen, fPSA – slobodni prostata specifični antigen, f/tPSA – omjer slobodni/ukupni prostata specifični antigen

\* $p < 0,05$  smatra se statistički značajnim

### 5.2.3. Rezultati analize serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na TNM stadij karcinoma prostate

Mann-Whitneyjevim U testom nije nađena značajna razlika u serumskoj razini IL-6 kod bolesnika s T2 i T3/T4 stadijem karcinoma prostate ( $p = 0,207$ ) te nisu nađene značajne razlike kod bolesnika s T2 i T3/T4 stadijem u serumskoj razini PSA ( $p = 0,095$ ); fPSA ( $p = 0,388$ ) i omjera f/tPSA ( $p = 0,383$ ). Medijan serumske razine IL-6 kod bolesnika s T2 stadijem bio je C = 1,49 (raspon 1,49 – 5,06), a C = 1,76 (medijan 1,49 – 10,76) kod bolesnika s T3/T4 stadijem karcinoma prostate (tablica 5).

Tablica 5. Serumaska razina IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA u grupi bolesnika s T2 i T3/T4 stadijem tumora

TNM	N	dob (godine)		IL-6 (pg/ml)		tPSA (ng/ml)		fPSA(ng/ml)		f/tPSA (%)	
		medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon
T2	16	61	49-70	1,49	1,49-5,06	4,95	2,1-18,6	0,66	0,33-2,56	14,5	6-31
T3, T4	9	62	55-68	1,76	1,49-10,76	8,90	4,5-16,3	0,86	0,13-2,65	11,5	8-29

TNM – stadij tumora, IL-6 – interleukin-6, tPSA – ukupni prostata specifični antigen, fPSA – slobodni prostata specifični antigen, f/tPSA – omjer slobodni/ukupni prostata specifični antigen

\*p < 0,05 smatra se statistički značajnim

#### 5.2.4. Rezultati analize serumske razine IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA s obzirom na postojanje metastaza u kostima

Unatoč malom broju bolesnika s metastazama u kostima, rezultati su prikazani oslanjajući se na podatke iz literature u kojima je jasno dokazana povišena razina IL-6 kod metastatskog karcinoma prostate. Kod sva četiri bolesnika s metastazama u kostima nađene su povišene razine IL-6 u serumu, medijan C = 3,56 (raspon 3,3 – 6,91) kao i povišene serumske razine PSA i fPSA. Razina f/tPSA kod tih bolesnika nije bila snižena. Medijan serumske razine PSA kod tih bolesnika bio je C = 154,2 (raspon 61,4 – 620,6); C = 34,73 (raspon 18,47 – 60,9) za razinu fPSA; i C = 22 (raspon 10 – 30) za razinu f/tPSA (tablica 6).

Tablica 6. Serumna razina IL-6, tPSA, fPSA i f/tPSA u grupi bolesnika s negativnom i pozitivnom scintigrafijom kostiju

SCIN	N	dob (godine)		IL-6 (pg/ml)		tPSA (ng/ml)		fPSA(ng/ml)		f/tPSA (%)	
		medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon	medijan	raspon
-	17	66	49-80	1,57	1,49-6,51	7,5	2,1-123,6	0,8	0,33-14,52	16	6-29
+	4	71	50-80	3,56*	3,30-6,91	154,2*	61,4-620,6	34,73*	18,47-60,9	22	10-30

SCIN – scintigrafija kostiju, IL-6 – interleukin-6, tPSA – ukupni prostata specifični antigen, fPSA – slobodni prostata specifični antigen, f/tPSA – omjer slobodni/ukupni prostata specifični antigen

\*p < 0,05 smatra se statistički značajnim

### 5.2.5. Povezanost serumne razine IL-6 s tPSA, fPSA i f/tPSA

Spearmanovim testom korelacije utvrđena je korelacija serumne razine IL-6 i tPSA ( $\rho = 0,38$ ;  $p < 0,001$ ) te korelacija serumne razine IL-6 i fPSA ( $\rho = 0,30$ ;  $p < 0,001$ ) (tablica 7).

Tablica 7. Povezanost serumne razine IL-6 s tPSA, fPSA i f/tPSA

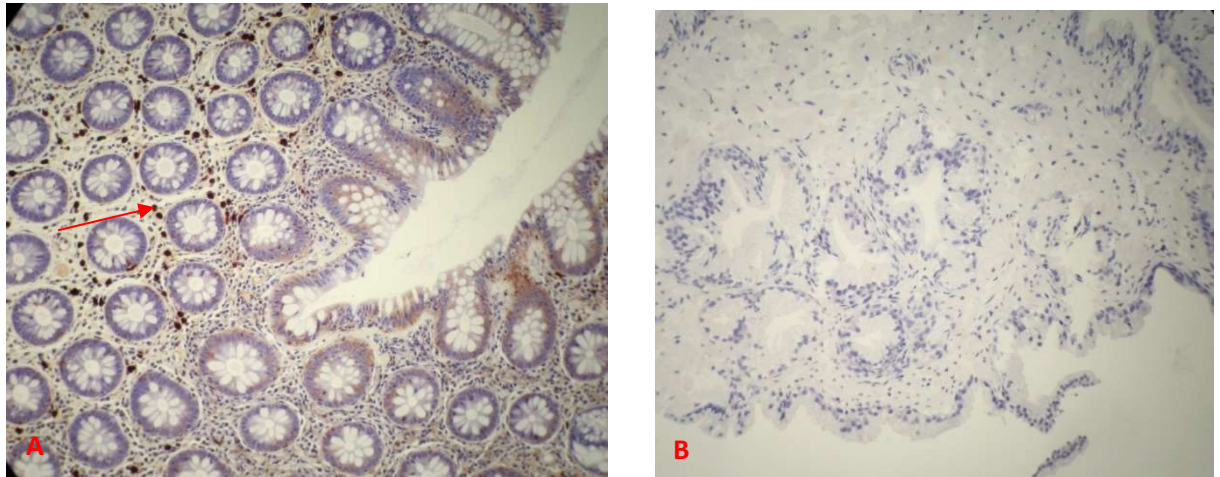
Parametri u korelaciji	rho	p
IL-6 – tPSA	0,38*	0,000
IL-6 – fPSA	0,30*	0,000
IL-6 – f/tPSA	0,00	0,899
PSA – fPSA	0,79*	0,000
PSA – f/tPSA	-0,28*	0,001
FPSA – f/tPSA	0,21*	0,009

IL-6 – interleukin-6 ( pg/ml), tPSA- ukupni prostata specifični antigen (ng/ml), fPSA –slobodni PSA (ng/ml), f/tPSA-omjer slobodni/ukupni PSA (%), rho – Spearmanov koeficijent korelacije

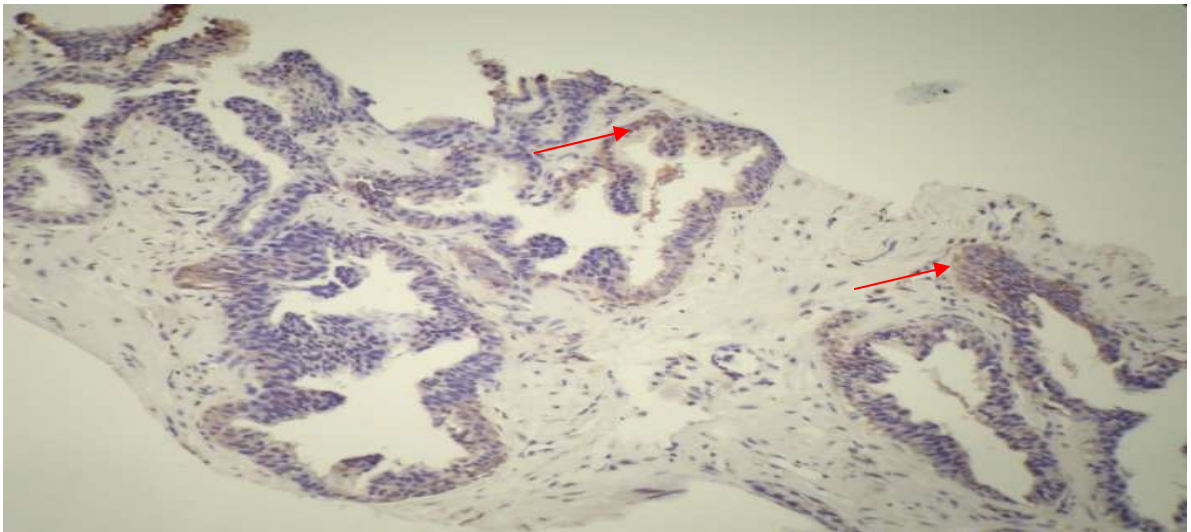
\*korelacija značajna na razini  $p < 0,01$

### 5.3. REZULTATI IMUNOHISTOKEMIJSKE ANALIZE EKSPRESIJE IL-6 U STANICAMA UZORAKA TKIVA PROSTATE

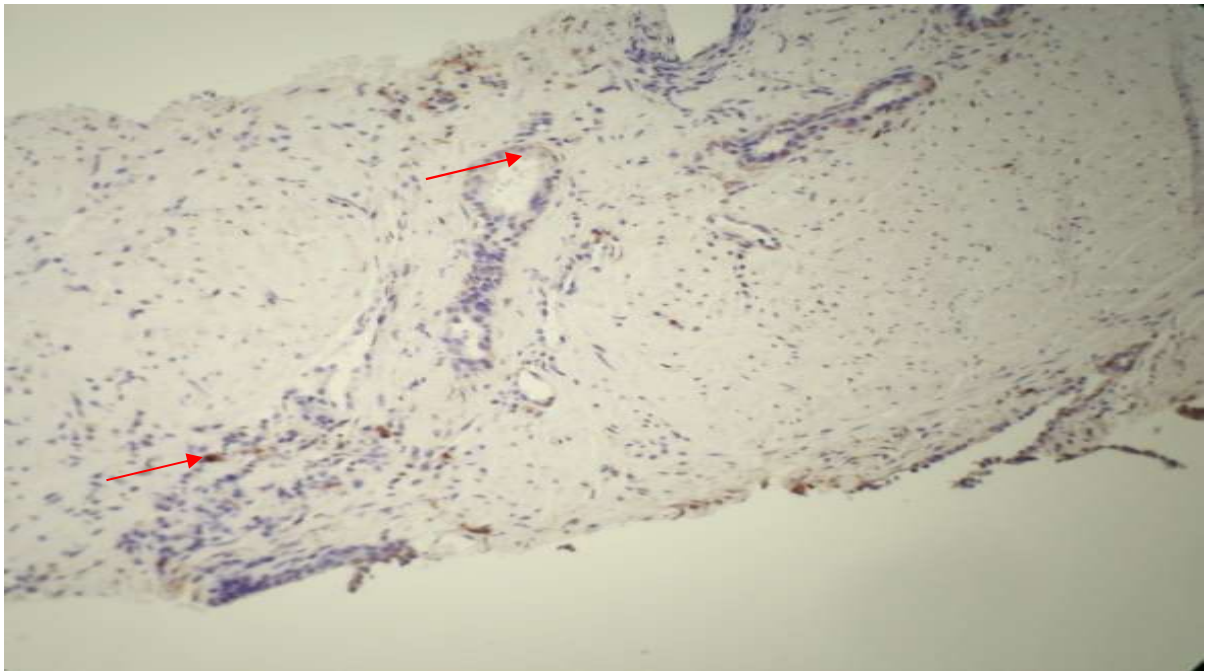
IHC ekspresija IL-6 bila je smještena u citoplazmi benignih, premalignih i malignih stanica prostate te u stromalnim stanicama uzoraka tkiva prostate (mononukleari, fibroblasti i endotelne stanice) (slike 3 – 7).



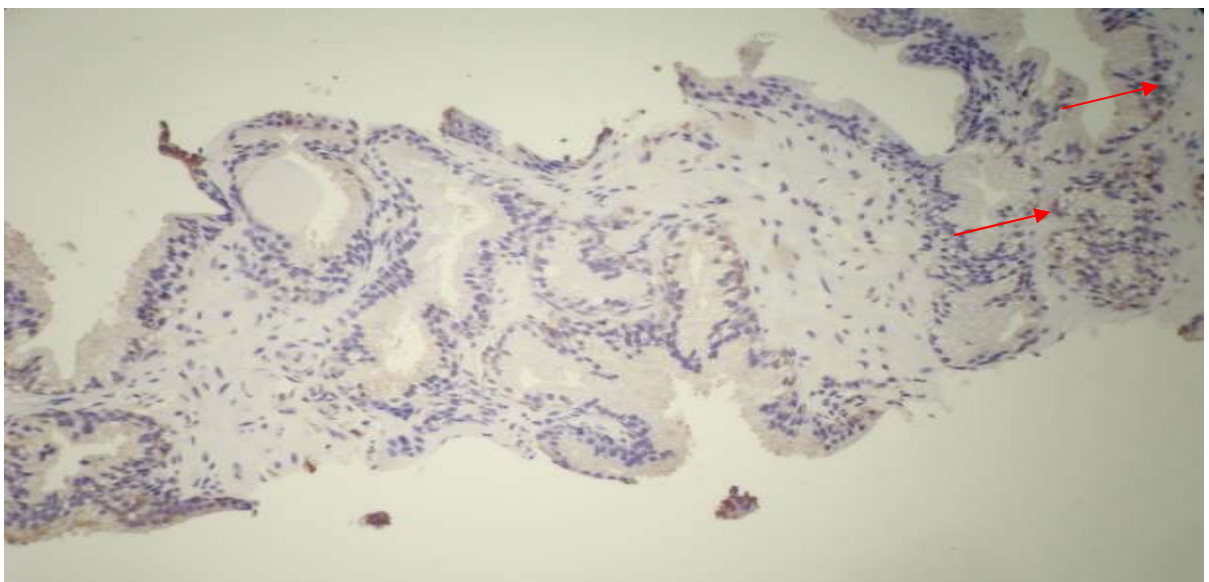
Slika 3. Imunohistokemijska ekspresija IL-6 u pozitivnoj probi – kolon (A) i histološki normalno tkivo prostate (B). Povećanje 200x.



Slika 4. Imunohistokemijska ekspresija IL-6 u premalignim stanicama PIN-a. Reakcija je bila smještena u premalignim žlijezdama, ali i u normalnim epitelnim stanicama, bazalnim stanicama te stromalnim stanicama. Povećanje 200x.

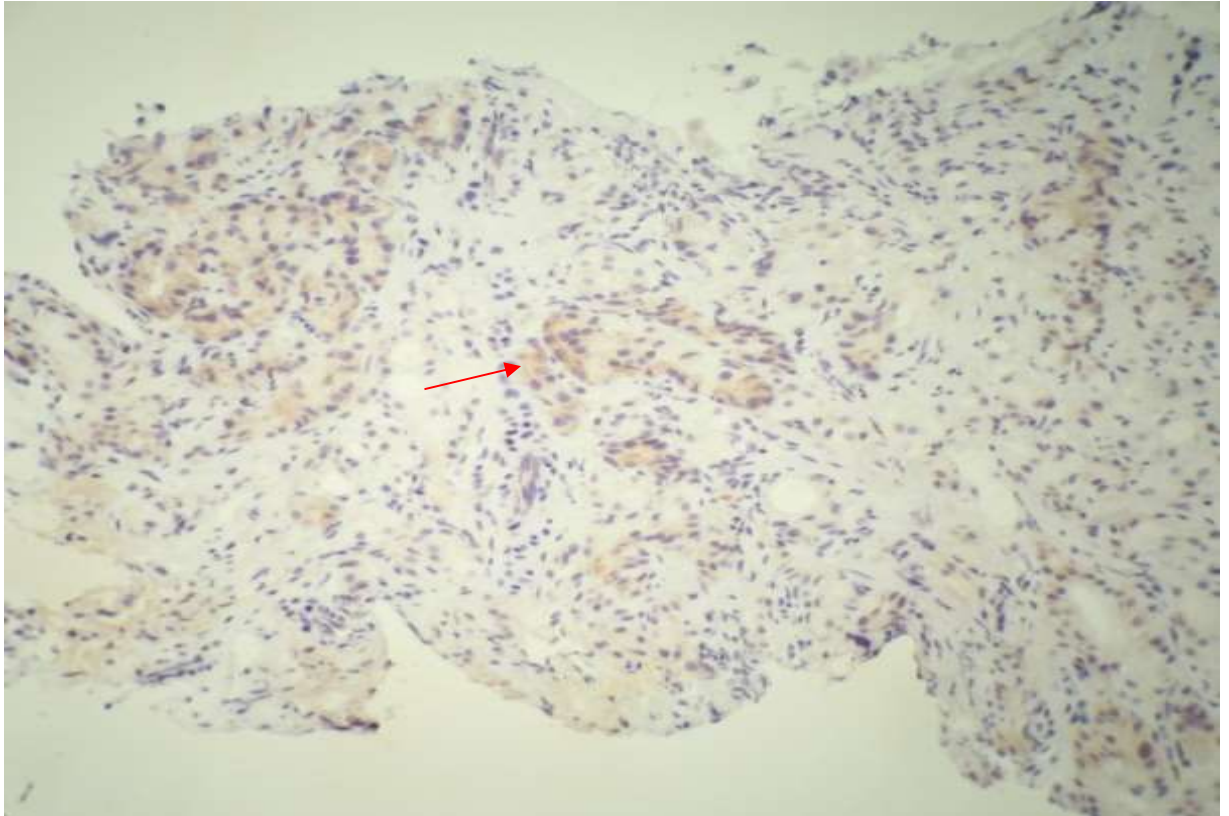


Slika 5. Imunohistokemijska ekspresija IL-6 u uzorku tkiva kroničnog prostatitisa. Ekspresija IL-6 u normalnim epitelnim stanicama, bazalnim stanicama te stromalnim stanicama (mononuklearima, fibroblastima i endotelnim stanicama). Povećanje 200x.



