

INTRODUCERE

În ciuda progreselor făcute în medicina modernă, cancerul de prostată (CP) rămâne o problemă majoră de sănătate publică ce afectează populația masculină, cu o prevalență în continuă creștere. Mai mult, CP este una din neoplaziile cele mai frecvent întâlnite în populația de sex masculin și totodată o cauză importantă de deces prin cancer la bărbați [1].

Screening-ul populațional bazat pe testarea serică a antigenului specific prostatic (PSA) dar și utilizarea pe scară largă a biopsiei de prostată au dus la o scădere semnificativă a cazurilor metastatice în momentul diagnosticului dar și la o creștere a incidenței CP în stadii precoc [2]. În ciuda acestui trend crescător de depistare a cazurilor de CP aflate în stadii localizate, și a faptului că, screening-ul pe scară largă a CP a devenit controversat astăzi în lumea urologică, aproximativ 25-30% dintre pacienți sunt nou diagnosticați cu CP localizat cu risc crescut (CPRC) pe baza unor criterii clinice (tușeul rectal) sau paraclinice (nivelul seric de PSA sau scorul Gleason) [3]. Acești pacienți au un risc crescut de progresie tumorală în ciuda tratamentului inițial cu intenție curativă. Datorită acestui fapt, acești pacienți au nevoie de un alt tip de consiliere medicală față de cei cu risc scăzut, incluzând discuții despre rezultatele oncologice, funcționale și nevoia unor terapii secundare.

În prezent, nu există mijloace suficiente pentru a putea caracteriza comportamentul agresiv al CP. Prin urmare, nu există un consens unanim acceptat asupra definiției exacte a grupului de pacienți cu CPRC, a metodelor de diagnostic precise sau a managementului terapeutic optim pentru acești bolnavi.

Biomarkerii tumoralii au un rol important în diagnosticul, prognosticul și managementul bolilor neoplazice. Astfel, eforturile cercetătorilor sunt concentrate spre detectarea neinvazivă de biomarkeri tumoralii din probe biologice folosind diverse tehnologii moderne pentru a ajuta medicii în deciziile clinice dificile. În opinia noastră, dezvoltarea de noi biomarkeri de diagnostic, prognostic și monitorizare a tratamentului CP, precum și o strategie de tratament personalizată sunt imperios necesare și extrem de importante pentru un management adecvat al CP.

Factorii care determină riscul de a dezvolta CP nu sunt bine cunoscuți, deși vârsta și factorii genetici au un impact important asupra riscului și progresiei bolii clinice. Factorii actuali de prognostic pentru pacienții nou diagnosticați cu CP folosiți în practica clinică

curentă sunt nivelul seric al PSA-ului preoperator, gradul histologic Gleason și/sau stadiul clinic al tumorii apreciat prin tușeu rectal (TR). În plus, o serie de biomarkeri au fost studiați extensiv și ar putea fi folosiți pentru a identifica pacienții cu boală agresivă [4].

În timp ce există controverse legate de intenția de tratament a cazurilor de CP localizat cu risc scăzut, pacienții cu CPRC vor trebui tratați cât mai repede și vor beneficia de tratament mai ales dacă vârsta și starea de sănătate le permite acest lucru. Cu toate acestea, managementul optim al CPRC este complicat de comportamentul clinic heterogen al bolii ce poate îmbracă forme indolente dar și forme letale de boală. Altfel spus, cu toate că unii din acești pacienți au caracteristici clinico-biologice de boală agresivă nu vor deceda prin CP. Studiile recente arată o rată de succes de până la 80% depinzând de modalitatea de definire a acestui lot de pacienți și de tratamentul efectuat. Mai mult, chiar dacă tratamentul inițial nu va reuși să aducă vindecarea pacientului, decesul prin CP nu este iminent, de cele mai multe ori existând un interval de ani sau zeci de ani de la diagnostic și până la deces [5]. La polul opus, sunt însă pacienți care au o evoluție agresivă indiferent de tratamentul inițial sau terapiile complementare efectuate.

În prezent mai multe opțiuni terapeutice sunt disponibile pentru pacienții cu CPRC, respectiv prostatectomia radicală (PR), radioterapia externă (RT) sau tratamentul hormonal. Chimioterapia neoadjuvantă și adjuvantă sunt investigate și ele în studii clinice în curs de desfășurare, într-un efort de a îmbunătăți controlul CPRC [6]. În plus, terapiile adjuvante, cum ar fi radioterapia adjuvantă sau terapia de deprivare de androgeni adjuvantă, sunt extrem de utile în practica clinică datorită imposibilității actuale de a identifica grupul de pacienți responsivi la tratamentul primar. Din păcate, nu există nici un studiu randomizat prospectiv care să arate superioritatea unei forme de tratament pentru acești pacienți. Prin urmare, nu există un tratament standardizat unanim acceptat pentru CPRC. În plus, acești pacienți trebuie să accepte complicațiile legate de tratamentul complex al bolii, dar și impactul negativ asupra calității vieții lor.

În mod tradițional, RT combinată cu hormonoterapia a fost considerată tratamentul de elecție pentru pacienții diagnosticați cu CPRC [7]. PR a fost descurajată la acest grup de pacienți datorită riscurilor legate de complicațiile intraoperatorii sau de controlul oncologic inadecvat al bolii. Însă, datorită progreselor aduse tehnicii operatorii dar și cercetărilor recente care demonstrează rolul benefic al intervenției chirurgicale în tratamentul primar al CPRC, PR este considerată o opțiune viabilă de tratament. PR nu numai că este considerată o opțiune viabilă de tratament pentru cazurile de CPRC dar, pentru un grup selecționat de pacienți poate avea rol curativ [8]. Un alt beneficiu major al intervenției chirurgicale este

capacitatea de a obține o stadializare anatomopatologică precisă, atât a cancerului primar cât și a ganglionilor limfatici regionali, care oferă clinicienilor posibilitatea de a utiliza terapia secundară rațional bazându-se pe date mai precise și individualizate comparativ cu utilizarea doar a PSA-ului preoperator, stadiului clinic tumoral, și a datelor histologice obținute prin biopsia prostatică [9].