Slika 6. Imunohistokemijska ekspresija IL-6 u benignom tkivu prostate. Najjača ekspresija vidljiva u bazalnim i normalnim epitelnim stanicama. Povećanje 200x.





Slika 7. Imunohistokemijska ekspresija IL-6 u malignom tkivu prostate. Ekspresija vidljiva u malignim stanicama, epitelnim i bazalnim stanicama te stromalnim stanicama. Povećanje 200x.



Razlike u IHC ekspresiji IL-6 u tumorskim stanicama, sekretornim, bazalnim i stromalnim stanicama testirane su neparametrijskim Kruskal-Wallisovim testom. Nađena je značajno manja ekspresija IL-6 u sekretornim ( $p = 0,000$ ) i bazalnim stanicama ( $p = 0,000$ ) uzoraka s karcinomom u odnosu na uzorke s BPH, PIN-om i prostatitisom. Mann-Whitneyjevim U testom nađena je značajno veća ekspresija IL-6 u sekretornim ( $p = 0,01$ ) i bazalnim ( $p = 0,011$ ) stanicama PIN-a u odnosu na karcinom, veća ekspresija IL-6 u sekretornim ( $p = 0,000$ ) i bazalnim ( $p = 0,000$ ) stanicama BPH u odnosu na karcinom te veća ekspresija IL-6 u sekretornim ( $p = 0,012$ ) i bazalnim ( $p = 0,010$ ) stanicama uzoraka s prostatitisom u odnosu na karcinom. Mann-Whitneyjevim U testom nije nađena značajna razlika u ekspresiji IL-6 u malignim stanicama karcinoma i u premalignim stanicama PIN-a ( $p = 0,814$ ). Nadalje, Kruskal-Wallisovim testom nisu nađene značajne razlike u ekspresiji IL-6 u stromalnim stanicama s obzirom na četiri dijagnoze ( $p = 0,02$ ).

Wilcoxonovim testom predznaka nađena je veća ekspresija IL-6 u malignim stanicama nego u sekretornim stanicama u uzorcima s karcinomom ( $p = 0,000$ ). Istim testom nađena je veća ekspresija IL-6 u malignim stanicama slabo diferenciranog karcinoma nego u sekretornim stanicama ( $p = 0,02$ ) kao i veća ekspresija IL-6 u malignim stanicama srednje diferenciranog karcinoma nego u sekretornim stanicama uzoraka s karcinomom ( $p = 0,000$ ). Mann-Whitneyjevim U testom nisu nađene značajne razlike u ekspresiji IL-6 u malignim stanicama s obzirom na T2 i T3/4 stadij karcinoma ( $0,803$ ), ali postoji značajno viši intenzitet bojenja na IL-6 u malignim stanicama ( $p = 0,020$ ) i epitelnim stanicama ( $p = 0,010$ ) kod T3/T4 stadija karcinoma.

### **5.3.1. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate ovisno o PHD**

Najveća ekspresija IL-6 u normalnim sekretornim stanicama nađena je uzorcima BPH (u 60% uzoraka nađena je imunoreaktivnost na IL-6 u više od 50% normalnih sekretornih stanica) koja je postupno opadala u PIN-u, zatim prostatitisu, a najmanja ekspresija IL-6 u navedenim stanicama nađena je u uzorcima karcinoma prostate (23,2%). U bazalnim stanicama najveću ekspresiju IL-6 imali su uzorci BPH (52% uzoraka BPH imalo je u više od 50% bazalnih stanica ekspresiju IL-6), potom prostatitis, zatim PIN, a najmanju uzorci s karcinomom (15,9% uzoraka imalo je imunoreaktivnost na IL-6 u više od 50% bazalnih stanica). Ekspresija IL-6 bila je viša u epitelnim stanicama nego u stromi i u epitelnim malignim stanicama nađena je veća ekspresija IL-6 nego u okolnim normalnim epitelnim stanicama. U više od 50% uzoraka karcinoma i uzoraka PIN-a nađena je ekspresija IL-6 u više od 50% malignih odnosno premalignih epitelnih stanica (tablica 8).

Tablica 8. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka dobivenih biopsijom prostate ovisno o PHD

Dijagnoza	Ekspresija IL-6	Sekretorne	Bazalne	Sve epitelne	Stroma	Sekretorne
		normalne	stanice	stanice		maligne/PIN
		stanice				stanice
		Uzorak	uzorak	uzorak	uzorak	uzorak
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Karcinom prostate	0	26 (31,7)	20 (24,4)	-	9 (11,0)	4 (4,9)
	1	7 (8,5)	16 (19,5)	3 (3,7)	54 (65,9)	7 (8,5)
	2	30 (36,6)	33 (40,2)	25 (30,5)	17 (20,7)	24 (29,3)
	3	19 (23,2)	13 (15,9)	54 (65,9)	2 (2,4)	47 (57,3)
	Ukupno	82 (100)	82 (100)	82 (100)	82 (100)	82 (100)
PIN	0	1 (4,2)	2 (8,3)	-	3 (12,5)	2 (8,3)
	1	1 (4,2)	4 (16,7)	2 (8,3)	14 (58,3)	2 (8,3)
	2	10 (41,7)	8 (33,3)	8 (33,3)	6 (25,0)	5 (20,8)
	3	12 (50,0)	10 (41,7)	14 (58,3)	1 (4,2)	15 (62,5)
	Ukupno	24 (100)	24 (100)	24 (100)	24 (100)	24 (100)
BPH	0	1 (4,0)	0 (0)	-	2 (8,0)	-
	1	2 (8,0)	5 (20,0)	2 (8,0)	12 (48,0)	-
	2	7 (28,0)	7 (28,0)	5 (20,0)	8 (32,0)	-
	3	15 (60,0)	13 (52,0)	18 (72,0)	3 (12,0)	-
	Ukupno	25 (100)	25 (100)	25 (100)	25 (100)	
Prostatitis	0	1 (5,9)	1 (5,9)	-	1 (5,9)	-
	1	0 (0)	2 (11,8)	0 (0)	10 (58,8)	-
	2	9 (52,9)	7 (41,2)	6 (35,3)	5 (29,4)	-
	3	7 (41,2)	7 (41,2)	11 (64,7)	1 (5,9)	-
	Ukupno	17 (100)	17 (100)	17 (100)	17 (100)	

PHD – patohistološka dijagnoza, PIN – intraepitelna neoplazija, BPH – benigna hiperplazija prostate, 0 – nema ekspresije IL-6 u stanicama ispitivanog uzorka; 1 – manje od 10% stanica ima ekspresiju IL-6; 2 – od 10-50% stanica ima ekspresiju IL-6; 3 – više od 50% stanica uzorka ima ekspresiju IL-6

### 5.3.2. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s obzirom na GS

Iz tablice 9 vidljivo je da je 66,7% uzoraka sa slabo diferenciranim adenokarcinomom imalo ekspresiju IL-6 u više od 50% malignih stanica, a svega 9,5% istih uzoraka imalo je ekspresiju IL-6 u preko 50% bazalnih stanica kao i normalnih sekretornih stanica.

Tablica 9. Učestalost ekspresije IL-6 u uzorcima dobivenim biopsijom prostate s obzirom na GS

GS	Ekspresija IL-6	Sekretorne	Sekretorne	Bazalne	Sve	Stroma
		maligne	normalne	stanice	epitelne	
		stanice	stanice		stanice	
		uzorak	Uzorak	Uzorak	uzorak	Uzorak
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
≤7 3+4=7	0	3 (4,9)	17 (27,9)	12 (19,7)	-	8 (13,1)
	1	6 (9,8)	7 (11,5)	14 (23,0)	3 (4,9)	41 (67,2)
	2	19 (31,1)	20 (32,8)	24 (39,3)	16 (26,2)	10 (16,4)
	3	33 (54,1)	17 (27,9)	11 (18,0)	42 (68,9)	2 (3,3)
Ukupno		61 (100)	61 (100)	61 (100)	61 (100)	61 (100)
≥7 4+3=7	0	1 (4,8)	9 (42,9)	8 (39,1)	-	1 (4,8)
	1	1 (4,8)	0 (0)	2 (9,5)	0 (0)	13 (61,9)
	2	5 (23,8)	10 (47,6)	9 (42,9)	9 (42,9)	7 (33,3)
	3	14 (66,7)	2 (9,5)	2 (9,5)	12 (57,1)	0 (0)
Ukupno		21 (100)	21 (100)	21 (100)	21 (100)	21 (100)

GS – Gleason score; 0 – stanice ispitivanog uzorka nemaju ekspresiju IL-6; 1 – manje od 10% stanica ima ekspresiju IL-6; 2 – 10 do 50% stanica ima ekspresiju IL-6; 3 – više od 50% stanica ima ekspresiju IL-6.

### 5.3.3. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s obzirom na TNM

Postotak ekspresije u malignim stanicama uzoraka s obzorom na T2 i T3/T4 stadij karcinoma bila je podjednaka (više od 40% uzoraka imalo je ekspresiju IL-6 u preko 50% malignih stanica) (tablica 10).

Tablica 10. Učestalost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama prostate u uzorcima dobivenim RP-om s obzirom na TNM stadij karcinoma prostate

Dijagnoza	Ekspresija IL-6	Sekretorne	Sekretorne	Bazalne	Sve	Stroma
		maligne	normalne	stanice	epitelne	
		stanice	stanice		stanice	
		uzorak	Uzorak	Uzorak	Uzorak	uzorak
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
T2 STADIJ KARCINOMA	0	1 (6,2)	6 (37,5)	5 (31,2)	-	-
	1	-	2 (12,5)	2 (12,5)	1 (6,2)	9 (56,2)
	2	4 (25,0)	3 (18,8)	4 (25,0)	7 (43,8)	6 (37,5)
	3	11 (68,8)	5 (31,2)	5 (31,2)	8 (50,0)	1 (6,2)
Ukupno		16 (100)	16 (100)	16 (100)	16 (100)	16 (100)
T3/T4 STADIJ KARCINOMA	0	0 (0)	3 (33,3)	2 (22,2)	-	-
	1	-	4 (44,4)	1 (11,1)	1 (11,1)	5 (55,6)
	2	5 (55,6)	1 (11,1)	5 (55,6)	5 (55,6)	3 (33,3)
	3	4 (44,4)	1 (11,1)	1 (11,1)	3 (33,3)	1 (11,1)
Ukupno		9 (100)	9 (100)	9 (100)	9 (100)	9 (100)

RP – radikalna prostatektomija; 0 – nema ekspresije IL-6 u stanicama ispitivanog uzorka; 1 – manje od 10% stanica ima ekspresiju IL-6; 2 – 10 do 50% stanica ima ekspresiju IL-6; 3 – preko 50% stanica ima ekspresiju IL-6 u ispitivanom uzorku

### 5.3.4. Povezanost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s tPSA, fPSA i f/tPSA u serumu

Spearmanovim testom korelacije nađena je negativna korelacija tPSA i ekspresije IL-6 i u normalnim epitelnim stanicama i u bazalnim stanicama ( $\rho = -0,25$ ; odnosno  $\rho = -0,22$ ;  $p < 0,05$ ) (tablica 10). Nadalje, nađena je korelacija fPSA i ekspresije IL-6 u malignim epitelnim stanicama ( $\rho = 0,28$ ;  $p < 0,05$ ) i korelacija istih u stromalnim stanicama ( $\rho = 0,17$ ;  $p < 0,05$ ) te negativna korelacija istih u stromalnim stanicama uzoraka prostate dobivenih RP-om ( $\rho = -0,40$ ;  $p < 0,05$ ).

Tablica 11. Povezanost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s tPSA u serumu

Parametri u korelaciji	rho	P
% ekspresije IL-6 u malignim stanicama – tPSA	0,15	0,117
% ekspresije IL-6 u normalnim sekretornim stanicama – tPSA	-0,25*	0,002
% ekspresije IL-6 u bazalnim stanicama – tPSA	-0,22*	0,008
% ekspresije IL-6 u stromalnim stanicama – tPSA	0,062	0,451

rho – Spearmanov koeficijent korelacije, IL-6 – interleukin-6 (pg/ml), tPSA– ukupni prostata specifični antigen (ng/ml)

\*korelacija značajna na razini  $p < 0,01$

Tablica 12. Povezanost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s fPSA u serumu

Parametri u korelaciji	rho	p
% ekspresije IL-6 u malignim stanicama – fPSA	0,29*	0,003
% ekspresije IL-6 u normalnim sekretornim stanicama – fPSA	-0,06	0,430
% ekspresije IL-6 u bazalnim stanicama – fPSA	-0,09	0,232
% ekspresije IL-6 u stromalnim stanicama – fPSA	0,15*	0,044

rho – Spearmanov koeficijent korelacije, IL-6 – interleukin-6 (pg/ml), fPSA – slobodni prostata specifični antigen (ng/ml)

\*korelacija značajna na razini  $p < 0,01$

Tablica 13. Povezanost ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama uzoraka tkiva prostate s f/tPSA u serumu

Parametri u korelaciji	rho	p
% ekspresije IL-6 u malignim stanicama – f/tPSA	0,10	0,323
% ekspresije IL-6 u normalnim sekretornim stanicama – f/tPSA	0,16	0,054
% ekspresije IL-6 u bazalnim stanicama – f/tPSA	-0,12	0,161
% ekspresije IL-6 u stromalnim stanicama – f/tPSA	0,07	0,396

rho – Spearmanov koeficijent korelacije, IL-6 – interleukin-6 (pg/ml), f/tPSA – omjer slobodni/ukupni prostata specifični antigen (%)

\*korelacija značajna na razini  $p < 0,01$

## 6. RASPRAVA

**Hipoteza I** ovog istraživanja bila je da je razina IL-6 u serumu bolesnika kod kojih je biopsijom dokazan karcinom prostate viša u odnosu na druge bolesti prostate te da je ekspresija IL-6 veća u uzorcima tkiva prostate u kojima je dokazan karcinom prostate.

**Hipoteza II** bila je da je razina IL-6 u serumu i ekspresija IL-6 u tkivu kod bolesnika s agresivnijim oblikom karcinoma viša u odnosu na manje agresivan karcinom prostate.

**Cilj 1** bio je usporediti razinu IL-6 u serumu bolesnika s karcinomom prostate s razinom IL-6 u serumu bolesnika s BPH, PIN-om i kroničnim prostatitisom te usporediti razinu IL-6 u serumu bolesnika s karcinomom s priznatim prognostičkim čimbenicima (PSA, GS, T2 te T3/T4 stadijem karcinoma prostate).

PSA vrijedan je alat za otkrivanje karcinoma prostate, ali nije savršen. Testu nedostaje specifičnost za točno utvrđivanje postojanja karcinoma prostate. PSA je marker specifičan za prostatu, ali ne i za karcinom prostate (325). Uz ukupni (tPSA), f/tPSA pomaže u razlikovanju karcinoma prostate od BPH (155,156). U meta-analizi Roddama i suradnika (326) utvrđeno je da korištenje omjera f/tPSA ili cPSA testa poboljšava dijagnostiku kod muškaraca s tPSA 2 – 4 ng/ml ili 4 – 10 ng/ml u usporedbi sa samim tPSA. Dijagnostički učinak f/tPSA testa bio je značajno bolji u rasponu tPSA 4 – 10 ng/ml u usporedbi s tPSA s rasponom 2 – 4 ng/ml uz senzitivnost 95%. Specifičnost je bila 18% kod raspona tPSA 4 – 10 ng/ml i 6% kod tPSA 2 – 4 ng/ml. Dijagnostički učinci f/tPSA testa i cPSA testa bili su isti u oba PSA raspona. Autori su zaključili da uporaba f/tPSA ili cPSA testova kod muškaraca s razinom PSA između 2 i 10 ng/ml može reducirati broj nepotrebnih biopsija pri tome održavajući visoku stopu detektibilnosti karcinoma prostate. Kao i u gore navedenoj meta-analizi, rezultati u našoj studiji potvrđuju da omjer f/tPSA može bolje razlikovati bolesnike koji imaju karcinom prostate od onih koji nemaju, odnosno da je omjer f/tPSA niži kod bolesnika s karcinomom prostate nego kod bolesnika s BPH, PIN-om i prostatitisom.

IL-6 uključen je u proces onkogeneze u brojnim tipovima tumorskih stanica uključujući renalni karcinom, Kaposijev sarkom, limfom, plazmocitom/mijelom, karcinom dojke, karcinom pluća i kolorektalni karcinom (327). Kod karcinoma prostate povišene razine IL-6 u serumu povezane su s višim PSA, metastazama i morbiditetom od karcinoma (328). Rezultati istraživanja Georgea i suradnika (329) upućuju na to da bi bolesnici koji imaju za 25% višu razinu IL-6 u serumu mogli razviti biološki agresivniji fenotip karcinoma prostate. Utvrđeno je da viša razina IL-6 u serumu kod bolesnika s HRCaP karcinomom prostate korelira s kraćim preživljenjem bolesnika. U našem istraživanju nije nađena značajna razlika



u serumskoj razini IL-6 kod bolesnika s karcinomom prostate, BPH, PIN-om i prostatitisom. Ipak, grupa bolesnika s karcinomom prostate i grupa s PIN-om imale su viši medijan serumske razine IL-6.

Gleasonov sustav stupnjevanja od njegova uvođenja prije otprilike 40 godina ostaje najznačajniji prognostički čimbenik za karcinom prostate (330). Alcover i suradnici (331) utvrdili su da su bolesnici s  $GS \geq 7$  imali značajno veću vjerojatnost biokemijskog povrata karcinoma prostate. U našem istraživanju nađeno je da su bolesnici sa slabo diferenciranim karcinomom prostate imali značajno višu razinu IL-6 u serumu nego bolesnici s dobro diferenciranim karcinomom prostate. Nije nađena značajna razlika u serumskoj razini IL-6 kod bolesnika s T2 i s T3/T4 stadijem karcinoma prostate. Utvrđena je korelacija serumske razine IL-6 i PSA te korelacija serumske razine IL-6 i fPSA. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima Shariata i suradnika (332) koji su utvrdili da je preoperativni IL-6 bio povišen kod bolesnika s osobinama agresivnog karcinoma, odnosno da je preoperativna serumska razina IL-6 bila povezana s patološkim stupnjem bolesti (GS), ali ne i s proširenošću bolesti izvan prostate. Također su utvrdili da su preoperativni IL-6 i njegov solubilni receptor bili povišeni kod bolesnika s prostatektomičnim  $GS \geq 7$  i kod bolesnika s metastazama u regionalnim limfnim čvorovima. Serumska razina IL-6 prije liječenja bila je u pozitivnoj korelaciji s preoperativnim PSA. Autori su zaključili da njihovi rezultati upućuju na to da su serumske razine IL-6 i sIL-6R kod bolesnika s karcinomom prostate podrijetlom iz tumorskih stanica u primarnom karcinomu prostate te da je cirkulirajuća razina IL-6 i njegova sIL-6R povezana s potencijalom metastaziranja karcinoma, ali ne sa samim metastazama. Isti istraživači nekoliko godina kasnije analizirali su preoperativne razine solubilnog gp130, IL-6 i sIL-6R u serumu bolesnika podvrgnutih RP-u za klinički lokaliziran karcinom prostate. Više preoperativne serumske razine gp130 bile su značajno povezane s višim biopsijskim i patološkim GS-om, proširenošću karcinoma izvan prostate, invazijom seminalnih vezikula, metastazama u limfnim čvorovima i biokemijskim povratom. U podgrupi od 206 bolesnika postoperativna serumska razina gp130 bila je 18% niža od preoperativne razine. Razina solubilnog gp130 slabo je korelirala s preoperativnom serumskom razinom IL-6 i serumskom razinom sIL-6R. Autori su zaključili da solubilni gp130 ima ulogu u invaziji karcinoma prostate na IL-6 ovisan i neovisan način (333).

Michalaki i suradnici (334) utvrdili su da je razina IL-6 u serumu bolesnika s metastazama u limfnim čvorovima ili koštanim metastazama značajno viša nego kod bolesnika s lokaliziranom bolesti. Našli su da je medijan razine IL-6 u serumu bolesnika s metastatskom bolesti bio 7,0 pg/ml. Kod naših bolesnika s metastazama u kostima medijan

serumske razine IL-6 bio je 3,56 pg/ml (raspon 3,3 – 6,91 pg/ml). Dakle, sva četiri bolesnika s metastazama u kostima imala su povišenu razinu IL-6 u serumu. Unatoč malom broju bolesnika potvrdili smo rezultate gore navedenog istraživanja. Nakashima i suradnici (335) pokazali su da je povišena serumska razina IL-6 bila značajno povezana s nižom stopom preživljenja bolesnika s karcinomom prostate te da su povišene razine IL-6 u serumu i proširenost bolesti bili značajni prognostički čimbenici. Alcover i suradnici (331) utvrdili su da razina IL-6 u serumu bolesnika predviđa biološki povrat karcinoma prostate kod 96 bolesnika liječenih RP-om. Nađeno je da su bolesnici koji su preoperativno imali serumsku razinu IL-6 višu od 1,2 pg/ml imali značajno višu stopu biokemijskog povrata bolesti nakon RP-a.

HRCaP smrtonosna je bolest s medijanom preživljenja između 7,5 i 27,2 mjeseci ovisno o trenutnim prognostičkim čimbenicima (336). Takva varijabilnost vjerojatno proizlazi iz heterogene biologije te bolesti. Zbog prirode kliničkog karcinoma prostate, metastatsko tumorsko tkivo rijetko se dobije i teško procjenjuje. Stoga, malo se zna o specifičnim biološkim osobinama metastatskih, HRCaP i klinički relevantnih tumorskih markera. Serumske razine specifičnih bioloških markera za prognozu mogle bi dati uvid u biološku agresivnost tumorskog fenotipa i pomoći stvaranju novih terapijskih pristupa (329).

U studiji Drachenberga i suradnika (337) utvrđeno je da je serumska razina IL-6 bila značajno viša (5,7 +/- 1,9 pg/ml) kod bolesnika s HRCaP u usporedbi s povišenom razinom IL-6 kod bolesnika s prostatitisom, BPH, lokaliziranom i rekurentom bolesti te kod kontrolne skupine. U usporedbi s BPH i kontrolama, PSA je bio značajno povišen kod uznapredovale neliječene bolesti i HRCaP. Postotak fPSA bio je značajno niži kod svih bolesnika, osim onih s HRCaP.

U svom radu Tawara i suradnici (338) navode da je IL-6 jedan od značajnih faktora *up-regulacije* i modulacije razgradnje kosti uzrokovane karcinomom. Također postoje dokazi *in vitro*, *in vivo* i preliminarnih kliničkih pokusa koji sugeriraju da specifična anti-IL-6 terapija može poboljšati stopu preživljenja od karcinoma i reducirati metastaze u nekim tipovima karcinoma. Međutim, dodatne studije i klinički pokusi potrebni su kako bi se u potpunosti procijenila učinkovitost anti-IL-6 terapija kod pacijenata s karcinomom.

Tumminello i suradnici (339) istraživali su kliničku značajnost serumske razine IL-6 i njegovu korelaciju s cistatinom C (Cyst C), endogenim inhibitorom cistein proteaze katepsina K, kod bolesnika s metastazama u kostima koje potječu od karcinoma dojke ili prostate. Dodatne studije na tim su bolesnicima izvedene kako bi se procijenio učinak primjene *zoledronic acida* (ZA) na cirkulirajuću razinu ove molekule. Srednja razina IL-6 bila je viša

kod bolesnika s karcinomom prostate i BPH nego kod zdravih osoba. Kod bolesnika s karcinomom prostate bila je izražena pozitivna korelacija između IL-6 i broja metastaza u kostima ili serumskog PSA, ali nije bilo korelacije s GS-om. Kod bolesnika s karcinomom prostate IL-6 pokazao je dijagnostičku korist. Kad su bolesnici s metastazama u kostima dobili ZA, serumski IL-6 značajno se povisio samo kod bolesnika s karcinomom prostate koji su imali metastaze u kostima. Ti podaci upućuju da se IL-6 i Cyst C mogu smatrati novim ciljevima za liječenje karcinoma prostate i kao markeri povećane osteoblastične aktivnosti povezani s liječenjem bifosfanatom kod bolesnika s karcinomom prostate koji imaju koštane metastaze.

Iako je studija Terracciana i suradnika (340) ograničena malim brojem bolesnika (51 bolesnik), rezultati upućuju da bi sIL-6R mogao biti od velikog značaja u boljem predviđanju GS-a kod bolesnika s bioptičkim  $GS \leq 7$  te da bi njegova važnost bila veća ako se uzme u obzir omjer sIL-6R/IL-6. Međutim, da bi se taj omjer koristio kao rutinski marker u kliničkoj praksi potrebno je provesti opsežnija istraživanja.

Rezultati dobiveni u dvije stanične linije karcinoma prostate, LNCaP i MDA PCa 2b, upućuju na to da IL-6 aktivacija AR može uzrokovati ili stimulacijski ili inhibicijski odgovor na proliferaciju. Produženo tretiranje tih stanica s IL-6 dovelo je do uspostavljanja IL-6 autokrine petlje. Tijekom posljednjih godina poboljšano je razumijevanje važnih inhibitora citokinskog signaliziranja SOCS-3 i SOCS-1 u karcinomu prostate. Iako ti proteini blokiraju IL-6-induciranu signalnu transdukciju, također imaju učinke koji su ovisni o tipu stanice i razlikuju se između AR-pozitivnih i AR-negativnih stanica. Ciljanje SOCS-3 u stanicama prostate u kojima nije izražen AR može biti privlačna terapijska opcija u budućnosti. Ovaj citokin dobar je kandidat za razvoj ciljane terapije kod karcinoma prostate (341).

**Cilj 2** ovog istraživanja bio je usporediti imunohistokemijsku ekspresiju IL-6 u uzorcima tkiva prostate s karcinomom prostate s ekspresijom IL-6 u uzorcima tkiva prostate s BPH, PIN-om i kroničnim prostatitisom te usporediti imunohistokemijsku ekspresiju IL-6 u karcinomu prostate s priznatim prognostičkim čimbenicima (PSA, GS, T2 i T3/T4 stadijem karcinoma prostate).

Giri i suradnici (342) dokazali su povišene razine IL-6 i IL-6 receptora u tkivu karcinoma prostate i korelaciju povišene razine IL-6 receptora s povećanom proliferacijom što podupire ideju da IL-6 može imati važnu ulogu u progresiji karcinoma prostate. Osim toga, njihovi rezultati upućuju na to da je prekid IL-6 autokrinog signaliziranja potencijalni terapijski cilj u karcinomu prostate te da serumska koncentracija sIL-6R može biti koristan

prognostički marker kod karcinoma prostate ili sam ili u kombinaciji sa serumskom razinom IL-6.

Chung i suradnici (343) istraživali su ekspresiju IL-6 u tumorskim stanicama i korelaciju sa stadijem tumora kod kolorektalnog karcinoma. Nađeno je da je IL-6 bio ekspresiran u citoplazmi tumorskih stanica. Ekspresija IL-6 receptora bila je prisutna ne samo u citoplazmi već i u staničnoj membrani. Također, našli su da je više bolesnika s naprednim stadijem bolesti imalo značajno višu ekspresiju IL-6. Nadalje, vaskularna invazija korelirala je s izraženom tumorskom ekspresijom IL-6. Ti nalazi sugeriraju interakciju između IL-6 i IL-6R u tumoru. U ovoj studiji ekspresija IL-6 u tkivu nije korelirala s razinom IL-6 u serumu i nalazi upućuju na to da je prekomjerna ekspresija IL-6 u tumoru važan prognostički čimbenik za kolorektalni karcinom. Zaključeno je da je tkivna ekspresija IL-6 u kolorektalnom karcinomu korelirala s progresijom bolesti, povišenom preoperativnom razinom karcinoembrionalnog antigena (engl. *carcinoembryonic antigen*, CEA) i invazijom tumora u krvne žile.

Kinoshita i suradnici (344) utvrdili su da je IL-6 bio proizveden ne samo od tumorskih stanica već i od stromalnih stanica i makrofaga. Izvijestili su da je 60% uzoraka kolorektalnog karcinoma imalo ekspresiju IL-6, a 65% uzoraka ekspresiju IL-6 receptora te da kod ovih bolesnika postoji značajna korelacija između tkivne i serumske koncentracije IL-6.

Huang i suradnici (345) izvijestili su da je kod gastričnog karcinoma prekomjerna ekspresija IL-6 u tumoru bila povezana s visokim VEGF-om i angiogenezom.

IHC bojenjem IL-6 u našem istraživanju nađena je ekspresija IL-6 u citoplazmi normalnih epitelnih stanica, citoplazmi stanica PIN-a (pre malignim stanicama) i citoplazmi malignih stanica prostate te u stromalnim stanicama prostate (mononukleari, fibroblasti i endotelne stanice). Najveću ekspresiju IL-6 u normalnim sekretornim stanicama imali su bolesnici s BPH (u 60% bolesnika nađena je imunoreaktivnost na IL-6 u više od 50% normalnih sekretornih stanica), koja je postupno opadala u PIN-u, zatim prostatitisu, a najmanja ekspresija IL-6 u navedenim stanicama nađena je kod bolesnika s karcinomom (23,2%). Također je nađeno da su u bazalnim stanicama najveću ekspresiju IL-6 imali bolesnici s BPH (52% bolesnika s BPH imalo je u više od 50% bazalnih stanica ekspresiju IL-6), potom s prostatitisom, zatim s PIN-om, a najmanju bolesnici s karcinomom prostate (15,9% bolesnika imalo je imunoreaktivnost na IL-6 u više od 50% bazalnih stanica). Ekspresija IL-6 bila je veća u epitelnim stanicama nego u stromi i u epitelnim malignim stanicama nađena je veća ekspresija IL-6 nego u okolnim normalnim epitelnim stanicama. Nije nađena značajna razlika u ekspresiji IL-6 u pre malignim i malignim epitelnim stanicama

(kod više od 50% bolesnika s karcinomom prostate i kod bolesnika s PIN-om nađena je ekspresija IL-6 u više od 50% malignih, odnosno premalignih epitelnih stanica). Nadalje, nije nađena značajna razlika u ekspresiji IL-6 u stromi između četiriju dijagnoza. Nije nađena značajna razlika u ekspresiji IL-6 s obzirom na T2 i na T3/T4 stadij karcinoma prostate. Nađena je korelacija ekspresije IL-6 u malignim epitelnim stanicama i fPSA te korelacija istih u stromalnim stanicama. Nadalje, negativna korelacija ekspresije IL-6 i PSA nađena je u normalnim epitelnim stanicama i bazalnim stanicama te negativna korelacija istih u stromalnim stanicama uzoraka prostate dobivenih RP-om.

Naši rezultati djelomično se podudaraju s rezultatima Cardillo i suradnika (346) koji su utvrdili da je postotak IL-6 pozitivnih stanica bio viši u PIN-u i žljezdama karcinoma prostate nego u benignom žljezdanom epitelu te da je IL-6 ekspresija rasla od normalnog epitela preko PIN-a do malignih stanica u epitelnom odjeljku, dok je na isti način opadala u stromi. U našem istraživanju nije nađena značajna razlika ekspresije IL-6 u stromalnim stanicama između četiriju dijagnoza. Ti istraživači nisu našli korelaciju ekspresije IL-6 s GS-om i TNM stadijem tumora u epitelnim i stromalnim stanicama. Također, u našem istraživanju nisu nađene značajne razlike ekspresije IL-6 u pojedinim stanicama s obzirom na GS i TNM. Iz svog su istraživanja Cardillo i suradnici zaključili da ponašanje tumora prostate ovisi o interakciji između stromalnih i epitelnih stanica i da IL-6 ima autokrinu ulogu u stromalnim stanicama uzoraka prostate bez premalignih/malignih lezija te da su bazalne stanice glavni izvor IL-6 u benignoj prostati. Progresivni rast razine IL-6 nađen u epitelnom odjeljku PIN-a i karcinoma prostate ukazuje na to da bi taj citokin mogao imati ulogu u poticanju rasta tijekom ranog stadija karcinogeneze prostate. Stromalni IL-6 bi mogao utjecati na prostatični rast i diferencijaciju u autokrinim i parakrinim petljama. Hobisch i suradnici (347) proučavali su 17 smrznutih uzoraka karcinoma prostate dobivenih RP-om. Utvrdili su da je u benignom epitelu IL-6 bio uglavnom eksprimiran u bazalnim stanicama (više od 50% tih stanica eksprimiralo je IL-6) dok je manje od 10% sekretornih stanica benignih acinusa pokazivalo IL-6 imunoreaktivnost. Ti istraživači nisu utvrdili IL-6 ekspresiju u stromalnom odjeljku benignog tkiva, ali je pozitivna reakcija uočena u atrofičnim dijelovima. Broj IL-6 pozitivnih stanica bio je veći u neoplastičnom tkivu nego u benignom žljezdanom epitelu. Također su našli da je više od polovice tumora s Gleasonovim gradusom  $\geq 3$  imalo pozitivno bojenje na IL-6 u više od 50% stanica. HGPIN lezije pokazivale su IL-6 ekspresiju, što je također utvrđeno u našem istraživanju. Budući da su našli da su IL-6 receptori eksprimirani i u epitelnim i u stromalnim stanicama, smatrali su da stromalne stanice utječu na prostatični rast i diferencijaciju na autokrini i parakrini način. To istraživanje potvrdilo je rezultate Chunga i suradnika (327) koji

su pokazali inhibiciju LNCaP stanica od strane IL-6 na parakrini način. Isti autori pokazali su da su, suprotno od LNCaP stanica, androgen-neovisne stanice PC-3 stimulirane od IL-6 na autokrini način. Ti rezultati upućuju na to da suradnja IL-6 i signalizacijskih puteva androgena određuje stanične događaje u karcinomu prostate. Slično rezultatima u karcinomu prostate utvrđeno je da je ekspresija IL-6 povećana u invazivnom lobularnom karcinomu dojke (348). Nedavno je pokazano da ekspresija IL-6 u karcinomu štitnjače opada s progresijom diferencijacije (349). U tumorima žlijezda slinovnica utvrđen je obrnuti odnos između IL-6 imunoreaktivnosti i stadija tumora (350). Gore navedeni rezultati ukazuju na to da se tkivna ekspresija IL-6 razlikuje u pojedinim humanim karcinomima.