Însă, în ciuda progreselor efectuate în tehnica chirurgicală sau selecția pacienților, până la 40% din acești pacienți evoluează către recădere biochimică, de cele mai multe ori rapidă postchirurgical și un prognostic ulterior nefavorabil marcat de progresie metastatică și chiar deces prin CP [10]. Astfel, o abordare de diagnostic și tratament personalizată pentru acești pacienți va avea un impact pozitiv asupra mortalității și morbidității cauzate de această boală.

În literatura de specialitate, recăderea biochimică este folosită ca marker surrogat de urmărire și apreciere a evoluției după PR sau RT. Detectarea unor nivele serice de PSA după tratamentul chirurgical cu intenție curativă precede de obicei progresia către evenimente cu relevanță clinică precum recidiva tumorală locală, boala metastatică sau decesul prin cancer. Cu toate acestea, un număr semnificativ de pacienți vor avea un nivel seric de PSA detectabil postoperator care poate însă să rămână în platou și să nu crească progresiv ulterior. Există și câteva ipoteze care pot explica acest fenomen. Numeroși cercetători au evaluat diferite definiții propuse pentru recăderea biochimică cu impact pentru deciziile clinice și practica clinică curentă. Astfel, prognosticul acestor pacienți după PR variază în literatura de specialitate în funcție de definiția folosită. Pentru a uniformiza definiția recăderii biochimice și a standardiza raportarea rezultatelor studiilor clinice, în 2007 Asociația Americană de Urologie (AUA) definește recăderea biochimică prin detectarea consecutivă de valori serice de PSA > 0.2 ng/ml post-prostatectomie radicală. Această definiție a fost adoptată și de Asociația Europeană de Urologie (EAU) un an mai târziu [11].

Numeroase instrumente de predicție (cum ar fi nomogramele) au fost concepute pentru a ajuta medicii în cazul deciziilor clinice dificile dar și pacienții să înțeleagă mai bine boala lor și să poată alege tratamentul propus în cunoștință de cauză. Au fost descrise numeroase modele predictive care încorporează parametrii pre- dar și postoperatorii și pot prezice cu acuratețe răspunsul la tratament sau rezultatele diverselor terapii [12]. De asemenea, din moment ce CP este unul dintre cele frecvente tipuri de cancer cu o componentă genetică importantă, fapt demonstrat prin creșterea riscului de a dezvolta CP în rândul rudelor de gradul întâi sau la bărbații cu două sau mai multe rude afectate, în

ultimii zece ani multe studii au încercat să prezică caracterul agresiv al cancerului de prostată, folosind expresia genică [13].

În 1989, Stamey a fost primul care a arătat că nivelul seric al PSA-ului la diagnostic se corelează cu extensia bolii dar și cu recăderea biochimică și rezultatele clinice după RT sau PR [14]. Câțiva ani mai târziu, Zagars a arătat impactul stadiului tumoral local cT, scorului Gleason biptic și PSA-ului în rezultatele pacienților tratați prin RT curativă [15]. Ghidul EAU a adoptat stratificarea pacienților cu CP pe baza criteriilor D'Amico [16]. Astfel, pacienții cu nivel seric al PSA-ului la diagnostic ≥ 20 ng/ml sau un scor Gleason raportat pe fragmentele de biopsie prostatică ≥ 8 sau stadiul clinic tumoral cT apreciat la examinarea digitală a prostatei ca tumoră prostatică ce afectează cel puțin ambii lobi prostatici, sunt considerați pacienți cu risc crescut de recădere biochimică, recidivă locală sau metastaze la distanță după tratamentul inițial cu intenție curativă. În opinia noastră, nici un model predictiv dezvoltat numai pe baza acestor parametri nu este perfect, toate fiind limitate pe următoarele considerente: PSA-ul nu este un marker cancer specific iar aprecierea stadiului tumoral din punct de vedere clinic, efectuarea biopsiei prostatice și interpretarea de către anatomopatolog a biopsiei prostatice cât și aprecierea scorului Gleason sunt subiective (dependente de examinator).

Conceptul acestei teze de doctorat este îmbunătățirea clasificării CP pe grupe de risc cu noi biomarkeri care să permită diferențierea între formele indolente și agresive de boală.

Obiectivul major al tezei de doctorat este de a găsi un grup de biomarkeri serici și tisulari pentru formele agresive de CP localizat cu valoare predictivă pentru aspectele patologice nefavorabile și apariția recăderii biochimice după PR la un grup de pacienți diagnosticat cu CPRC, astfel încât să poate fi stabilită o strategie rațională pentru deciziile terapeutice.

Mai multe considerente au stat la baza formulării acestui obiectiv:

- necesitatea investigării complexe a biomarkerilor cu valoare predictivă în vederea îmbunătățirii prognosticului pacienților tratați chirurgical și a creșterii calității vieții acestor pacienți;

- identificarea unor metode și tehnici de diagnostic și prognostic care vor putea fi folosite și în alte studii privind tratamentul CP;

- identificarea unui model predictiv pentru predicția aspectelor patologice nefavorabile la PR precum și a riscului de recidivă biochimică postoperator;

- îmbunătățirea cunoștințelor privind caracteristicile pacienților diagnosticați cu CPRC și tratați prin PR menite să ajute atât pacienții dar și medicii în înțelegerea patogeniei bolii și luarea unor decizii terapeutice.

Biomarkerii propuși pentru evaluarea agresivității CPRC sunt prezenți în sânge, în ADN-ul genomic și în țesutul tumoral recoltat după PR, după cum urmează: în sânge (PSA total, testosteron total (T), dihidrotestosteron (DHT), androstendion, dehidroepiandrosteron (DHEA) și dehidroepiandrosteron-sulfat (DHEA-S)), în ADN-ul genomic (mutații ale BRCA2, polimorfism genic KLK2-KLK3 (SNP rs2735839), SLCO2B1 (SNP rs12422149), SLCO1B3 (SNP rs4149117), HOXB13 (SNP rs138213197), 17p12 (SNP rs4054823), repetiții CAG în gena receptorului de androgeni), în țesutul tumoral (gena de fuziune TMPRSS2:ERG, polimorfismul genei CYP17 și a polimorfismului -158 A/G (SNP rs266882) al genei PSA).