## 7. ZAKLJUČCI

Temeljem rezultata dobivenih istraživanjem uloge proinflamatornog citokina interleukina-6 u razvoju i progresiji adenokarcinoma prostate može se zaključiti sljedeće:

1. Povišena razina IL-6 u serumu može se naći, osim kod bolesnika s adenokarcinomom prostate, i kod bolesnika s PIN-om, BPH te kod bolesnika s prostatitisom.
2. Značajno više razine IL-6 u serumu nalaze se kod bolesnika sa slabo diferenciranim adenokarcinomom prostate u odnosu na bolesnike s dobro diferenciranim adenokarcinomom prostate.
3. Postoji pozitivna korelacija između razine IL-6 u serumu i razine PSA u serumu.
4. Ne postoji značajna razlika u razini IL-6 u serumu između bolesnika s T2 i T3/T4 stadijem adenokarcinoma prostate.
5. Povišene razine IL-6 u serumu postoje kod bolesnika s metastazama u kostima.
6. IHC ekspresija IL-6 nađena je u normalnim epitelnim stanicama, premalignim i malignim epitelnim stanicama, bazalnim stanicama te stromalnim stanicama.
7. U uzorcima tkiva s BPH najveća ekspresija interleukina-6 nađena je u normalnim sekretornim stanicama i u bazalnim stanicama.
8. U epitelnim malignim stanicama nađena je veća ekspresija interleukina-6 nego u normalnim epitelnim stanicama.
9. Nema značajne razlike u ekspresiji IL-6 u malignim stanicama uzoraka slabo i srednje diferenciranog adenokarcinoma prostate, kao i u malignim stanicama T2 i T3/T4 stadija adenokarcinoma prostate.
10. Nema razlike u ekspresiji IL-6 između malignih i premalighnih epitelnih stanica uzoraka tkiva prostate.
11. Postoji negativna korelacija između ekspresije interleukina-6 u normalnim epitelnim stanicama te u bazalnim stanicama i PSA u serumu.

Naši rezultati upućuju na to da IL-6 ima bitnu ulogu u razvoju i progresiji adenokarcinoma prostate i da je razina IL-6 u serumu prognostički čimbenik koji bi mogao biti koristan kao dodatni marker za otkrivanje bolesnika s naprednijom bolesti kod kojih treba primijeniti agresivniju terapiju. Budući da je IL-6 eksprimiran i u epitelnim i u stromalnim stanicama, vjerojatno je da stromalne stanice potiču rast i diferencijaciju stanica prostate na autokrini i parakrini način. Naši IHC rezultati upućuju na to da bi ovaj citokin mogao biti cilj za imunoterapiju.

## 8. SAŽETAK

Hipoteza istraživanja bila je da je serumska razina IL-6 i ekspresija IL-6 u tkivu prostate viša kod bolesnika s karcinomom prostate nego kod bolesnika s PIN-om, BPH i prostatitisom.

Istraživanje se temeljilo na analizi serumske razine IL-6 i IL-6 ekspresije u uzorcima tkiva dobivenim biopsijom prostate od 148 bolesnika (82 bolesnika s karcinomom prostate, 25 bolesnika s BPH i 24 s PIN-om i 17 s prostatitisom). Razina IL-6 u serumu bolesnika određivana je elektrokemiluminiscentnim imunotestom (ECLIA), a za određivanje ekspresije IL-6 u uzorcima tkiva prostate korištena su mišja antihumana IL-6 antitijela (NCL-L-IL-6).

Razina IL-6 u serumu bila je značajno viša kod bolesnika sa slabo diferenciranim karcinomom prostate u odnosu na bolesnike sa srednje diferenciranim karcinomom prostate ( $p = 0,007$ ). Također, povišene su razine IL-6 u serumu nađene kod bolesnika s metastazama u kostima. Serumska razina IL-6 bila je povezana s patološkim stupnjem bolesti (GS), ali ne i s ekstraprostatičnom proširenošću bolesti.

IHC bojenjem nađena je ekspresija IL-6 u citoplazmi normalnih epitelnih stanica, premalignih i malignih stanica prostate te u stromalnim stanicama prostate (mononukleari, fibroblasti i endotelne stanice). Najveća ekspresija IL-6 u normalnim sekretornim stanicama nađena je u uzorcima tkiva s BPH (60% uzorka imalo je ekspresiju IL-6 u više od 50% normalnih sekretornih stanica), koja je postupno opadala u PIN-u, zatim prostatitisu. Najmanja ekspresija IL-6 nađena je u uzorcima tkiva s karcinomom prostate. Također je nađeno da su u bazalnim stanicama najveću ekspresiju IL-6 imali uzorci tkiva s BPH (52% uzoraka s BPH imalo je u više od 50% bazalnih stanica ekspresiju IL-6), a najmanju ekspresiju IL-6 u bazalnim stanicama imali su uzorci s karcinomom prostate. Ekspresija IL-6 bila je veća u epitelnim stanicama nego u stromalnim. Epitelne maligne stanice imale su veću ekspresiju IL-6 nego okolne normalne epitelne stanice. Nije nađena značajna razlika u ekspresiji IL-6 u premalignim i malignim epitelnim stanicama ( $p = 0,814$ ).

Proinflamatorni citokin IL-6 ima važnu ulogu u razvoju i progresiji adenokarcinoma prostate i mogao bi biti cilj za imunoterapiju.



## 9. SUMMARY

### **The role of proinflammatory cytokine interleukin-6 in the development and progression of prostate adenocarcinoma**

The hypothesis of the research was that the serum IL-6 level and IL-6 expression in the prostate tissue are higher in patients with prostate cancer in comparison to patients with prostatic intraepithelial neoplasia (PIN), benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostatitis .

The research was based on the analysis of serum IL-6 levels and IL-6 expression in tissue samples obtained from prostate biopsy from 148 patients (82 patients with prostate cancer, 25 patients with BPH, 24 patients with PIN and 17 patients with prostatitis). Serum IL-6 levels were measured by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) and IL-6 expression in the prostate tissue samples was determined by mouse anti human IL-6 antibodies (NCL-L-IL-6).

Serum IL-6 levels were significantly higher in patients with poorly differentiated prostate cancer in comparison to patients with moderately differentiated prostate cancer ( $p = 0.007$ ). Also, high serum IL-6 levels were found in patients with bone metastases. Serum IL-6 levels were associated with Gleason score (GS), but not with extraprostatic extension.

Immunohistochemical (IHC) staining identified IL-6 expression in cytoplasm of the normal epithelial cells, premalignant and malignant prostate cells and in stromal prostate cells (mononuclear, fibroblasts and endothelial cells). The highest IL-6 expression in normal secretory cells was found in prostate tissue samples with BPH (60% of the samples had IL-6 expression in more than 50% normal secretory cells), IL-6 expression decreased in PIN and prostatitis. The lowest IL-6 expression in normal secretory cells was found in the tissue samples with prostate cancer. Moreover, basal cells had the highest IL-6 expression in the tissue samples with BPH (52% of the BPH tissue samples had in more than 50% basal cells IL-6 expression) whereas the lowest IL-6 expression in basal cells was found in the tissue samples with prostate cancer. IL-6 expression was higher in epithelial cells than in stromal cells. Epithelial malignant cells showed higher IL-6 expression than normal epithelial cells. There was no significant difference in IL-6 expression in premalignant and malignant epithelial cells ( $p = 0.814$ ).

Proinflammatory cytokine IL-6 has an important role in the development and progression of prostate adenocarcinoma and could be an effective target for immunotherapy.

## 10. LITERATURA

1. Šamija M. Zašto je rak prostate najvarijabilniji zloćudni tumor? U: Šamija M, i sur. Rak prostate –najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 306-11.
2. Wagner PD, Verma M, Srivastava S. Challenges for biomarkers in cancer detection. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1022:9-16.
3. Egler RA, Burlingame SM, Nuchtern JG, Russell HV. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor levels as markers of disease extent and prognosis in neuroblastoma *Clin Cancer Res.* 2008;14(21):7028-34. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5017.
4. Stasi R, Brunetti M, Parma A, Di Giulio C, Terzoli E, Pagano A. The prognostic value of soluble interleukin-6 receptor in patients with multiple myeloma. *Cancer.* 1998;82(10):1860-6.
5. Hoffelt SC, Marshall LM, Garzotto M, Hung A, Holland J, Beer TM. A comparison of CT scan to transrectal ultrasound - measured prostate volume in untreated prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;57(1):29-32.
6. Juretić A, Marušić A, Ježek D, Šarić N, Bašić-Koretić M, Bišof V. Anatomija, histologija, embriologija i fiziologija prostate. U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 1-20.
7. McNeal JE. Normal and pathologic anatomy of prostate. *Urology.* 1981;17:11-6.
8. Kost LV, Evans GW. Occurrence and significance of striated muscle within the prostate. *J Urol.* 1964;92:703-4.
9. Manley CB, Jr. The striated muscle of the prostate. *J Urol.* 1966;95(2):234-40.
10. Franks LM. Benign nodular hyperplasia of the prostate; a review. *Ann R Coll Surg Engl.* 1953;14(2):92-106.
11. Epstein JI, Fynheer J. Acidic mucin in the prostate: can it differentiate adenosis from adenocarcinoma? *Hum Pathol.* 1992;23(12):1321-5.
12. Ro JY, Grignon DJ, Ayala AG, Hogan SF, Têtu B, Ordóñez NG. Blue nevus and melanosis of the prostate. Electron-microscopic and immunohistochemical studies. *Am J Clin Pathol.* 1988;90(5):530-5.
13. Brennick JB, O'Connell JX, Dickersin GR, i sur. Lipofuscin pigmentation (so-called „melanosis“) of the prostate. *Am J Surg Pathol.* 1994;18(5):446-54.
14. Hedrick L, Epstein JI. Use of keratin 903 as an adjunct in the diagnosis of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1989;13(5):389-96.

15. Brawer MK, Peehl DM, Stamey TA, Bostwick DG. Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate. *Cancer Res.* 1985;45(8):3663-7.
16. Wojno KJ, Epstein JI. The utility of basal cell-specific anti-cytokeratin antibody (34 beta E12) in the diagnosis of prostate cancer. A review of 228 cases. *Am J Surg Pathol.* 1995;19(3):251-60.
17. Parsons JK, Gage WR, Nelson WG, De Marzo AM. p63 protein expression is rare in prostate adenocarcinoma: implications for cancer diagnosis and carcinogenesis. *Urology.* 2001;58(4):619-24.
18. Bonkhoff H, Stein U, Remberger K. Multidirectional differentiation in the normal, hyperplastic, and neoplastic human prostate: simultaneous demonstration of cell-specific epithelial markers. *Hum Pathol.* 1994;25(1):42-6.
19. Coffey DS. The molecular biology, endocrinology and physiology of the prostate and seminal vesicles. U: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED Jr, ur. *Campbell's Urology.* Philadelphia: Saunders; 1992. str. 221-51.
20. Cunha GR, Donjacour AA, Cooke PS, Mee S, Bigsby RM, Higgins SJ, i sur. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr Rev.* 1987;8(3):338-62.
21. Berry SJ, Strandberg JD, Saunders WJ, Coffey DS. Development of canine benign prostatic hyperplasia with age. *Prostate.* 1986;9(4):363-73.
22. Moore R. Benign hypertrophy of the prostate: a morphological study. *J Urol.* 1943;50:680-710.
23. Viglione MP, Potter S, Partin AW, Lesniak MS, Epstein JI. Should the diagnosis of benign prostatic hyperplasia be made on prostate needle biopsy? *Hum Pathol.* 2002;33(8):796-800.
24. Kohnen PW, Drach GW. Patterns of inflammation in prostatic hyperplasia: a histologic and bacteriologic study. *J Urol.* 1979;121(6):755-60.
25. Nielsen ML, Asnaes S, Hattel T. Inflammatory changes in the non-infected prostate gland. A clinical, microbiological and histological investigation. *J Urol.* 1973;110(4):423-6.
26. Nadler RB, Humphrey PA, Smith DS, Catalona WJ, Rattliff T. Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate specific antigen levels. *J Urol.* 1995;154(2 Pt 1):407-13.
27. Hasui Y, Marutsuka K, Asada Y, Ide H, Nishi S, Osada Y. Relationship between serum prostate specific antigen and histological prostatitis in patients with benign prostatic hyperplasia. *Prostate.* 1994;25(2):91-6.

28. Mostofi FK, Morse WH. Epithelial metaplasia in "prostatic infarction". *AMA Arch Pathol.* 1951;5(83):340-5.
29. Milord RA, Kahane H, Epstein JI. Infarct of the prostate gland: experience on needle biopsy specimens. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(10):1378-84.
30. Granados EA, Riley G, Salvador J, Vincente J. Prostatic abscess: diagnosis and treatment. *J Urol.* 1992;148(1):80-2.
31. Epstein JI, Grignon DJ, Humphrey PA, McNeal JE, Sesterhenn IA, Troncso P, i sur. Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 1995;19(8):873-86.
32. Bostwick DG, Amin MB, Dundore P, Marsh W, Schultz DS. Architectural patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Hum Pathol.* 1993;24(3):298-310.
33. Cheville JC, Reznicek MJ, Bostwick DG. The focus of „atypical glands, suspicious for malignancy“ in prostatic needle biopsy specimens: incidence, histologic features, and clinical follow-up of cases diagnosed in a community practice. *Am J Clin Pathol.* 1997;108(6):633-40.
34. Argini P, Epstein JI. Inverted (Hobnail) high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): report of 15 cases of a previously underscribed pattern of high-grade PIN. *Am J Surg Pathol.* 2001;25(12):1534-9.
35. Häggman MJ, Macoska JA, Wojno KJ, Oesterling JE. The relationship between prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer: critical issues. *J Urol.* 1997;158(1):12-22.
36. McNeal JE, Villers A, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Microcarcinoma in the prostate: its association with duct-acinar dysplasia. *Hum Pathol.* 1991;22(7):644-52.
37. Bostwick DG, Pacelli A, Lopez-Beltran A. Molecular biology of prostatic intraepithelial neoplasia. *Prostate.* 1996;29(2):117-34.
38. Lee MC, Moussa AS, Yu C, Kattan MW, Magi-Galluzzi C, Jones JS. Multifocal high grade prostatic intraepithelial neoplasia is a risk factor for subsequent prostate cancer. *J Urol.* 2010;184(5):1958-62. doi: 10.1016/j.juro.2010.06.137.
39. Zynger DL, Yang X. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia of the prostate: the precursor lesion of prostate cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2009;2(4):327-38.
40. Bostwick DG, Qian J. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol.* 2004;17(3):360-79.
41. Krušlin B, Tomas D, Cviko A, Čupić H, Odak L, Belicza M. Periacinar Clefting and p63 Immunostaining in Prostatic Intraepithelial Neoplasia and Prostatic Carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2006;12(4):205-9.

42. Bostwick DG, Srigley J, Grignon D, Maksem J, Humphrey P, van der Kwast TH, i sur. Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate: morphologic criteria for its distinction from well-differentiated carcinoma. *Hum Pathol.* 1993;24(8):819-32.
43. Bostwick DG, Liu L, Brawer MK, Qian J. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Rev Urol.* 2004;6(4):171-9.
44. Emmert-Buck MR, Vocke CD, Pozzatti RO, Duray PH, Jennings SB, Florence CD, Zhuang Z. Allelic loss on chromosome 8p12-21 in microdissected prostatic intraepithelial neoplasia. *Cancer Res.* 1995;55(14):2959-62.
45. Qian J, Bostwick DG, Takahashi S, Borell TJ, Herath JF, Lieber MM, i sur. Chromosomal anomalies in prostatic intraepithelial neoplasia and carcinoma detected by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res.* 1995;55(22):5408-14.
46. Nasir A, Copeland, Gillespie JW, Chughtai OR, Andrawis R, Kaiser HE, i sur. Preneoplastic lesions of the prostate – clinical, pathological and molecular biological aspects. *In Vivo.* 2002;16(6):557-66.
47. Calvo A, Xiao N, Kang J, Best CJ, Leiva I, Emmert-Buck MR, i sur. Alterations in gene expression profiles during prostate cancer progression: functional correlations to tumorigenicity and down-regulation of selenoprotein-P in mouse and human tumors. *Cancer Res.* 2002;62(18):5325-35.
48. Sakr WA, Grignon DJ, Haas GP, Schomer KL, Heilburn LK, Cassion BJ, i sur. Epidemiology of high grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Pathol Res Pract.* 1995;191(9):838-41.
49. Fowler JE, Bigler SA, Lynch C, Wilson SS, Farabaugh PB. Prospective study of correlations between biopsy-detected high grade prostatic intraepithelial neoplasia, serum prostate specific antigen concentration, and race. *Cancer.* 2001;91(7):1291-6.
50. Powell IJ, Bock CH, Ruterbusch JJ, Sakr W. Evidence supports a faster growth rate and/or earlier transformation to clinically significant prostate cancer in black than in white american men, and influences racial progression and mortality disparity. *J Urol.* 2010;183(5):1792-6. doi: 10.1016/j.juro.2010.01.015.
51. Potts JM, Lutz M, Walker E Modlin C, Klein E. Trends in PSA, age and prostate cancer detection among black and white men from 1990-2006 at a tertiary care center. *Cancer.* 2010;116(16):3910-5. doi: 10.1002/cncr.25124.
52. Sakr WA. Prostatic Intraepithelial Neoplasia: A Marker for High-Risk Groups and a Potential Target for Chemoprevention. *Eur Urol.* 1999;35:474-78.