Prin urmare, obiectivele specifice ale studiului sunt reprezentate de:

1. Descrierea și analiza caracteristicilor clinico-biologice ale populației studiate.
2. Analiza și identificarea parametrilor clinico-biologici asociați cu un prognostic patologic nefavorabil în populația studiată.
3. Analiza și identificarea de biomarkeri serici și tisulari asociați cu riscul de apariție a recăderii biochimice în CPRC tratat prin PR.

METODOLOGIA GENERALĂ A CERCETĂRII

Studiul efectuat în cadrul acestei teze de doctorat este un studiu prospectiv, longitudinal, non-intervențional. Colectarea și analiza complexă a datelor din acest studiu a fost posibilă datorită participării la proiectul de cercetare PN-II-PT-PCCA-2013-4-1851, acronim proiect PROMETEU.

Studiul a inclus 48 de pacienți nou diagnosticați cu CPRC clasificați pe baza criteriilor de prognostic D'Amico, pentru care a fost realizată intervenția chirurgicală, respectiv PR. Evaluarea inițială a pacienților a inclus anamneza detaliată, examenul fizic complet și investigațiile clinice și paraclinice necesare pentru stabilirea diagnosticului de CPRC conform ghidului EAU.

În vederea înrolării pacienților în studiu a fost elaborat protocolul de studiu și formularul de consimțământ informat al pacientului pentru participarea la un proiect de cercetare. O formă specială de consimțământ informat a fost elaborată pentru manipularea materialului genetic. Protocolul de studiu și formularul de consimțământ informat au

obținut avizul Consiliului de Etică al Institutului Clinic Fundeni. Criteriul major de includere în lotul de studiu îl constituie diagnosticul histopatologic de adenocarcinom prostatic efectuat de medicul patolog în urma examenului microscopic al fragmentelor tisulare recoltate prin puncție biopsie prostatică, și prezența caracteristicilor definitorii pentru riscul crescut conform criteriilor D'Amico, respectiv nivelul seric al PSA seric la diagnostic mai mare de sau egal cu 20 ng/ml sau scorul Gleason mai mare sau egal cu 8 sau stadiul clinic tumoral apreciat prin TR cel puțin cT2c.

Stadializarea preoperatorie a CP a inclus obligatoriu aprecierea clinică a stadiului tumoral local prin TR, determinarea serică a nivelului de PSA, și evaluarea paraclinică prin tehnici imagistice de rezonanță magnetică nucleară multiparametrică (mpRMN) pentru extensia tumorală locală, tomografia computerizată sau RMN de abdomen și pelvis pentru prezența adenopatiilor locoregionale sau a determinărilor sistemice, și respectiv scintigrafia osoasă pentru detectarea metastazelor osoase.

Au fost analizați următorii parametrii clinici și paraclinici, pre- și post-operatorii: vârsta, comorbiditățile pacientului apreciate conform Charlson Comorbidity Index (CCI), PSA total seric, scorul Gleason preoperator și postoperator, tipul histopatologic al tumorii, extensia extraprostatică, invazia veziculelor seminale, invazia perineurală, prezența marginilor pozitive sau adenopatiilor pozitive. În plus, au fost analizați hormonii serici din sânge (testosteronul liber, DHT, DHEA, DHEAS, androstendion); ADN-ul genomic pentru analiza de mutații ale BRCA2, polimorfism genic KLK2-KLK3 (SNP rs2735839), SLCO2B1 (SNP rs12422149), SLCO1B3 (SNP rs4149117), HOXB13 (SNP rs138213197), 17p12 (SNP rs4054823) și repetiții CAG în gena receptorului de androgeni, iar din probele patologice de rezecție prostatică au fost analizate fuziunea genică TMPRSS2:ERG și polimorfismul genei CYP17 și a polimorfismului -158 A/G (rs266882) al genei PSA.

În cadrul proiectului a fost dezvoltată o metodă multianalit de determinare cantitativă a 5 steroizi (testosteron, dihidrotestosteron, androstendiona, dehidroepiandrosteron, dehidroepiandrosteron sulfat) prin lichid-cromatografie cuplată cu spectrometria de masă în tandem (LC-MS/MS). Analizele s-au efectuat cu un sistem de micro-LC (pompa Eksigent model Micro-LC200 și autosampler CTC) cuplat la un spectrometru de masă de tip quadrupol-trapa ionică model 5500 Qtrap produs de Sciex.

De asemenea, probele de sânge colectate au fost folosite pentru extracția ADN-ului genomic. ADN-ul genomic a fost folosit în continuare pentru analiza deleției BRCA2 și polimorfismului genic al KLK2-KLK3 (SNP rs2735839), SLCO2B1 (SNP rs12422149),

SLCO1B3 (SNP rs4149117), HOXB13 (SNP rs138213197), 17p12 (SNP rs4054823), repetiții CAG în gena receptorului de androgeni.

Pentru identificarea repetițiilor CAG s-a realizat o reacție de amplificare a ADN-ului genomic cu următoarea combinație de primeri:

- F 5' GTGCGCGAAGTGATCCAGA 3'
- R 3' GTTTCCTCATCCAGGACCAGGTA 3'

Pentru detecția polimorfismelor SNP s-a utilizat metoda Real-Time PCR. Probele de ADN genomic au fost genotipate prin discriminare alelică folosind Taqman 5'-nuclease assay (ThermoFisher Scientific, USA) conform protocolului recomandat de producător. ADN genomic a fost cuantificat cu metoda fluorimetrică utilizând aparatul Qubit și kit-ul hsDNA Qubit assay.

Identificarea delețiilor/duplicațiilor genei *BRCA2* s-a realizat prin metoda multiplex MLPA folosind kitul SALSA MLPA P294-B1-0114-Tumour Loss. Reacția MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) este o metodă ce are la bază PCR multiplex și este folosită pentru detecția modificărilor numărului de copii pentru un număr de până la 60 de regiuni genomice diferite. Metoda poate detecta secvențe ADN care diferă printr-o singură nucleotidă. Rezultatele obținute sunt analizate cu ajutorul programului Coffalyser, oferit gratuit pentru utilizatorii produselor MRC-Holland, program ce se poate descărca gratuit de pe site-ul producătorului (Coffalyser.Net website).