53. Bigler SA, Fowler JE, Lynch C, Wilson SS, Farabaugh PB. Prospective study of correlations between biopsy-detected high grade prostatic intraepithelial neoplasia, serum prostate specific antigen concentration, and race. *Cancer*. 2001;91(7):1291-6.
54. Cheng L, Leibovich BC, Bergstralh EJ, Scherer BG, Pacelli A, Ramnani DM, et al. p53 alteration in regional lymph node metastases from prostate carcinoma: a marker for progression? *Cancer*. 1999;85(11):2455-9.
55. Steiner MS. High grade prostatic intraepithelial neoplasia is a disease. *Curr Urol Rep*. 2001;2(3):195-8.
56. Davidson D, Bostwick DG, Qian J, Wollan PC, Oesterling JE, Rudders RA, et al. Prostatic intraepithelial neoplasia is a risk factor for adenocarcinoma: predictive accuracy in needle biopsies. *J Urol*. 1995;154(4):1295-9.
57. Bostwick DG. Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN): current concepts. *J Cell Biochem Suppl*. 1992;16H:10-9.
58. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol*. 1999;155(6):1985-92.
59. Putzi MJ, De Marzo AM. Morphologic transitions between proliferative inflammatory atrophy and high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Urology*. 2000;56(5):828-32.
60. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007;57(1):43-66.
61. Sakr WA, Haas GP, Cassin BF, Pontes JE, Crissman JD. The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients. *J Urol*. 1993;150(2 Pt 1):379-85.
62. Ruska KM, Partin AW, Epstein JI, Kahane H. Adenocarcinoma of the prostate in men younger than 40 years of age: diagnosis and treatment with emphasis on radical prostatectomy findings. *Urology*. 1999;53(6):1179-83.
63. Aprikian AG, Zhang ZF, Fair WR. Prostate adenocarcinoma in men younger than 50 years. A retrospective review of 151 patients. *Cancer*. 1994;74(6):1768-77.
64. Shimada H, Misugi K, Sasaki Y, Iizuka A, Nishihira H. Carcinoma of the prostate in childhood and adolescence: report of a case and review of the literature. *Cancer*. 1980;46(11):2534-42.
65. Epstein JI, Netto GJ. The prostate and seminal vesicles. U: Mills SE, ur. *Sternberg's Diagnostic Surgical Pathology*. New York: Raven Press; 2009. str. 1870-913.

66. Levine RL, Wilchinsky M. Adenocarcinoma of the prostate: a comparison of the disease in blacks versus whites. *J Urol.* 1979;121(6):761-2.
67. Moul JW, Douglas TH, McCarthy WF, McLeod DG. Black race is an adverse prognostic factor for prostate cancer recurrence following radical prostatectomy in an equal access health care setting. *J Urol.* 1996;155(5):1667-73.
68. Powell IJ, Dey J, Dudley A, Pontes JE, Cher ML, Sakr W, i sur. Disease-free survival difference between African Americans and whites after radical prostatectomy for local prostate cancer: a multivariable analysis. *Urology.* 2002;59(6):907-12.
69. Carter HB, Piantadosi S, Isaacs JT. Clinical evidence for and implications of the multistep development of prostate cancer. *J Urol.* 1990;143(4):742-6.
70. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin.* 2010;60(5):277-300. doi: 10.3322/caac.20073.
71. Strnad M, Šamija M. Epidemiologija raka prostate. U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 21-37.
72. Zhong W, Oberley TD. Redox-mediated effects of selenium on apoptosis and cell cycle in the LNCaP human prostate cancer cell line. *Cancer Res.* 2001;61(19):7071-8.
73. Le Marchand L, Kolonel LN, Wilkens LR, Myers BC, Hirohata T. Animal fat consumption and prostate cancer: a prospective study in Hawaii. *Epidemiology.* 1994;5(3):276-82.
74. Giovannucci E, Rimm EB, Liu Y, Stampfer MJ, Willett WC. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94(5):391-8.
75. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2002;52(1):23-47.
76. Garfinkel L, Mushinski M. Cancer incidence, mortality and survival trends in four leading sites. *Stat Bull Metrop Insur Co.* 1994;75(3):19-27.
77. Steinberg GD, Carter BS, Beaty TH, Childs B, Walsh PC. Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate.* 1990;17(4):337-47.
78. Rodriguez C, Calle EE, Miracle-McMahill HL, Tatham LM, Wingo PA, Thun MJ, i sur. Family history and risk of fatal prostate cancer. *Epidemiology.* 1997;8(6):653-7.
79. Myers RE, African American men, prostate cancer early detection examination use, and informed decision-making. *Semin Oncol.* 1999;26(4):375-81.
80. Santen RJ. Clinical review 37: Endocrine treatment of prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75:685-9.

81. Bentel JM, Tilley WD. Androgen receptors in prostate cancer. *J Endocrinol.* 1996;151(1):1-11.
82. Abrams P. New words for old lower urinary tract symptoms for „prostatism“. *BMJ.* 1994;308(6934):929-30.
83. Šamija M. Mora li se svaki rak prostate liječiti? U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 251-256.
84. Romero SE, Gómez Veiga F, Ponce Diaz-Reixa J, Pertega-Diaz S, Gonzáles MM. Insignificant prostate cancer. Analysis of our series. *Actas Urol Esp.* 2008;32(5):475-84.
85. Fry DE, Amin M, Harbrecht PJ. Rectal obstruction secondary to carcinoma of the prostate. *Ann Surg.* 1979;189(4):488-92.
86. Carter HB, Allaf ME, Partin AW. Diagnosis and staging of prostate cancer. U: Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, ur. *Campbell-Walsh Urology.* Philadelphia: Saunders; 2007. str. 2912-31.
87. Huddart RA, Rajan B, Law M, Meyer L, Dearnaley DP. Spinal cord compression in prostate cancer: treatment outcome and prognostic factors. *Radiother Oncol.* 1997;44(3):229-36.
88. Reljić A. Klinički pregled. U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 72-74.
89. Randolph TL, Amin MB, Ro JY, Ayala AG. Histologic variants of adenocarcinoma and other carcinomas of prostate. *Mod Pathol.* 1997;10(6):612-29.
90. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, ur. *WHO Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs,* 6. izd. Lyon: IARC Press; 2004.
91. Amin MB, Ro JY, Ayala AG. Clinical relevance of histologic variants of prostate cancer. *Cancer Bull.* 1993;45:403-10.
92. Hall GS, Kramer CE, Epstein JI. Evaluation of radical prostatectomy specimens. A comparative analysis of sampling methods. *Am J Surg Pathol.* 1992;16(4):315-24.
93. Epstein JI, Yang XJ. *Prostate Biopsy Interpretation.* 3. izd. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
94. Mittal BV, Amin MD, Kinare SG. Spectrum of histological lesions in 185 consecutive prostatic specimens. *J Postgrad Med.* 1989;35(3):157-61.
95. Srigley JR, Toth P, Hartwick RWJ. Atypical histologic patterns in cases of benign prostatic hyperplasia. *Lab Invest.* 1989;60:90A.



96. Thorson P, Vollmer RT, Arcangeli C, Keetch DW, Humphrey PA. Minimal carcinoma in prostate needle biopsy specimens: diagnostic features and radical prostatectomy follow-up. *Mod Pathol.* 1998;11(6):543–51.
97. Iczkowski KA, Bostwick DG. Criteria for biopsy diagnosis of minimal volume prostatic adenocarcinoma: analytic comparison with nondiagnostic but suspicious atypical small acinar proliferation. *Arch Pathol Lab. Med* 2000;124(1):98–107.
98. Mancuso PA, Chabert C, Chin P, Kovac P, Skyring T, Watt WH, i sur. Prostate cancer detection in men with an initial diagnosis of atypical small acinar proliferation. *BJU Int.* 2007;99(1):49–52.
99. Young RH, Srigley JR, Amin MB, Ulbright TM, Cubilla AL, ur. *Tumors of the prostate gland, seminal vesicles, male urethra and penis, 3. izd.* Washington: APIF; 2000.
100. Rosai J, ur. *Rosai and Ackerman's surgical pathology.* St.Louis: Mosby; 2004.
101. Levi AW, Epstein JI. Pseudohyperplastic prostatic adenocarcinoma on needle biopsy and simple prostatectomy. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(8):1039-46.
102. Nelson RS, Epstein JI. Prostatic carcinoma with abundant xanthomatous cytoplasm. Foamy gland carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1996;20(4):419-26.
103. Osunkoya AO, Nielsen ME, Epstein JI. Prognosis of mucinous adenocarcinoma of the prostate treated by radical prostatectomy: a study of 47 cases. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(3):468-72. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181589f72.
104. Parwani AV, Kronz JD, Genega EM, Gaudin P, Chang S, Epstein JI. Prostate carcinoma with squamous differentiation: an analysis of 33 cases. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(5):651-7.
105. Liedberg F, Chebil G, Månsson W. Urothelial carcinoma in the prostatic urethra and prostate: current controversies. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2007;7(3):383-90.
106. Wang W, Epstein JI. Small cell carcinoma of the prostate. A morphologic and immunohistochemical study of 95 cases. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(1):65-71.
107. Hansel DE, Epstein JI. Sarcomatoid carcinoma of the prostate: a study of 42 cases. *Am J Surg Pathol.* 2006;30(10):1316-21.
108. Brinker DA, Potter SR, Epstein JI. Ductal adenocarcinoma of the prostate diagnosed on needle biopsy: correlation with clinical and radical prostatectomy findings and progression. *Am J Surg Pathol.* 1999;23(12):1471-9.
109. Epstein JI. Assessment of needle biopsies. U: Walsh PC, ur. *Campbell's Urology.* Philadelphia: Saunders; 2002. str. 3029-30.

110. Tomašković I, Bulimbašić S, Čustović Z, Reljić A, Krušlin B, Kraus O. Correlation of Gleason grade in preoperative prostate biopsy and prostatectomy specimens. *Acta Clin Croat.* 2003;42:225-7.
111. Gleason DF, Mellinger GT. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol.* 1974;111(1):58-64.
112. Carter HB, Partin AW. Diagnosis and staging of prostate cancer. U: Walsh PC, ur. *Campbell-Walsh Urology.* Philadelphia: Saunders; 2002. str. 3068-70.
113. Sölétormos G, Semjonow A, Sibely PE, Lamerz R, Petersen PH, Albrecht W, i sur. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice. *Clin Chem.* 2005;51(8):1342-51.
114. Epstein JI, Pound CR, Partin AW, Walsh PC. Disease progression following radical prostatectomy in men with Gleason score 7 tumor. *J Urol.* 1998;160(1):97-100.
115. Egevad L, Norlén BJ, Norberg M. The value of multiple core biopsies for predicting the Gleason score of prostate cancer. *BJU Int.* 2001;88(7):716-21.
116. Tomašković I, Reljić A. Biopsija prostate. U: Šamija M, i sur. *Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor.* Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 118-24.
117. Holm HH, Gammelgaard J. Ultrasonically guided precise needle placement in the prostate and the seminal vesicles. *J Urol.* 1981;125(3):385-7.
118. Naughton CK, Miller DC, Yan Y. Impact of transrectal ultrasound guided prostate biopsy on quality of life: a prospective randomized trial comparing 6 versus 12 cores. *J Urol.* 2001;165(1):100-3.
119. Aus G, Ahlgren G, Hugosson J, Pedersen KV, Rensfeldt K, Söderberg R. Diagnosis of prostate cancer: Optimal number of prostate biopsies related to serum prostate-specific antigen and findings on digital rectal examination. *Scand J Urol Nephrol.* 1997;31(6):541-4.
120. Keetch DW, Catalona WJ. Prostatic transition zone biopsies in men with previous negative biopsies and persistently elevated serum prostate specific antigen values. *J Urol.* 1995;154(5):1795-7.
121. Ramey JR, Halpern EJ, Gomella JG. Ultrasonography and biopsy of the prostate. U: Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, ur. *Campbell-Walsh Urology.* Philadelphia: Saunders; 2007. str. 2883-95.
122. Whitmore WF Jr. Hormone therapy in prostatic cancer. *Am J Med.* 1956;21(5):697-713.
123. UICC. *TNM Classification of Malignant Tumors*, 3. izd. Geneva, International Union against Cancer. 1978.

124. Sobin LH, Wittekind CH ur. TNM Classification of Malignant Tumors. 6. izd. New York: Wiley-Liss; 2002.
125. Elgamal AA, Van Poppel HP, Van de Voorde WM, Van Dorpe JA, Oyen RH, Baert LV. Impalpable, invisible stage T1c prostate cancer: characteristics and clinical relevance in 100 radical prostatectomy specimens – a different view. *J Urol*. 1997;150(1):244-50.
126. Epstein JI, Algaba F, Allsbrook WC Jr, Bastacky S, Boccon-Gibod L, De Marzo AM, i sur. Acinar adenocarcinoma. U: Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, ur. World Health Organisation Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2004. str. 162-92.
127. Cho KR, Epstein JI. Metastatic prostatic carcinoma to supradiaphragmatic lymph nodes. A clinicopathologic and immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol*. 1987;11(6):457-63.
128. Bedalov G, Puškar D. TNM-kategorizacija i određivanje stadija bolesti. U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 129-34.
129. Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, Walsh PC, Epstein JI, Pearson JD. Contemporary update of the prostate cancer staging nomograms (Partin tables) for the new millennium. *Urology*. 2001;58(6):843-8.
130. Spigelman SS, McNeal JE, Freiha FS, Stamey TA. Rectal examination in volume determination of carcinoma of the prostate: clinical and anatomical correlations. *J Urol*. 1986;136(6):1228-30.
131. Scardino PT, Weaver R, Hudson MA. Early detection of prostate cancer. *Hum Pathol*. 1992;23(3):211-22.
132. Body JJ. Metastatic bone disease: Clinical and therapeutic aspects. *Bone*. 1992;13(1):S57-62.
133. Oesterling JE, Martin SK, Bergstralh EJ, Lowe FC. The use of prostate-specific antigen in staging patients with newly diagnosed prostate cancer. *JAMA*. 1993;269(1):57-60.
134. Bruwer G, Heyns CF, Allen FJ. Influence of local tumor stage and grade on reliability of serum prostate specific-antigen in predicting skeletal metastases in patients with adenocarcinoma of the prostate. *Eur Urol*. 1999;35(3):223-7.
135. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. TNM Classification of malignant tumors, 7. izd. New York: Wiley-Blackwell; 2009.
136. Middleton RG. The management of clinically localized prostate cancer: guidelines from the American Urological Association. *CA Cancer J Clin*. 1996;46(4):249-53.

137. Ablin RJ, Bronson P, Soanes WA, Witebsky E: Tissue- and species-specific antigens of normal human prostatic tissue. *J Immunol.* 1970, 104(6):1329-39.
138. Ablin RJ, Soanes WA, Bronson P, Witebsky E. Precipitating antigens of the normal human prostate. *J Reprod Fertil.* 1970;22(3):573-4.
139. Chodak GW, Schoenberg HW. Early detection of prostate cancer by routine screening. *JAMA.* 1984;252(23):3261-4.
140. Thompson IM, Ernst JJ, Gangai MP, Spence CR. Adenocarcinoma of the prostate: results of routine urological screening. *J Urol.* 1984;132(4):690-2.
141. Epstein JI, Walsh PC, Carmichael M, Brendler CB. Pathological and clinical findings to predict tumor extent of nonpalpable (stage T1c) prostate cancer. *JAMA.* 1994;271(5):368-74.
142. Carter HB, Sauvageot J, Walsh PC, Epstein JI. Prospective evaluation of men with stage T1C adenocarcinoma of the prostate. *J Urol.* 1997;157(6):2206-9.
143. Angulo JC, Montie JE, Bukowsky T, Chakrabarty A, Grignon DJ, Sakr W, i sur. Interobserver consistency of digital rectal examination in clinical staging of localized prostatic carcinoma. *Urol Oncol.* 1995;1(5):199-205.
144. Carter HB, Hamper UM, Sheth S, Sanders RC, Epstein JI, Walsh PC. Evaluation of transrectal ultrasound in the early detection of prostate cancer. *J Urol.* 1989;142(4):1008-10.
145. Coffield KS, Speights VO, Brawn PN, Riggs MW. Ultrasound detection of prostate cancer in postmortem specimens with histological correlation. *J Urol.* 1992;147(3 Pt 2):822-6.
146. Matthews GJ, Motta J, Fracehia JA. The accuracy of transrectal ultrasound prostate volume estimation: clinical correlations. *J Clin Ultrasound.* 1996;24(9):501-5.
147. Šimundić AM. Tumorski markeri. U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 107-12.
148. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, i sur. 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(19):1542-7. doi:10.1001/jama.279.19.1542.
149. Gretzer MB, Partin AW: PSA markers in prostate cancer detection. *Urol Clin North Am.* 2003;30(4):677-86.
150. Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG, Evans CL, Linton HJ, Amirkhan A, i sur. 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(6 Pt 1):2181-5.
151. Foster MC, O'Reilly PH. Carcinoma of the prostate masquerading as rectal carcinoma. Report of 3 cases and review of the literature. *Br J Urol.* 1990;66(2):193-5.
152. Purohit RS, Shinohara K, Meng MV, Carroll PR. Imaging clinically localized prostate cancer. *Urol Clin North Am.* 2003;30(2):279-93.
153. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *JAMA.* 1993;270(8):948-54.
154. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level  $\leq$  4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med.* 2004;350(22):2239-46.
155. Vashi AR, Oesterling JE. Percent free prostate-specific antigen: entering a new era in the detection of prostate cancer. *Mayo Clin Proc.* 1997;72(4):337-44.
156. Bostwick DG. Prostate-specific antigen. Current role in diagnostic pathology of prostate cancer. *Am J Clin Pathol.* 1994;102(4 Suppl 1):31-7.
157. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol.* 1994;151(5):1283-90.
158. Cooner WH, Mosley BR, Rutherford CL Jr, Beard JH, Pond HS, Terry WJ, et al. Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen. *J Urol.* 1990;143(6):1146-52.
159. McNeal JE, Yemoto CE. Spread of adenocarcinoma within prostatic ducts and acini. Morphologic and clinical correlations. *Am J Surg Pathol.* 1996;20(7):802-14.
160. Sharifi N, Gulley JL, Dahut WL. An update on androgen deprivation therapy for prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2010;17(4):R305-15. doi: 10.1677/ERC-10-0187.
161. Horwich A, Parker C, Bangma C, Kataja V; ESMO Guidelines Working Group. Prostate Cancer. ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2010;21(S5):v129-33. doi: 10.1093/annonc/mdq174.
162. Partin AW, Yoo J, Carter HB, Pearson JD, Chan DW, Epstein JI, et al. The use of prostate specific antigen, clinical stage and Gleason score to predict pathological stage in men with localized prostate cancer. *J Urol.* 1993;150(1):110-4.

163. Kattan MW, Eastham JA, Stapleton AM, Wheeler TM, Scardino PT. A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Ins.* 1998;90(10):766-71.
164. D'Amico AV. Combined-modality staging for localized adenocarcinoma of the prostate. *Oncology (Williston Park).* 2001;15(8):1049-59.
165. Gonzalgo ML, Isaacs WB. Molecular pathways to prostate cancer. *J Urol.* 2003;170(6 Pt 1):2444-52.
166. Balic I, Graham ST, Troyer DA, Higgins BA, Pollock BH, Johnson-Pais TL, i sur. Androgen receptor length polymorphism associated with prostate cancer risk in Hispanic men. *J Urol.* 2002;168(5):2245-8.
167. Hsing AW, Gao YT, Wu G, Wang X, Deng J, Chen YL, i sur. Polymorphic CAG and GGN repeat lengths in the androgen receptor gene and prostate cancer risk: a population-based case-control study in China. *Cancer Res.* 2000;60(18):5111-6.
168. Nam RK, Elhaji Y, Krahn MD, Hakimi J, Ho M, Chu W, i sur. Significance of the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene in prostate cancer progression. *J Urol.* 2000;164(2):567-2.
169. Giovannucci E, Stampfer M, Krithivas K, Brown M, Dahl D, Brufsky A, i sur. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(7):3320-3.
170. Gsur A, Bernhofer G, Hinteregger S, Haidinger G, Schatzl G, Madersbacher S, i sur. A polymorphism in the CYP17 gene is associated with prostate cancer risk. *Int J Cancer.* 2000; 87(3):434-7.
171. Haiman CA, Stampfer MJ, Giovannucci E, Ma J, Decalo NE, Kantoff PW, i sur. The relationship between a polymorphism in CYP17 with plasma hormone levels and prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10(7):743-8.
172. Kittles RA, Panguluri RK, Chen W, Massac A, Ahaghotu C, Jackson A, i sur. Cyp17 promoter variant associated with prostate cancer aggressiveness in African Americans. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10(9):943-7.
173. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Miller GJ, Ford LG, i sur. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(3):215-24.
174. Rubin MA, Zhou M, Dhanasekaran SM, Varambally S, Barrette TR, Sanda MG, i sur. alpha-Methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer. *JAMA.* 2002;287(13):1662-70.

175. Ross JS, Sheehan CE, Dolen EM, Kallakury BV. Morphologic and molecular prognostic markers in prostate cancer. *Adv Anat Pathol.* 2002;9(2):115-28.
176. Shariat SF, Andrews B, Kattan MW, Kim J, Wheeler TM, Slawin KM. Plasma levels of interleukin-6 and its soluble receptor are associated with prostate cancer progression and metastasis. *Urology.* 2001;58(6):1008-15.
177. Adler HL, McCurdy MA, Kattan MW, Timme TL, Scardino PT, Thompson TC. Elevated levels of circulating interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 in patients with metastatic prostatic carcinoma. *J Urol.* 1999;161(1):182-7.
178. Amanatullah DF, Reutens AT, Zafonte BT, Fu M, Mani S, Pestell RG. Cell-cycle dysregulation and the molecular mechanisms of prostate cancer. *Front Biosci.* 2000;5:D372-90.
179. Ekici S, Cerwinka WH, Duncan R, Gomez P, Civantos F, Soloway MS, i sur. Comparison of the prognostic potential of hyaluronic acid, hyaluronidase (HYAL-1), CD44v6 and microvessel density for prostate cancer. *Int J Cancer.* 2004;112(1):121-9.
180. Sedelaar JP, van Leenders GJ, Hulsbergen-van de Kaa CA, van der Poel, van der Laak JA, Debryne FM, i sur. Microvessel density: correlation between contrast ultrasonography and histology of prostate cancer. *Eur Urol.* 2001;40(3):285-93.
181. Leach FS. Microsatellite instability and prostate cancer: clinical and pathological implications. *Curr Opin Urol.* 2002;12(5):407-11.
182. Mouraviev V, Li L, Tahir SA, Yang G, Timme TM, Goltsov A, i sur. The role of caveolin-1 in androgen insensitive prostate cancer. *J Urol.* 2002;168(4 Pt 1):1589-96.
183. Zheng Y, Xu Y, Ye B, Lei J, Weinstein MH, O'Leary MP, i sur. Prostate carcinoma tissue proteomics for biomarker discovery. *Cancer.* 2003;98(12):2576-82.
184. Cazares LH, Adam BL, Ward MD, Nasim S, Schellhammer PF, Semmers OJ, i sur. Normal, benign, preneoplastic, and malignant prostate cells have distinct protein expression profiles resolved by surface enhanced laser desorption/ionization mass spectrometry. *Clin Cancer Res.* 2002;8(8):2541-52.
185. Taylor CR, Shi SR, Barr NJ. *Techniques of Immunohistochemistry: Principles, Pitfalls, and Standardization.* U: Dabbs DJ, ur. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications.* Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2010. str. 1-41.
186. Netto GJ, Epstein JI. *Immunohistology of the Prostate, Bladder, Kidney and Testis .* U: Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications.* Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2010. str. 593-661.

187. Chuang AY, DeMarzo AM, Veltri RW, Sharma RB, Bieberich CJ, Epstein JI. Immunohistochemical differentiation of high-grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(8):1246-55.
188. Kamoshida S, Tsutsumi Y. Extraprostatic localization of prostatic acid phosphatase and prostate-specific antigen: distribution in cloacogenic glandular epithelium and sex-dependent expression in human anal gland. *Hum Pathol.* 1990;21(11):1108-11.
189. James GK, Pudek M, Berean KW, Diamandias EP, Archibald BL. Salivary duct carcinoma secreting prostate-specific antigen. *Am J Clin Pathol.* 1996;106(2):242-7.
190. Diamandis EP. Prostate specific antigen-new applications in breast and other cancers. *Anticancer Res.* 1996;16(6C):3983-4.
191. Chang SS, O'Keefe DS, Bacich DJ, Reuter VE, Heston WD, Gaudin PB. Prostate-specific membrane antigen is produced in tumor-associated neovasculature. *Clin Cancer Res.* 1999;5(10):2674-81.
192. Chang SS, Reuter VE, Heston WD, Bander NH, Grauer LS, Gaudin PB. Five different antiprostate-specific membrane antigen (PSMA) antibodies confirm PSMA expression in tumor-associated neovasculature. *Cancer Res.* 1999;59(13):3192-8.
193. Chang SS, Reuter VE, Heston WD, Gaudin PB. Comparison of anti-prostate-specific membrane antigen antibodies and other immunomarkers in metastatic prostate carcinoma. *Urology.* 2001;57(6):1179-83. doi: 10.1016/s0090-4295(01)00983-9.
194. Silver DA, Pellicer I, Fair WR, Heston WD, Cordon-Cardo C. Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. *Clin Cancer Res.* 1997;3(1):81-5.
195. Murphy GP, Elgamal AA, Su SL, Bostwick DG, Holmes EH. Current evaluation of the tissue localization and diagnostic utility of prostate specific membrane antigen. *Cancer.* 1998;83(11):2259-69. doi: 10.1002/(SICI)1097-0142(19981201)83:11<2259::AID-CNCR5>3.0.CO;2-T.
196. Marchal C, Redondo M, Padilla M, Caballero J, Rodrigo I, Garcia J. Expression of prostate specific membrane antigen (PSMA) in prostatic adenocarcinoma and prostatic intraepithelial neoplasia. *Histol Histopathol.* 2004;19(3):715-8.
197. Bostwick DG, Pacelli A, Blute M, Roche P, Murphy GP. Prostate specific membrane antigen expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: a study of 184 cases. *Cancer.* 1998;82(11):2256-61. doi: 10.1002/(SICI)10970142(19980601)82:11<2256::AID-CNCR22>3.0.CO;2-S.



198. Yao V, Parwani A, Maier C, Heston WD, Bacich DJ. Moderate expression of prostate-specific membrane antigen, a tissue differentiation antigen and folate hydrolase, facilitates prostate carcinogenesis. *Cancer Res.* 2008;68(21):9070-7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2328.
199. Ross JS, Sheehan CE, Fisher HA, Kaufman RP Jr, Kaur P, Gray K, i sur. Correlation of primary tumor prostate-specific membrane antigen expression with disease recurrence in prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2003;9(17):6357-62.
200. Chang SS, Reuter VE, Heston WD, Hutchinson B, Grauer LS, Gaudin PB. Short term neoadjuvant androgen deprivation therapy does not affect prostate specific membrane antigen expression in prostate tissues. *Cancer.* 2000;88(2):407-15. doi: 10.1002/(SICI)1097-0142(20000115)88:2<407::AID-CNCR23>3.0.CO;2-0.
201. Mannweiler S, Amersdorfer P, Trajanoski S, Terrett JA, King D, Mehes G. Heterogeneity of prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in prostate carcinoma with distant metastasis. *Pathol Oncol Res.* 2009;15(2):167-72. doi: 10.1007/s12253-008-9104-2.
202. Milowsky MI, Nanus DM, Kostakoglu L, Sheehen CE, Vallabhajosula S, Goldsmith SJ, i sur. Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors. *J Clin Oncol.* 2007;25(5):540-7.
203. Olson WC, Heston WD, Rajasekaran AK. Clinical trials of cancer therapies targeting prostate-specific membrane antigen. *Rev Recent Clin Trials.* 2007;2(3):182-90.
204. Lane Z, Hansel DE, Epstein JI. Immunohistochemical expression of prostatic antigens in adenocarcinoma and villous adenoma of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol.* 2008;32(9):1322-6. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181656ca0.
205. van Dieijen-Visser MP, Delaere KP, Gijzen AH, Brombacher PJ. A comparative study on the diagnostic value of prostatic acid phosphatase (PAP) and prostatic specific antigen (PSA) in patients with carcinoma of the prostate gland. *Clin Chim Acta.* 1988;174(2):131-40.
206. Ersev A, Ersev D, Turkeri L, Ilker Y, Simsek F, Kullu S, i sur. The relation of prostatic acid phosphatase and prostate specific antigen with tumour grade in prostatic adenocarcinoma: an immunohistochemical study. *Prog Clin Biol Res.* 1990;357:129-34.
207. Sheridan T, Herawi M, Epstein JI, Illei PB. The role of P501S and PSA in the diagnosis of metastatic adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(9):1351-5.
208. Kusumi T, Koie T, Tanaka M, Matsumoto K, Sato F, Kusumi A, i sur. Immunohistochemical detection of carcinoma in radical prostatectomy specimens

- following hormone therapy. *Pathol Int.* 2008;58(11):687-94. doi: 10.1111/j.1440-1827.2008.02294.x.
209. Osunkoya AO, Netto GJ, Epstein JI. Colorectal adenocarcinoma involving the prostate: report of 9 cases. *Hum Pathol.* 2007;38(12):1836-41.
210. Yin M, Dhir R, Parwani AV. Diagnostic utility of p501s (prostein) in comparison to prostate specific antigen (PSA) for the detection of metastatic prostatic adenocarcinoma. *Diagn Pathol.* 2007;2:41.
211. Luo J, Zha S, Gage WR, Dunn TA, Hicks JL, Bennett CJ i sur. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a new molecular marker for prostate cancer. *Cancer Res.* 2002;62(8):2220-6.
212. Jiang Z, Woda BA. Diagnostic utility of alpha-methylacyl CoA racemase (P504S) on prostate needle biopsy. *Adv Anat Pathol.* 2004;11(6):316-21.
213. Jiang Z, Wu CL, Woda BA, Dresser K, Xu J, Fanger GR, Yang XJ. P504S/alpha-methylacyl- CoA racemase: a useful marker for diagnosis of small foci of prostatic carcinoma on needle biopsy. *Am Surg Pathol.* 2002;26(9):1169-74.
214. Jiang Z, Li C, Fischer A, Dresser K, Woda BA. Using an AMACR (P504S)/34betaE12/p63 cocktail for the detection of small focal prostate carcinoma in needle biopsy specimens. *Am J Clin Pathol.* 2005;123(2):231-6.
215. Magi-Galluzzi C, Luo J, Isaacs WB, Hicks JL, de Marzo AM, Epstein JI. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a variably sensitive immunohistochemical marker for the diagnosis of small prostate cancer foci on needle biopsy. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(8):1128-33.
216. Kunju LP, Rubin MA, Chinnaiyan AM, Shah RB. Diagnostic usefulness of monoclonal antibody P504S in the workup of atypical prostatic glandular proliferations. *Am J Clin Pathol.* 2003;120(5):737-45.
217. Molinié V, Fromont G, Sibony M, Vieillefond A, Vassiliu V, Cochand-Priollet B, i sur. Diagnostic utility of a p63/alpha-methyl-CoA-racemase (p504s) cocktail in atypical foci in the prostate. *Mod Pathol.* 2004;17(10):1180-90.
218. Zhou M, Aydin H, Kanane H, Epstein JI. How often does alpha-methylacyl-CoA-racemase contribute to resolving an atypical diagnosis on prostate needle biopsy beyond that provided by basal cell markers? *Am J Surg Pathol.* 2004;28(2):239-43.
219. Farinola MA, Epstein JI. Utility of immunohistochemistry for alpha-methylacyl-CoA racemase in distinguishing atrophic prostate cancer from benign atrophy. *Hum Pathol.* 2004;35(10):1272-8.

220. Sanderson SO, Sebo TJ, Murphy LM, Neumann R, Slezak J, Cheville JC. An analysis of the p63/alpha-methylacyl coenzyme A racemase immunohistochemical cocktail stain in prostate needle biopsy specimens and tissue microarrays. *Am J Clin Pathol.* 2004;121(2):220-5.
221. Kahane H, Sharp JW, Shuman GB, Dasilva G, Epstein JI. Utilization of high molecular weight cytokeratin on prostate needle biopsies in an independent laboratory. *Urology.* 1995;45(6):981
222. Oliai BR, Kahane H, Epstein JI. Can basal cells be seen in adenocarcinoma of the prostate?: an immunohistochemical study using high molecular weight cytokeratin (clone 34betaE12) antibody. *Am J Surg Pathol.* 2002;26(9):1151-60.
223. Novis DA, Zarbo RJ, Valenstein PA. Diagnostic uncertainty expressed in prostate needle biopsies. A College of American Pathologists Q-probes Study of 15,753 prostate needle biopsies in 332 institutions. *Arch Pathol Lab Med.* 1999;123(8):687-92.
224. Humphrey PA. Diagnosis of adenocarcinoma in prostate needle biopsy tissue. *J Clin Pathol.* 2007;60(1):35-42.
225. Signoretti S, Waltregny D, Dilks J, Isaac B, Lin D, Garraway L, i sur. p63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. *Am J Pathol.* 2000;157(6):1769-75.
226. Grisanzio C, Signoretti S. p63 in prostate biology and pathology. *J Cell Biochem.* 2008;103(5):1354-68.
227. Zhou M, Shah R, Shen R, Rubin MA. Basal cell cocktail (34betaE12+p63) improves the detection of prostate basal cells. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(3):365-71.
228. Amin MB, Schultz DS, Zarbo RJ. Analysis of cribriform morphology in prostatic neoplasia using antibody to high-molecular-weight cytokeratins. *Arch Pathol Lab Med.* 1994;118(3):260-4.
229. Bostwick DG, Brawer MK. Prostatic intra-epithelial neoplasia and early invasion in prostatic cancer. *Cancer.* 1987;59(4):788-94.
230. Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, i sur. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin.* 2005;55(1):10-30.
231. Šamija M. Liječenje raka prostate. U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 137-40.
232. Oesterling JE, Suman VJ, Zincke H, Bostwick DG. PSA-detected (clinical stage T1c or B0) prostate cancer. *Urol Clin North Am* 1994;20(4):687-93.