Studiul polimorfismului genei *CYP17* și a polimorfismului -158 A/G (rs266882) al genei *PSA* a fost efectuat prin tehnica PCR-RFLP (restriction fragment length-polymorphism). ADN-ul a fost izolat din țesutul recoltat la intervenția chirurgicală de la pacienții cu CP. Pentru izolarea ADN-ului am folosit kitul Pure link genomic DNA mini kit (INVITROGEN), urmând indicațiile producătorului. Producții PCR au fost digerați la 37°C, 16 ore cu enzima de restricție *NheI* (2 U, Promega USA) pentru studiul polimorfismului genei -158 A/G a *PSA* și supuși electroforezei în gel de agaroză 2 %, și respectiv cu enzima de restricție *MspA1I* pentru polimorfismului genei *CYP17*. Pentru polimorfismul *PSA* -158A/G (rs266882) cele 3 genotipuri posibile sunt: AA (300 bp), AG (300 și 150 bp) și GG (150 bp), iar pentru polimorfismului genei *CYP17* cele 3 genotipuri posibile sunt definite de 3 modele de bandare: AA (300 bp), AG (300 și 150 bp) și GG (150 bp).

Condițiile de reacție pentru tehnica PCR-RFLP folosită în studiul polimorfismelor genice pentru *PSA* și *CYP 17* au fost:

PSA -158A/G, (rs266882) primeri F: 5' - TTG TAT GAA GAA TCG GGG ATC GT-3', R: 5' - TCC CCC AGG AGCCCT ATA AAA-3', 94°C, 10 min, 35x (94°C, 1 min., 56°C, 1 min, 72°C, 40 s), 72°C, 10 min, digestie cu enzima de restricție NheI.

CYP17 T-34C, (rs743572) primeri F: 5' --CCA TTC GCA CTC TGG AGT CAT -3', R: 5' --GAC AGG AGG CTC TTG GGG TA -3', 94°C, 10 min, 39 x (94°C, 30 s, 58°C 30 s, 72°C 90 s), 72°C 10 min, digestie cu enzima de restricție MspAII.

În vederea investigării fuziunii genice TMPRSS2:ERG pentru prezentul proiect a fost folosită metoda RT-PCR folosind ARN total izolat din țesutul prostatic tumoral. Pentru reacția PCR au fost utilizați primeri descriși în literatură. Secvențele primerilor utilizați sunt prezentate mai jos:

TMPRSS2-301F: CAGGAGGCGGAGGCGGA

ERG-304R: GTAGGCACACTCAAACAACGACTGG

ERG-305R: GGCGTTGTAGCTGGGGGTGAG

În cazul transcriptului TMPRSS2:ERG, reacția PCR cu primerii TMPRSS2 301_F și ERG 304_R a generat ampliconi cu dimensiuni de ~112 bp, ~200 bp și respectiv ~300 bp.

În reacțiile PCR au fost adăugați primeri pentru gena de control intern, albumina (ALB), ce generează ampliconi de ~90 bp.

Primer forward: 5'-AGGTGGAAGTCAAAGCCAAGT-3' și primer reverse: 5'-TGCAGAGTAGTGGGTTAGTGGA-3'.

Examenul histopatologic al fragmentelor recoltate la biopsia prostatică precum și a piesei de PR și limfodiseție ganglionară a fost realizat de anatomopatologi ai Institutului Clinic Fundeni cu experiență vastă în patologia prostatică. Raportarea rezultatelor a respectat întocmai stadializarea patologică a tumorilor prostatice din 2009, gradingul histologic conform ISUP 2014 și ghidul de raportare al elementele patologice cu valoare prognostică conform ghidurilor EAU în vigoare.

Intervenția chirurgicală de PR cu limfodiseție ganglionară extinsă a fost efectuată în Clinica de Urologie a Institutului Clinic Fundeni de către chirurghi experimentați, și a urmărit în primul rând respectarea principiilor oncologice.

Parametrii preoperatori enumerați mai sus au fost evaluați pentru predicția stadiului patologic nefavorabil după PR definit prin prezența următoarelor aspecte patologice: extensia extraprostatică cu sau fără invazia veziculelor seminale sau margini de rezecție pozitive sau adenopatii pozitive. Recidiva biochimică a fost un alt endpoint al studiului și a fost definită prin determinarea unor valori serice de PSA mai mari de 0.2 ng/ml după intervenția chirurgicală.

Analiza statistică - Datele colectate au fost stocate în format electronic într-un fișier SPSS ce a inclus toate variabilele urmărite.

Variabilele continue sunt exprimate ca medie $\pm$ deviație standard, iar cele discontinue ca număr (procent). Variabilele non-parametrice au fost exprimate ca valoare mediană și quartile. În cazul variabilelor continue, diferența dintre grupuri a fost evaluată prin testul t Student sau testul Mann-Whitney U test, în funcție de distribuție. Variabilele categorice au fost comparate prin testul χ^2 .

Pentru evidențierea unor comparații și asocieri între parametrii studiați s-a folosit analiza de regresie lineară, iar coeficienții de corelație au fost calculați prin metoda Pearson.

Pentru a studia asocierea concomitentă a mai multor factori cu prognosticul patologic nefavorabil s-a utilizat analiza de tip regresie logistică multivariată, incluzând numai variabilele care s-au asociat semnificativ cu un prognostic patologic nefavorabil în analiza univariată. Rezultatele au fost exprimate ca hazard ratios (HR) cu un interval de încredere de 95% (95%CI).

Perioada până la eveniment a fost calculată din momentul inițial până la momentul apariției evenimentului monitorizat (recăderea biochimică). Pentru a studia contribuția concomitentă a mai multor factori la apariția recăderii biochimice s-a utilizat analiza multivariată a hazardului proportional Cox cu variabile dependente de timp, incluzând numai variabilele care s-au asociat semnificativ cu recăderea biochimică în analiza univariată. Rezultatele au fost exprimate ca hazard ratios (HR) cu un interval de încredere de 95% (95%CI).