233. Asbell SO, Martz KL, Pilepich MV, Baerwald HH, Sause WT, Doggett RL i sur. Impact of surgical staging in evaluating the radiotherapeutic outcome in RTOG phase III study for A2 and B prostate carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1989;17(5):945-51.
234. Orsola A, Morote J. Epidemiology of urinary incontinence in prostate cancer. Incidence, quality of life and farmacoeconomic features. *Arch Esp Urol*. 2009;62(10):786-92.
235. Becker AJ, Stief CG, Stadler TC. Erectile dysfunction after radical prostatectomy. *Aktuelle Urol*. 2009;40(5):289-93. doi: 10.1055/s-0029-1224586.
236. Young H. Radical perineal prostatectomy. *Johns Hopkins Hosp Bull*. 1905;16:315-21.
237. Schuessler WW, Schulam PG, Clayman RV, Kavoussi LR. Laparoscopic radical prostatectomy. *Urology*. 1997;50(6):854-7.
238. Guillonneau B. What robotics in urology? A current point of view. *Eur Urol*. 2003;43(2):103-5.
239. Epstein JI, Pizov G, Walsh PC. Correlation of pathological findings with progression after radical retropubic prostatectomy. *Cancer*. 1993;71(11):3589-93.
240. Stamey TA, McNeal JE, Yemoto CM, Sigal BM, Johnstone IM . Biological determinants of cancer progression in men with prostate cancer. *JAMA* 1999;281(15):1395-400.
241. Pound CR, Partin AW, Eisenberger MA, Chan DW, Pearson JD, Walsh PC. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy. *JAMA*. 1999;281(17):1591-7.
242. Pilepich MV, Krall JM, al-Sarraf M, John MJ, Doggett RL Sause WT, i sur. Androgen deprivation with radiation therapy compared with radiation therapy alone for locally advanced prostatic carcinoma: A randomized comparative trial of the Radiation Therapy Oncology Group. *Urology*. 1995;45(4):616-23.
243. Fowler JE, Braswell NT, Pandey P, Seaver L. Experience with radical prostatectomy and radiation therapy for localized prostate cancer at a Veterans Affairs Medical Center. *J Urol*. 1995;153(3 Pt 2):1026-31.
244. Critz FA, Williams WH, Levinson AK, Benton JB, Holladay CT, Schnell FJ Jr. Simultaneous irradiation for prostate cancer: intermediate results with modern techniques. *J Urol*. 2000;164(3 Pt 1):738-41.
245. Perez CA. Prostate. U: Perez CA, Brady LW, ur. Principles and practice of radiation oncology. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998. str. 1583-694.
246. Eisenberger MA, Walsh PC. Early androgen deprivation for prostatic cancer? *N Engl J Med*. 1999;341(24):1837-8.

247. Fellows GJ, Clark PB, Beynon LL, Boreham J, Keen C, Parkinson MC, i sur. Treatment of advanced localised prostatic cancer by orchiectomy, radiotherapy, or combined treatment. A Medical Research Council Study. Urological Cancer Working Party Subgroup on Prostatic Cancer. *Br J Urol*. 1992;70(3):304-9.
248. Laufer M, Pound CR, Carducci MA, Eisenberger MA. Management of patients with rising prostate-specific antigen after radical prostatectomy. *Urology*. 2000;55(3):309-15.
249. Labrie F. Hormonal therapy of prostate cancer. *Progr Brain Res*. 2010;182:321-41. doi: 10.1016/S0079-6123(10)82014-X.
250. Labrie F. Blockade of testicular and adrenal androgens in prostate cancer treatment. *Nat Rev Urol*. 2011;8(2):73-85. doi: 10.1038/nrurol.2010.231.
251. Kraus PA, Lytton B, Weis RM, Prosnitz LR. Radiation therapy for local palliative treatment of prostatic cancer. *J Urol* 1972;108(4):612-4.
252. Tannock IF, Gospodarowitz M, Meakin W, Panzarella T, Stewart L, Rider W. Treatment of metastatic prostate cancer with low-dose prednisone: evaluation of pain and quality of life as pragmatic indices of response. *J Clin Oncol*. 1989;7(5):590-7.
253. Oh WK, Kantoff PW. Management of hormone refractory prostate cancer: current standards and future prospects. *J Urol*. 1998;160(4):1220-9.
254. Shelley M, Harrison C, Coles B, Staffurth J, Wilt TJ, Mason MD. Chemotherapy for hormone-refractory prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;(4):CD005247.
255. de Wit R. Shifting paradigms in prostate cancer; docetaxel plus low-dose prednisone – finally an effective chemotherapy. *Eur J Cancer*. 2005;41(4):502-7.
256. Lee MV, Fong EM, Singer FR, Guenette RS. Bisphosphonate treatment inhibits the growth of prostate cancer cells. *Cancer Res*. 2001;61(6):2602-8.
257. Nelson JB, Hedican SP, George DJ, Reddi AH, Piantadosi S, Eisenberger MA, i sur. Identification of endothelin-1 in the pathophysiology of metastatic adenocarcinoma of the prostate. *Nat Med*. 1995;1(9):944-9.
258. Brown JE, Neville-Webbe H, Coleman RE. The role of bisphosphonates in breast and prostate cancers. *Endocr Relat Cancer*. 2004;11(2):207-24.
259. Gilja I. Ostali kirurški postupci. U: Šamija M, i sur. Rak prostate – najvarijabilniji zloćudni tumor. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. str. 154-8.
260. Chang SM, Chung LW. Interaction between prostatic fibroblast and epithelial cells in culture: role of androgen. *Endocrinology*. 1989;125(5):2719-27. doi: 10.1210/endo-125-5-2719.

261. Steiner MS. Review of peptide growth factors in benign prostatic hyperplasia and urogenital malignancy. *J Urol.* 1995;153(4):1085-96.
262. Yan G, Fukabori Y, Nikolaropoulos S, Wang F, McKeegan WL. Heparin-binding keratinocyte growth factor is a candidate stromal-to-epithelial-cell andromedin. *Mol Endocrinol.* 1992;6(12):2123-8.
263. Cohen P, Peehl DM, Lamson G, Rosenfeld R. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73(2):401-7.
264. Boudon C, Rodier G, Lechevallier E, Mottet N, Barenton B, Sultan C. Secretion of insulin-like growth factors and their binding proteins by human normal and hyperplastic prostatic cells in primary culture. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(2):612-7.
265. Montie JE, Pienta KJ. Review of the role of androgenic hormones in the epidemiology of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Urology.* 1994;43(6):892-9.
266. Brendler CB, Follansbee AL, Isaacs JT. Discrimination between normal, hyperplastic and malignant human prostatic tissues by enzymatic profiles. *J Urol.* 1985;133(3):495-501.
267. Hayes RB, de Jong FH, Raatgever J, Bogdanovicz J, Schroeder FH, van der Maas P, i sur. Physical characteristics and factors related to sexual development and behaviour and the risk for prostatic cancer. *Eur J Cancer Prev.* 1992;1(3):239-46.
268. Wang YZ, Hayward SW, Cao M, Young P, Cardiff R, Cunha GR. Role of estrogen signaling in prostatic hormonal carcinogenesis. *J Urol.* 2001;165:1320.
269. Wang Y, Sudilovsky D, Zhang B, Haughney PC, Rosen MA, Wu DS, i sur. A human prostatic epithelial model of hormonal carcinogenesis. *Cancer Res.* 2001;61(16):6064-72.
270. Grossmann ME, Huang H, Tindall DJ. Androgen receptor signaling in androgen-refractory prostate cancer. *J Nat Cancer Inst.* 2001;93(22):1687-97.
271. Puente Vazquez J, Grande Pulido E, Anton Aparicio LM. Cytokine and endocrine signaling in prostate cancer. *Med Oncol.* 2012;29(3):1956-63. doi: 10.1007/s12032-011-0036-4.
272. Talpin ME, Bublely GJ, Shuster TD, Frantz ME, Spooner AE, Ogata GK, i sur. Mutation of the androgen-receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer. *N Engl J Med.* 1995;332(21):1393-98. doi: 10.1056/NEJM199505253322101.
273. Gaddipati JP, McLeod DG, Heidenberg HB, Sesterhenn IA, Finger MJ, Moul JW, i sur. Frequent detection of codon 877 mutation in the androgen receptor gene in advanced prostate cancers. *Cancer Res.* 1994;54(11):2861-4.

274. Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P, Tanner M, Keinänen R, Palmberg C, i sur. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat Genet.* 1995;9(4):401-6. doi: 10.1038/ng0495-401.
275. Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, Radmayr C, Trapman J, Hittmair A, i sur. Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-1, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor. *Cancer Res.* 1994;54(20):5474-8.
276. Craft N, Shostak Y, Carey M, Sawyers CL. A mechanism for hormone-independent prostate cancer through modulation of androgen receptor signaling by the HER-2/neu tyrosine kinase. *Nat Med.* 1999;5(3):280-5. doi: 10.1038/6495.
277. Chen T, Wang LH, Farrar WL. Interleukin 6 activates androgen receptor-mediated gene expression through a signal transducer and activator of transcription 3-dependent pathway in LNCaP prostate cancer cells. *Cancer Res.* 2000;60(8):2132-5.
278. Hobisch A, Eder IE, Putz T, Horninger W, Bartsch G, Klocker H, i sur. Interleukin-6 regulates prostate-specific protein expression in prostate carcinoma cells by activation of the androgen receptor. *Cancer Res.* 1998;58(20):4640-5.
279. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, Larosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, i sur. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med.* 2001;344(10):699-709. ustvari referenca 271.
280. Chiu JJ, Sgagias MK, Cowan KH. Interleukin 6 acts as a paracrine growth factor in human mammary carcinoma cell lines. *Clin Cancer Res.* 1996;2:215(1)-21.
281. Tamm I, Cardinale I, Krueger J, Murphy JS, May LT, Sehgal PB. Interleukin 6 decreases cell-cell association and increases motility of ductal breast carcinoma cells. *J Exp Med.* 1989;170(5):1649-69.
282. Belizario JE, Dinarello CA. Interleukin 1, interleukin 6, tumor necrosis factor, and transforming growth factor  $\beta$  increase cell resistance to tumor necrosis factor cytotoxicity by growth arrest in the G<sub>1</sub> phase of the cell cycle. *Cancer Res.* 1991;51(9):2379-85.
283. Tamm I, Cardinale I, Murphy JS. Decreased adherence of interleukin 6-treated breast carcinoma cells can lead to separation from neighbors after mitosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991 May 15;88(10):4414-8.
284. Scheller J, Rose-John S. Interleukin-6 and its receptor: from bench to bedside. *Med Microbiol Immunol.* 2006;195(4):173-83.

285. Zhang Y, Lin JX, Vilcek J. Synthesis of interleukin 6 (interferon-beta 2/B cell stimulatory factor 2) in human fibroblasts is triggered by an increase in intracellular cyclic AMP. *J Biol Chem.* 1988;263(13):6177-82.
286. Bowcock AM, Kidd JR, Lathrop M, Danshvar L, May LT, Ray A, i sur. The human “interferon- beta2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6“ gene: DNA polymorphism studies and localization to chromosome 7p21. *Genomics.* 1988;3(1):8-16.
287. Sehgal PB, Zilberstein A, Ruggieri RM, May LT, Ferguson-Smith A, Slate DL, i sur. Human chromosome 7 carries the  $\beta$  2-interferon gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(14):5219-22.
288. Yasukawa K, Hirano T, Watanabe Y, Muratani K, Matsuda T, Nakai S i sur. Structure and expression of human B cell stimulatory factor-2 (BSF-2/IL-6) gene. *EMBO J.* 1987;6(10):2939-45.
289. Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood* 1995;86(4):1243-54.
290. Lotz M, Jirik F, Kabouridis R, Tsoukas C, Hirano T, Kishimoto T, i sur. BSF-2/IL-6 is costimulant for human thymocytes and T lymphocytes. *J Exp Med.* 1988;167(3):1253-58.
291. Nicola NA, Metcalf D, Matsumoto M, Johnson GR. Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells. Identification as granulocyte colony-stimulating factor. *J Biol Chem.* 1983;258(14):9017-23.
292. Ishibashi T, Kimura H, Uchida T, Kariyone S, Friese P, Burstein SA. Human interleukin 6 is a direct promoter of maturation of megakaryocytes in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;86(15):5953-57.
293. Tamura T, Udagawa N, Takahashi N, Miyaura C, Tanaka S, Yamada Y, i sur. Soluble interleukin-6 receptor triggers osteoclast formation by interleukin 6. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(24):11924-8.
294. Garman RD, Jacobs KA, Clark SC, Raulet DH. B cell-stimulatory factor 2 ( $\beta$ 2 interferon) functions as a second signal for interleukin 2 production by mature murine T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(21):7629-33.
295. Ikebuchi K, Wong GG, Clark SC, Ihle JN, Hirai Y, Ogawa M. Interleukin-6 enhancement of interleukin-3-dependent proliferation of multipotential hemopoietic progenitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(24):9035-9.
296. Eder K, Baffy N, Falus A, Fulop AK. The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. *Inflamm Res.* 2009;58(11):727-36. doi: 10.1007/s00011-009-0060-4.



297. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008;88(4):1379-406. doi: 10.1152/physrev.90100.2007.
298. Howren MB, Lamkin DM, Suls J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. *Psychosom Med.* 2009;71(2):171-86. doi: 10.1097/PSY.0b013e3181907c1b.
299. Chen-Kinag S, Hsu W, Natkunam Y, Zhang X. Nuclear signaling by interleukin-6. *Curr Opin Immunol.* 1993;5(1):124-8.
300. Ihle JM, Kerr IM. Jaks and Stats in signaling by the cytokine receptor superfamily. *Trends Genet.* 1995;11(2):69-74.
301. Rose-John S, Scheller J, Elson G, Jones SA. Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *J Leukoc Biol.* 2006;80(2):227-36.
302. Briso EM, Dienz O, Rincon M. Cutting edge: soluble IL-6R is produced by IL-6R ectodomain shedding in activated CD4 T cells. *J Immunol.* 2008;180(11):7102-6.
303. Chalaris A, Rabe B, Paliga K, Lange H, Laskay T, Fielding CA, et al. Apoptosis is a natural stimulus of IL6R shedding and contributes to the proinflammatory trans-signaling function of neutrophils. *Blood.* 2007 Sep 15;110(6):1748-55.
304. Ara T, DeClerck YA. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. *Eur J Cancer.* 2010;46(7):1223-31.
305. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J.* 2003;374(Pt 1):1-20.
306. Hu L, Shi Y, Hsu JH, Gera J, Van Ness BV, Lichtenstein A. Downstream effectors of oncogenic ras in multiple myeloma cells. *Blood.* 2003;101(8):3126-35.
307. Jee SH, Chu CY, Chiu HC, Huang YL, Tsai WL, Liao YH, et al. Interleukin-6 induced basic fibroblast growth factor-dependent angiogenesis in basal cell carcinoma cell line via JAK/STAT3 and PI3-kinase/Akt pathways. *J Invest Dermatol.* 2004;123(6):1169-75.
308. Yamamoto T, Matsuda T, Muraguchi A, Miyazono K, Kawabata M. Cross-talk between IL-6 and TGF-beta signaling in hepatoma cells. *FEBS Lett.* 2001;492(3):247-53.
309. Liu XH, Kirschenbaum A, Yao S, Levine AC. Cross-talk between the interleukin-6 and prostaglandin E(2) signaling systems results in enhancement of osteoclastogenesis through effects on the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK) ligand/RANK system. *Endocrinology.* 2005;146(4):1991-8.