Analiza curbei ROC (Receiver operating characteristic) a fost utilizată pentru a evalua puterea de diagnostic și valorile de cut-off pentru parametrii identificați. Valoarea predictivă pozitivă și negativă a fost calculată pentru diferite valori de referință.

Curbe de supraviețuire Kaplan-Meier au fost generate pentru fiecare parametru identificat ca fiind factor de risc independent privind apariția recăderii biochimice.

Probabilitatea "p" de respingere a ipotezei nule (pragul de semnificație statistică) a fost stabilit la 0.05. Valori ale $p < 0.05$ au fost considerate semnificative statistic.

Analiza statistică s-a realizat folosind programul SPSS 13 pentru Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois) și Analyse-it™ (Analyse-it Software, Ltd., Leeds, UK).

STUDIUL 1 – ANALIZA FACTORILOR CLINICI ȘI BIOLOGICI ASOCIAȚI CU UN PROGNOSTIC PATOLOGIC NEFAVORABIL PENTRU CANCERUL DE PROSTATĂ TRATAT PRIN PROSTATECTOMIE RADICALĂ

În practica urologică curentă, pacienții nou diagnosticați cu CP care au un nivel seric al PSA mai mare sau egal cu 20 ng/ml sau scorul Gleason raportat la biopsia prostatică mai mare sau egal cu 8 sau tumoră prostatică apreciată cel puțin T2c la TR, sunt pacienți clasificați în grupul de pacienți cu risc crescut de recidivă biochimică, progresie tumorală și deces prin CP. Cu toate acestea, datele raportate în literatură despre importanța fiecărui parametru utilizat în această clasificare sunt contradictorii. De asemenea, rolul PR în terapia inițială a CPRC a fost subiectul a numeroase controverse. Până în prezent, au fost aduse dovezi suficiente că intervenția chirurgicală are avantaje majore față de RT primară, deoarece oferă o stadializare patologică precisă și o caracterizare patogenică superioară stadializării clinice. În plus, PR va putea orienta astfel mai rațional terapiile secundare.

În acest studiu, am investigat numeroși parametrii preoperatori, clinici, biologici și genetici, în relație cu rezultatul patologic obținut prin tratamentul pacienților cu CPRC prin PR, pentru o mai bună înțelegere a comportamentului bolii și o consiliere adecvată a pacienților propuși pentru PR.

Rezultate

Caracteristici generale ale pacienților

Populația studiată a inclus 48 de pacienți cu CPRC, cu o vârstă medie de 65.4 ± 5.3 ani; 79.2% (38 pacienți) au avut vârsta peste 60 de ani. Un procent de 77.1% (31 pacienți) dintre pacienții incluși în studiu au avut un indice de comorbiditate Charlson (CCI) ≤ 3 .

Preoperator, valoarea mediană a PSA la acești pacienți a fost de 17 ng/ml [IQR:9-26], iar 43.8% (21 pacienți) dintre ei au avut o valoare a PSA ≥ 20 ng/ml. Scorul Gleason preoperator a avut o valoare medie de 7.7 ± 0.8 , iar distribuția acestui scor în lotul nostru de pacienți a fost următoarea: un singur pacient (2.1%) a avut o valoare sub 6, 8 pacienți (16.7%) au avut o valoare de 7 (3+4), 14 pacienți (29.2%) au avut o valoare de 7 (4+3), 16 pacienți (33.3%) au avut o valoare de 8, iar 9 pacienți (18.7%) au avut o valoare de peste 9. Mai mult de jumătate (52.1%) dintre pacienți au avut o valoare a scorului Gleason

preoperator mai mare de 8 (**Tabel 1**). Extensia tumorală extraprostatică apreciată prin TR (stadiul tumoral clinic $\geq$ cT3a) a fost raportată în peste jumătate dintre cazuri (56.2%; 27 pacienți). În lotul nostru, 7 pacienți (14.6%) au avut vârsta > 60 ani, valoarea PSA preoperator ≥ 20 ng/ml și scorul Gleason preoperator ≥ 8 .

Tabel 1. Caracteristicile clinico-biologice preoperatorii ale pacienților incluși în studiu.

Variabile	Total (N=48)
Vârsta (medie; ani)	65.4 $\pm$ 5.3
Vârsta > 60 ani (%)	38 (79.2%)
Indicele de comorbiditate Charlson (%)	
≤ 3	37 (77.1%)
>4	11 (22.9%)
PSA preoperator (mediană; ng/ml)	17 (9-26)
PSA preoperator ≥ 20 ng/ml (%)	21 (43.8%)
Scor Gleason preoperator (medie)	7.7 $\pm$ 0.8
Scor Gleason preoperator (%)	
≤ 6	1 (2.1%)
7 (3+4)	8 (16.7%)
7 (4+3)	14 (29.2%)
8	16 (33.3%)
9-10	9 (18.7%)
Scor Gleason preoperator ≥ 8 (%)	25 (52.1%)
Vârsta > 60 ani + PSA preoperator ≥ 20 + Scor Gleason preoperator ≥ 8 (%)	7 (14.6%)
Stadiul clinic T (cT)	
$\leq$ cT2c	21 (43.8%)
$\geq$ cT3a	27 (56.2%)

Scorul Gleason postoperator a avut o valoare medie de 7.6 $\pm$ 0.8, iar distribuția acestui scor în lotul nostru de pacienți a fost următoarea: niciun pacient nu a avut o valoare sub 6, 7 (14.6%) pacienți au avut o valoare de 7 (3+4), 20 (41.7%) pacienți au avut o valoare de 7 (4+3), 10 (20.8%) pacienți au avut o valoare de 8, iar 11 (22.9%) pacienți au avut o valoare de peste 9. 21 (43.8%) dintre pacienți au avut un scor Gleason patologic mai mare de 8.

32 (66.6%) pacienți au avut concordanță între scorul Gleason pre și postoperator; 7 (14.6%) pacienți au avut un scor Gleason postoperator mai mare comparativ cu scorul

Gleason preoperator (upgrading), iar 9 (18.8%) au avut un scor Gleason postoperator mai mic față de cel raportat preoperator (downstaging).

În lotul nostru de studiu, aproape toți pacienții (95.8%) au fost diagnosticați postoperator cu adenocarcinom prostatic tipul acinar; doar 2 (4.2%) pacienți au avut tipul ductal la examenul anatomopatologic. 45 (93.8%) de pacienți au avut la examenul anatomopatologic extensie tumorală extraprostatică, dintre care majoritatea, 31 (64.6%) de pacienți, au avut extensie tumorală bilaterală. Invazia masei tumorale la nivelul veziculelor seminale a fost pusă în evidență în cazul a 28 (58.3%) de pacienți, dintre care 8 (16.6%) pacienți au avut invazie unilaterală, iar 20 (41.7%) de pacienți au avut extensie bilaterală. 72.9% dintre pacienți au fost diagnosticați postoperator cu un stadiu mai avansat de boală față de cel raportat la TR (upstaging).

18 (37.5%) pacienți au avut invazie în ganglionii extirpați, dintre care 12 (25%) pacienți în mai puțin de 2 ganglioni, iar 6 (12.5%) pacienți au avut cel puțin 3 ganglioni invadați. Marginile de rezecție au fost pozitive doar în cazul a 4 (8.3%) pacienți. Invazia perineurală postoperatorie a fost diagnosticată în cazul a 34 (70.8%) pacienți (**Tabel 2**).

Tabel 2. Caracteristicile clinico-biologice postoperatorii ale pacienților incluși în studiu și tratați prin PR.

Variabile	Total (N=48)
Vârsta (medie; ani)	65.4 ± 5.3
Vârsta > 60 ani (%)	38 (79.2%)
Scor Gleason patologic (medie)	7.6 ± 0.8
Scor Gleason patologic (%)	
≤ 6	0 (0%)
7 (3+4)	7 (14.6%)
7 (4+3)	20 (41.7%)
8	10 (20.8%)
9-10	11 (22.9%)
Scor Gleason patologic ≥ 8(%)	21 (43.8%)
Tipul histopatologic al tumorii (%)	
Ductal	2 (4.2%)
Acinar	46 (95.8%)
Adenopatii (%)	18 (37.5%)
≤ 2 ggl.	12 (25%)
> 3 ggl.	6 (12.5%)
Invazia veziculelor seminale (%)	28 (58.3%)
Unilaterală	8 (16.6%)

Bilaterală	20 (41.7%)
Extensia extraprostatică (%)	45 (93.8%)
Unilaterală	14 (29.2%)
Bilaterală	31 (64.6%)
Margini de rezecție pozitive (%)	4 (8.3%)
Invazie perineurală (%)	34 (70.8%)

Evaluarea parametrilor hormonal

Nivelul seric al testosteronului a avut o valoare mediană de 4 [IQR 2.2-5.2] ng/ml, iar valoarea medie a fost de 4.1 ± 2.2 ng/ml. Nivelul seric al dihidrotestosteronului a avut o valoare mediană de 592.5 [IQR 325.6-914.2] ng/ml, iar valoarea medie a fost de 649.7 ± 366.9 ng/ml. Nivelul seric al dehidroepiandrosteronului-sulfat a avut o valoare mediană de 407.5 [IQR 241.2-770.2] µg/ml, iar valoarea medie a fost de 619.1 ± 552.8 µg/ml. Nivelul seric al dehidroepiandrosteronului a avut o valoare mediană de 2.6 [IQR 1.1-4.3] ng/ml, iar valoarea medie a fost de 3.1 ± 2.8 ng/ml. Nivelul seric al androstendionului a avut o valoare mediană de 476.1 [IQR 352.7-705.9] pg/ml, iar valoarea medie a fost de 552.2 ± 311.2 pg/ml.

Evaluarea genetică în populația de studiu

În lotul nostru, polimorfismul genei HOX B13 a fost reprezentat în totalitate de genotipul homozigot CC. În ceea ce privește polimorfismul genic al KLK2-KLK3 (SNP rs2735839), majoritatea pacienților au avut genotip GG (70.8%), iar genotip AG și AA au avut o frecvență de 22.9% și respectiv 6.3%. În ceea ce privește SNP rs4054823 (17p12), pacienții au avut genotip homozigot CC (25%), genotip heterozigot CT (47.9%) și respectiv homozigot TT (27.1%). Distribuția genotipurilor genei SLCO2B1 (SNP-urile rs12422149) a fost următoarea genotip: AA (6.3%), genotip AG (18.7%) și respectiv GG (75%). Doi (4.2%) pacienți au avut genotip GG al genei SLCO1B3 (rs4149117), 11 (22.9%) pacienți au avut genotip TG, iar 35 (72.9%) de pacienți au avut genotip TT.

În cazul genei PSA, pacienții au avut genotip AA (19.1%), genotip AG (51%) și respectiv GC (29.8%). Distribuția genotipurilor genei CYP17 a fost următoarea: genotip A1 (34.7%), genotip A2 (17.5%) și respectiv A1A2 (47.8%). Polimorfismul genei PSA precum și polimorfismul CYP17 au fost detectate pe fragmentele tisulare de PR.

Analiza polimorfismului repetițiilor CAG în gena receptorului de androgeni a identificat o valoare medie de 22 ± 2.8 repetiții. Deleția BRCA2 a fost prezentă în cazul a 3 pacienți (6.25%) din totalul pacienților incluși în studiu.

În lotul de pacienți investigați au fost detectați transcripti de fuziune de tip A sau III (fuziune TMPRSS2 exon1 - ERG exon 4) la 8 pacienți (16.7%). Fuziunea genică a fost detectată la nivel tisular, respectiv pe probele de rezecție prostatică.

Relația dintre valoarea parametrilor preoperatori și a celor histopatologici

Vârsta pacienților din studiu s-a corelat slab pozitiv cu tipul histopatologic al tumorii ($r = 0.27$, $p = 0.05$). **Valoarea PSA-ului seric preoperator** s-a corelat pozitiv cu prezența adenopatiilor pozitive ($r = 0.28$, $p = 0.04$) și cu prezența invaziei ganglionare în mai mult de 2 ganglioni la examenul anatomopatologic ($r = 0.34$, $p = 0.01$). **Valoarea scorului Gleason preoperator** s-a corelat pozitiv cu scorul Gleason patologic ($r = 0.55$, $p < 0.001$), moderat pozitiv cu prezența invaziei ganglionare ($r = 0.45$, $p = 0.004$), moderat pozitiv cu prezența invaziei veziculelor seminale ($r = 0.46$, $p = 0.03$) și cu prezența invaziei bilaterale a veziculelor seminale ($r = 0.40$, $p = 0.04$). În studiul nostru, **stadiul clinic T** s-a corelat pozitiv cu prezența extensiei extraprostatice ($r = 0.40$, $p = 0.02$) și cu prezența unei invazii bilaterale a veziculelor seminale ($r = 0.40$, $p = 0.02$).