310. Ara T, Song L, Shimada H, Keshelava N, Russell HV, Metelitsa LS, *i sur.* Interleukin-6 in the bone marrow microenvironment promotes the growth and survival of neuroblastoma cells. *Cancer Res.* 2009;69(1):329-37. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0613.
311. Hall CL, Keller ET. The role of Wnts in bone metastases. *Cancer Metastasis Rev.* 2006;25(4):551-8.
312. Legendre F, Dudhia J, Pujol JP, Bogdanowicz P. JAK/STAT but not ERK1/ERK2 pathway mediates interleukin (IL)-6/soluble IL-6R down-regulation of Type II collagen, aggrecan core, and link protein transcription in articular chondrocytes. Association with a down-regulation of SOX9 expression. *J Biol Chem.* 2003;278(5):2903-12.
313. Xie TX, Huang FJ, Aldape KD, Kang SH, Liu M, Gershenwald JE, *i sur.* Activation of stat3 in human melanoma promotes brain metastasis. *Cancer Res.* 2006;66(6):3188-96.
314. Kim MY, Oskarsson T, Acharyya S, Nguyen DX, Zhang XH, Norton L, *i sur.* J. Tumor self-seeding by circulating cancer cells. *Cell.* 2009;139(7):1226-28. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.025.
315. Gunn WG, Conley A, Deininger L, Olson SD, Prockop DJ, Gregory CA. A crosstalk between myeloma cells and marrow stromal cells stimulates production of DKK1 and interleukin-6: a potential role in the development of lytic bone disease and tumor progression in multiple myeloma. *Stem Cells.* 2006;24(4):986-91.
316. Gritsko T, Williams A, Turkson J, Kaneko S, Bowman T, Huang M, *i sur.* Persistent activation of stat3 signaling induces survivin gene expression and confers resistance to apoptosis in human breast cancer cells. *Clin Cancer Res.* 2006;12(1):11-9.
317. Shain KH, Yarde DN, Meads MB, Huang M, Jove R, Hazlehurst LA, *i sur.* Beta1 integrin adhesion enhances IL-6-mediated STAT3 signaling in myeloma cells: implications for microenvironment influence on tumor survival and proliferation. *Cancer Res.* 2009;69(3):1009-15. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2419.
318. Barré B, Vigneron A, Perkins N, Roninson IB, Gamelin E, Coqueret O. The STAT3 oncogene as a predictive marker of drug resistance. *Trends Mol Med.* 2007;13(1):4-11.
319. Neuwirt H, Pühr M, Cavarretta IT, Mitterberger M, Hobisch A, Culig Z. Suppressor of cytokine signalling-3 is up-regulated by androgen in prostate cancer cell lines and inhibits androgen-mediated proliferation and secretion. *Endocr Relat Cancer.* 2007;14(4):1007-19.
320. Yoshimura A, Ohkubo T, Kiguchi T, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, *i sur.* A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH2-containing protein that binds to

- tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors. *EMBO J.* 1995;14(12):2816-26.
321. Hilton DJ, Richardson RT, Alexander WS, Viney EM, Willson TA, Sprigg NS, i sur. Twenty proteins containing a C-terminal SOCS box form five structural classes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95(1):114-9.
322. Tan JC, Rabkin R. Suppressors of cytokine signalling in health and disease. *Pediatr Nephrol.* 2005;20(5):567-75.
323. Larsen L, Röpke C. Suppressors of cytokine signalling: SOCS. *APMIS.* 2002;110(12):833-44.
324. Bellezza I, Neuwirt H, Nemes C, Cavarretta IT, Pühr M, Steiner H, i sur. Suppressor of cytokine signaling-3 antagonizes cAMP effects on proliferation and apoptosis and is expressed in human prostate cancer. *Am J Pathol.* 2006;169(6):2199-208.
325. Klein LT, Lowe FC. The effects of prostatic manipulation on prostate-specific antigen levels. *Urol Clin North Am.* 1997;24(2):293-7.
326. Roddam AW, Duffy MJ, Hamdy FC, Ward AM, Patnick J, Price CP, i sur. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA Level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis. *Eur Urol.* 2005;48(3):386-99.
327. Chung TD, Yu JJ, Spiotto MT, Bartkowski M, Simons JW. Characterization of the role of IL-6 in the progression of the prostate cancer. *Prostate.* 1999;38(3):199-207.
328. Smith PC, Hobisch A, Lin DL, Culig Z, Keller ET. Interleukin-6 and prostate cancer progression. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001;12(1):33-40.
329. George DJ, Halabi S, Shepard TF, Sanford B, Vogelzang NJ, Small EJ, i sur. The prognostic significance of plasma interleukin-6 levels in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer: results from cancer and leukemia group B 9480. *Clin Cancer Res.* 2005;11(5):1815-20. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1560.
330. Epstein JI. An update of the Gleason grading system. *J Urol.* 2010;183(2):433-40. doi: 10.1016/j.juro.2009.10.046.
331. Alcover J, Filella X, Luqué P, Molina R, Izquierdo L, Augé JM, i sur. Prognostic value of IL-6 in localized prostatic cancer. *Anticancer Res.* 2010;30(10):4369-72.
332. Shariat SF, Kattan MW, Traxel E, Andrews B, Zhu K, Wheeler TM, i sur. Association of pre- and postoperative plasma levels of transforming growth factor beta(1) and interleukin 6 and its soluble receptor with prostate cancer progression. *Clin Cancer Res.* 2004;10(6):1992-9.

333. Shariat SF, Chromecki TF, Hoefler J, Barbieri CE, Scherr DS, Karakiewicz PI, i sur. Soluble gp130 regulates prostate cancer invasion and progression in an interleukin-6 dependent and independent manner. *J Urol.* 2011;186(5):2107-14. doi:10.1016/j.juro.2011.06.048.
334. Michalaki V, Syrigos K, Charles P, Waxman J. Serum levels of IL-6 and TNF-alpha correlate with clinicopathological features and patient survival in patients with prostate cancer. *Br J Cancer.* 2004;90(12):2312-6.
335. Nakashima J, Tachibana M, Horiguchi Y, Oya M, Ohigashi T, Asakura H, i sur. Serum interleukin 6 as a prognostic factor in patients with prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2000;6(7):2702-6.
336. Halabi S, Wun CC, Davis BR. Analysis of survival data with missing measurements of a time-dependent binary covariate. *J Biopharm Stat.* 2003;13(2):253-70.
337. Drachenberg DE, Elgamal AAA, Rowbotham R, Peterson M, Murphy GP. Circulating levels of interleukin-6 in patients with hormone refractory prostate cancer. *The Prostate.* 1999;41(2):127-33.
338. Tawara K, Oxford JT, Jorcyk CL. Clinical significance of interleukin (IL)-6 in cancer metastasis to bone: potential of anti-IL-6 therapies. *Cancer Manag Res.* 2011;3:177-89. doi:10.2147/CMR.S18101.
339. Tumminello FL, Badalamenti G, Incorvaia L, Fulfaro F, D'Amico C, Leto G. Serum interleukin-6 in patients with metastatic bone disease: correlation with cystatin C. *Med Oncol.* 2009;26(1):10-5. doi:10.1007/s12032-008-9070-2.
340. Terracciano D, Bruzzese D, Ferro M, Autorino R, Di Lorenzo G, Buonerba C, i sur. Soluble interleukin-6 receptor to interleukin-6 (sIL-6R/IL-6) ratio in serum as a predictor of high Gleason sum at radical prostatectomy. *Oncol Lett.* 2011;2:861-4. doi:10.3892/ol.2011.337.
341. Culig Z, Pühr M. Interleukin-6: A multifunctional targetable cytokine in human prostate cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;360(1-2):52-8. doi:10.1016/j.mce.2011.05.033.
342. Giri D, Ozen M, Ittmann M. Interleukin-6 is an autocrine growth factor in human prostate cancer. *Am J Pathol.* 2001;159(6):2159-65.
343. Chung YC, Chaen YL, Hsu CP. Clinical significance of tissue expression of interleukin-6 in colorectal carcinoma. *Anticancer Res.* 2006;26(5B):3905-11.
344. Kinoshita T, Ito H, Miki C. Serum interleukin-6 level reflects the tumor proliferative activity in patients with colorectal cancer. *Cancer.* 1999;85(12):2526-31.

345. Huang SP, Wu MS, Shun CT, Wang HP, Lin MT, Kuo ML, i sur. Interleukin-6 increases vascular endothelial growth factor and angiogenesis in gastric carcinoma. *J Biomed Sci.* 2004;11(4):517-27.
346. Cardillo MR, Ippoliti F. IL-6, IL-10 and HSP-90 expression in tissue microarrays from human prostate cancer assessed by computer-assisted image analysis. *Anticancer Res.* 2006;26(5A):3409-16.
347. Hobisch A, Rogatsch H, Hittmair A, Fuchs D, Bartsch G Jr, Klocker H, i sur. Immunohistochemical localization of interleukin-6 and its receptor in benign, premalignant and malignant prostate tissue. *J Pathol.* 2000;191(3):239-44.
348. Basolo F, Fiore L, Fontanini G, Conaldi PG, Calvo S, Falcone V, i sur. Expression and response to interleukin-6 (IL-6) in human mammary tumors. *Cancer Res.* 1996;56(13):3118-22.
349. Basolo F, Fiore L, Pollina L, Fontanini G, Conaldi PG, Toniolo A. Reduced expression of interleukin 6 in undifferentiated thyroid carcinoma: in vitro and in vivo studies. *Clin Cancer Res.* 1998;4(2):381-7.
350. Gandour-Edwards R, Kapadia SB, Gumerlock PH, Barnes L. Immunolocalization of interleukin-6 in salivary gland tumors. *Hum Pathol.* 1995;26(5):501-3.

## 11. ŽIVOTOPIS

### OSOBNI PODACI

Ime i prezime **Nevenka Miličević**  
Elektronička pošta [nenos@msn.com](mailto:nenos@msn.com)  
Državljanstvo Hrvatsko  
Datum rođenja 05.01.1964.

### RADNO ISKUSTVO

Datumi 1998. →  
Ustanova zaposlenja Klinički bolnički centar Osijek  
Naziv radnog mjesta Specijalist anesteziologije i reanimatologije  
Funkcija dr. med. specijalist anesteziolog  
Područje rada Vođenje anestezioloških postupaka u operacijskoj sali i reanimacija pacijenata

Datumi 2012. →  
Ustanova zaposlenja Klinički bolnički centar Osijek  
Naziv radnog mjesta Specijalist anesteziologije i reanimatologije  
Funkcija dr. med. specijalist anesteziolog  
Područje rada Vođenje anestezioloških postupaka u operacijskoj sali u timu za transplantaciju bubrega pri Klinici za urologiju

Datumi 1992.-1998.  
Ustanova zaposlenja Klinička bolnica Osijek  
Naziv radnog mjesta Specijalizant na Odjelu za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje  
Funkcija dr. med. specijalizant anesteziologije  
Područje rada Vođenje anestezioloških postupaka u operacijskoj sali i reanimacija pacijenata

Datumi 1989.-1991.  
Ustanova zaposlenja Dom zdravlja Osijek  
Naziv radnog mjesta Liječnik opće prakse  
Funkcija dr. med.  
Područje rada Primarna zdravstvena zaštita

### ŠKOLOVANJE

Godina 2011.-2013.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Medicinski fakultet Osijek  
Područje Poslijediplomski doktorski studij – Biomedicina i zdravstvo

Datum 1992.-1998.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Klinički bolnički centar Osijek, J. Huttlera 4, 31000 Osijek  
Zvanje dr. med. specijalizant anesteziologije i reanimatologije

Datum 1982.-1988.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Studij medicine u Osijeku  
Zvanje dr. med.

#### **USAVRŠAVANJE**

Godina 2014.  
Mjesto Stockholm, Švedska  
Ustanova European Society of Anaesthesiology, Brussels, Belgium  
Područje Euroanaesthesia 2014

Godina 2013.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Klinički bolnički centar Osijek  
Područje 10. Osječki urološki dani, 3. Osječki nefrološki dani

Godina 2013.  
Mjesto Zagreb  
Ustanova Medicinski fakultet Zagreb  
Područje Committee for the European Education in Anaesthesiology (CEEA) Course 2: Cardiovascular

Godina 2013.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Medicinski Fakultet u Osijeku  
Područje Tečaj trajne izobrazbe I. kategorije - Suvremeni pristup ranom liječenju politraumatiziranog bolesnika

Godina 2012.  
Mjesto Zagreb  
Ustanova Medicinski fakultet Zagreb  
Područje Committee for the European Education in Anaesthesiology (CEEA) Course 1: Respiratory and Thorax

Godina 2012.  
Mjesto Zagreb  
Ustanova Klinički bolnica Sestre Milosrdnice  
Područje 1st Croatian Congress of Airway Management with

## International Participation

- Godina 2012.  
Mjesto Zagreb  
Ustanova Klinička bolnica „Sveti Duh“  
Područje Poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja – Anestezija i intenzivno liječenje trudnica
- Godina 2011.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Klinički bolnički centar Osijek  
Područje Tečaj I. kategorije P.A.I.N. Primijenimo Analgeziju na Ispravan Način
- Godina 2011.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Klinički bolnički centar Osijek  
Područje 9. Osječki urološki dani, 2. Osječki nefrološki dani
- Godina 2011.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Medicinski fakultet Osijek  
Područje Poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja – Suvremeni pristup u dijagnostici i liječenju tumora dojke
- Godina 2009.  
Mjesto Beograd  
Ustanova Zavod za hiperbaričnu medicinu, referentni centar EUBS-a i nastavno naučna baza Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu  
Područje Rad u barokomori za hiperbaričnu oksigenaciju
- Godina 2009.  
Mjesto Split  
Ustanova Hrvatsko društvo za pomorsku, podvodnu i hiperbaričnu medicinu  
Područje Poslijediplomski tečaj – Medicina ronjenja
- Godina 2000.  
Mjesto Osijek  
Ustanova Klinički bolnički centar Osijek  
Područje Poslijediplomski tečaj – Liječenje akutne i kronične boli
- Godina 1998.  
Mjesto Zagreb  
Ustanova Medicinski fakultet Zagreb



**DODATNI PODACI PREDAVAČ NA KONGRESIMA I SIMPOZIJIMA**

- 1) VI. Hrvatski kongres anesteziologije i intenzivne medicine s međunarodnim učešćem, Opatija 2014.  
**Miličević N**, Blažičević A, Gulam D, Kristek G. *Provjera primjenjivosti Apfel scorea za predviđanje postoperativne mučnine i povraćanja (PONV) kod bolesnika s postoperativnom analgezijom morfijem putem PCA pumpe*
- 2) 3. Hrvatski kongres iz liječenja boli s međunarodnim sudjelovanjem, Osijek, 2014.  
**Miličević N**, Barkić J, Jurić I, Gulam D, Kvolik S, Tot O, Drenjančević I, Jelečević M, Černohorski H. *Prediktori intenziteta postoperativne akutne boli i potrošnje morfija*
- 3) XXXVI. hrvatski simpozij intenzivne medicine s međunarodnim učešćem, Zagreb, 2012.  
**Miličević N**, Kvolik S, Gulam D, Došen G. *Teška postpartalna hemoragija –anesteziološki pristup*
- 4) Drugi hrvatski kongres iz liječenja boli s međunarodnim sudjelovanjem, Osijek, 2010.  
**Miličević N**, Radoš I, Fingler M. *Hyperbaric oxygen therapy for migraine and cluster headaches*
- 5) Hrvatski kongres endoskopske kirurgije s međunarodnim sudjelovanjem, Osijek, 2008.  
**Miličević N**, Kvolik S, Ivić D. *Poslijeoperacijska mučnina i povraćanje nakon laparoskopske kolecistektomije*

**OBJAVLJENI RADOVI**

- 1) Kvolik S, **Miličević N**, Müller A, Lovrić A, Kondža G. *An anaesthetic management of severe postpartum haemorrhage in 39 years old parturient subjected to repeated laparotomies, a case report.* Eur J Anaesthesiol. 2014;31(S52):102.
- 2) **Miličević N**, Mrčela M, Lukić I, Mandić S, Horvat V, Galić J. *Comparison Between Clinical Significance of Serum Proinflammatory Protein Interleukin-6 and Classic Tumor Markers Total PSA, Free PSA and Free/Total PSA Prior to Prostate Biopsy.* Coll Antropol. 2014;1(38):147-50.
- 3) Horvat V, Sudarević B, Čosić I, **Miličević N**, Bošnjak S, Mandić S, i sur. *Lack of Association between TNF- $\alpha$*

*Promoter Polymorphism and Prostate Carcinoma Susceptibility in Eastern Croatian Population. Coll Antropol. 2013;4(37):1199-202.*

- 4) Mandić S, Sudarević B, Marczy S, Horvat V, Čosić I, Mihaljević S, **Miličević N**, i sur. *Interleukin-6 Polymorphism and Prostate Cancer Risk in Population of Eastern Croatia. Coll Antropol. 2013;3(37):907-11.*
- 5) Kristić M, **Miličević N**, Kristek J, Krajinović Z, Pinotić K, Vizjak V, i sur. *Intraoperative BP Oscillations and 24-Hour Dipping Status in Surgical Patients. Kidney Blood Press. 2010;33:413-41.*

#### **SUDJELOVANJE U PROJEKTU**

„Imunološki čimbenici razvoja i progresije karcinoma prostate“ pri Klinici za urologiju Kliničkog bolničkog centra Osijek

#### **STRUČNI INTERESI**

Hiperbarična oksigenacija, anesteziologija i urologija

#### **ČLANSTVA**

Hrvatski liječnički zbor

Hrvatska liječnička komora

Hrvatsko društvo za regionalnu anesteziju i analgeziju (HDRAA)

Hrvatsko društvo za anesteziologiju i intenzivno liječenje (HDAIL)

#### **SUDJELOVANJE U DOMOVINSKOM RATU**

u sklopu medicinske ekipe u razdoblju 08. 05. 1994.- 10. 03. 1995.