Tabel 3. Relația dintre valoarea parametrilor paraclinici preoperatori și a celor histopatologici

Parametrii	Vârsta		CCI		PSA preoperator		Scor Gleason preoperator (variabilă continuă)		Scor Gleason preoperator (variabilă categorială)		cT	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Scor Gleason patologic (variabilă continuă)	0.06	0.68	-0.02	0.89	-0.10	0.50	0.55	<0.001	0.55	<0.001	0.15	0.30
Scor Gleason patologic (variabilă categorială)	0.06	0.65	0.36	0.09	-0.08	0.59	0.55	<0.001	0.49	<0.001	0.19	0.59
Tipul HP al tumorii	0.27	0.05	0.11	0.43	0.13	0.38	-0.07	0.62	0.29	0.38	0.02	0.85
Adenopatii (prezente/absente)	0.10	0.48	0.09	0.53	0.28	0.04	-0.03	0.81	0.45	0.04	0.16	0.26
Adenopatii (≤ 2 ggl/ >3 ggl)	-0.03	0.80	0.24	0.23	0.34	0.01	-0.03	0.81	0.36	0.12	0.16	0.53
EEP (prezentă/absentă)	0.03	0.80	0.14	0.32	0.16	0.25	0.01	0.93	0.21	0.68	0.11	0.40
EEP (uni/bilaterală)	-0.07	0.63	0.21	0.34	0.06	0.68	0.04	0.74	0.27	0.50	0.40	0.02

Margini de rezecție pozitive	-0.25	0.08	0.16	0.25	0.11	0.42	-0.07	0.61	0.17	0.83	0.03	0.79
Invazie perineurală	-0.26	0.07	0.02	0.87	0.11	0.43	-0.05	0.69	0.15	0.87	0.08	0.57
Invazia veziculelor seminale (prezentă /absentă)	-0.005	0.97	0.05	0.68	0.25	0.08	0.15	0.28	0.46	0.03	0.27	0.06
Invazia veziculelor seminale (uni/ bilaterale)	0.09	0.76	0.15	0.56	0.22	0.13	0.19	0.19	0.40	0.04	0.40	0.02
CCI- indicele de comorbiditate Charlson; cT- stadiul clinic T; HP- histopatologic; ggl/-ganglioni; EEP-extensie extraprostatică; r= coeficient de corelație; p- semnificația statistică;												

Relația dintre valoarea parametrilor hormonal evaluați în studiu și a celor histopatologici

Nivelul seric al dehidroepiandrosteronului s-a corelat pozitiv semnificativ din punct de vedere statistic cu prezența extensiei extraprostatice ($r = 0.29$, $p = 0.05$).

Tabel 4. Relația dintre valoarea parametrilor hormonal evaluați în studiu și a celor histopatologici

	Testosteron (ng/ml)		DHT (ng/ml)		DHEA-S (μg/ml)		DHEA (ng/ml)		Androsten dion (pg/ml)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Scor Gleason patologic (variabilă continuă)	-0.16	0.27	0.23	0.11	-0.10	0.47	0.22	0.13	-0.12	0.41
Scor Gleason patologic (variabilă categorială)	-0.18	0.11	0.11	0.44	-0.10	0.49	0.19	0.49	-0.06	0.67
Tipul HP al tumorii	0.15	0.30	-0.01	0.91	-0.006	0.96	0.07	0.61	0.14	0.31
Adenopatii (prezente /absente)	-0.15	0.30	0.10	0.47	0.17	0.24	0.19	0.20	0.03	0.83
Adenopatii (≤ 2 ggl, > 3 ggl,)	-0.13	0.37	0.17	0.23	0.14	0.32	0.16	0.28	- 0.002	0.98
Extensie extraprostatică (prezentă /absentă)	0.05	0.72	0.11	0.43	-0.02	0.88	0.15	0.32	-0.14	0.32
Extensie extraprostatică (uni/bilaterală)	0.05	0.72	0.20	0.16	-0.03	0.80	0.29	0.05	-0.01	0.92

Margini de resecție pozitive	0.08	0.56	0.21	0.13	-0.02	0.84	-0.09	0.51	-0.15	0.28
Invazie perineurală	-0.06	0.64	0.01	0.90	-0.003	0.98	0.06	0.67	-0.06	0.64
Invazia veziculelor seminale (prezentă /absentă)	-0.23	0.10	0.11	0.44	0.06	0.66	0.21	0.15	0.08	0.56
Invazia veziculelor seminale (uni/bilaterale)	-0.27	0.06	0.14	0.32	0.07	0.63	0.24	0.10	0.14	0.32
DHT- dihidrotestosteron; DHEA-S - dehidroepiandrosteron-sulfat; DHEA- dehidroepiandrosteron; ggl/-ganglioni; r = coeficient de corelație; p - semnificația statistică;										

Evaluarea parametrilor clinico-biologici asociați cu un prognostic patologic nefavorabil

Analiza univariată

În ceea ce privește analiza parametrilor clinico-biologici asociați cu un prognostic patologic nefavorabil, datele sunt sumarizate în Tabelul 5 și 6, care include principalele variabile analizate.

Dintre toți parametrii clinico-biologici analizați doar **stadiul clinic $T \geq cT3a$** s-a asociat din punct de vedere statistic cu un prognostic patologic nefavorabil (67.7% vs. 35.3%, $p = 0.03$).

Deleția genei BRCA a fost prezentă în cazul a 3 (9.7%) pacienți cu prognostic patologic nefavorabil, în condițiile în care niciun pacient cu prognostic patologic favorabil nu a prezentat această deleție, dar diferența nu a fost semnificativă statistic ($p = 0.09$). În plus, prezența a **mai puțin de 22 de repetiții CAG** a fost asociată semnificativ statistic cu prognosticul patologic nefavorabil ($p = 0.043$).

Tabel 5. Parametri clinico-biologici investigați în grupurile definite în funcție de prezența unui prognostic patologic nefavorabil

Variabile	Prognostic patologic nefavorabil (N=31)33	Prognostic patologic favorabil (N=17)	Valoare p
Vârsta (medie, ani)	65.1 $\pm$ 5.7	65.8 $\pm$ 4.4	0.69
Vârsta > 60 ani (%)	24 (77.4%)	14 (82.4%)	0.68
Indicele de comorbiditate Charlson >3 (%)	7 (22.6%)	4 (23.5%)	0.94
PSA preoperator (mediana, ng/ml)	18 (9-28)	12 (7.5-22,,)	0.16
PSA ≥ 20 ng/ml (%)	15 (48.4%)	6 (35.3%)	0.38
Scor Gleason preoperator ≥ 8 (%)	16 (51.6%)	9 (52.9%)	0.93
Stadiul clinic $T \geq cT3a$	21 (67.7%)	6 (35.3%)	0.03

(%)			
Vârsta > 60 ani + PSA preoperator $\geq$ 20 + Scor Gleason preoperator $\geq$ 8 (%)	6 (19.4 %)	1 (5.9%)	0.17
Testosteron (mediana, ng/ml)	3.7 (1.9-5.3)	4.5 (2.9-5.5)	0.18
Dihidrotestosteron (DHT) (mediana, ng/ml)	649 (335-960)	475 (283.2-727.5)	0.33
Dehidroepiandrosteron-sulfat (DHEA-S) (mediana, μ g/ml)	398.9 (235.9-886.8)	460.3 (305.1-742.2)	0.67
Dehidroepiandrosteron (DHEA) (mediana, ng/ml)	3 (1-4.9)	2 (1.3-3.3)	0.43
Androstendion (mediana, pg/ml)	471.9 (349.7-741.1)	480.3 (349.7-741.1)	0.99
Deleția BRCA (%)	3 (9.7%)	0 (0%)	0.09

Tabel 6. Relația dintre polimorfismele genelor studiate și prognosticul patologic nefavorabil

Variable	Total (N=48)	Prognostic patologic nefavorabil (N=31)	Prognostic patologic favorabil (N=17)	Valoare <i>p</i>
HOX B13 (%)				
CC	48 (100%)	31 (100%)	17 (100%)	1
KLK2-KLK3 (%)				0.924
AA	3 (6.3%)	2 (6.5%)	1 (5.9%)	
AG	11 (22.9%)	7 (22.6%)	4 (23.5%)	
GG	34 (70.8%)	22 (71%)	12 (70.6%)	
17p12 (%)				0.771
CC	12 (25%)	6 (19.4%)	6 (35.3%)	
CT	23 (47.9%)	16 (51.6%)	7 (41.2%)	
TT	13 (27.1%)	9 (29%)	4 (23.5%)	
SLCO2B1 (%)				0.864
AA	3 (6.3%)	2 (6.5%)	1 (5.9%)	
AG	9 (18.7%)	6 (19.4%)	3 (17.6%)	
GG	36 (75%)	23 (74.2%)	13 (76.5%)	
SLCO1B3(%)				0.323
GG	2 (4.2%)	2 (6.5%)	0 (0%)	
TG	11 (22.9%)	8(25.8%)	3 (17.6%)	
TT	35 (72.9%)	21 (67.7%)	14 (82.4%)	
Număr repetiții				0.043
CAG	26(54.1%)	17(54.8%)	9(52.9%)	
CAG< 22	22(45.9%)	14(45.2%)	8(47.1%)	
CAG≥22				

Analiza multivariată (regresie logistică)

Modelul de regresie logistică multivariată a inclus următorii parametri: valoarea PSA preoperator, stadiul clinic $T \geq cT3a$, asocierea vârstă > 60 ani + PSA preoperator ≥ 20 ng/ml + scor Gleason preoperator ≥ 8 și nivelul seric al testosteronului. Rezultatele acestei analize sunt prezentate în **Tabelul 7**. La fel ca în cazul analizei univariate, doar prezența unui **stadiul clinic $T \geq cT3a$** a fost parametrul reținut în modelul final fiind asociat independent cu prognostic histologic nefavorabil. Prezența unui stadiul clinic $T \geq cT3a$ s-a asociat cu o creștere de 4.71 ori a riscului de prognostic patologic nefavorabil.

Tabel 7. Identificarea parametrilor clinico-biologici asociați cu un prognostic patologic nefavorabil (model Regresie logistică multivariată)

	Regresie logistică univariată			Regresie logistică multivariată		
	OR	IC 95%	Valoare <i>p</i>	OR	IC 95%	Valoare <i>p</i>
PSA preoperator (variabilă continuă)	1.04	0.98-1.11	0.11	1.06	0.99-1.13	0.07
Stadiul clinic $T \geq$	3.85	1.10-13.40	0.03	4.71	1.23-18	0.02

cT3a						
Vârsta > 60 ani + PSA preoperator ≥ 20 + Scor Gleason preoperator ≥ 8	3.84	0.42-34.93	0.23	-	-	-
Testosteron	0.82	0.62-1.08	0.17	-	-	-
Deleția BRCA	-	-	0.99	-	-	-

Utilitatea prognostică pentru determinanți independenți ai patologiei nefavorabile identificați

Pentru evaluarea utilității prognostice a stadiul clinic $T \geq cT3a$ în identificarea pacienților cu prognostic patologic nefavorabil, a fost utilizată analiza ariilor de sub curbele *receiver operator* (ROC). Prezența unui stadiu clinic $T \geq cT3a$ identifică cu o sensibilitate de 67.74% și o specificitate de 64.71% pacienții cu un prognostic patologic nefavorabil (**Tabel 8**).

Tabel 8. Sensibilitatea și specificitatea stadiului clinic $T \geq cT3a$ în identificarea pacienților cu prognostic patologic nefavorabil

	Sensibilitate (%)	Specificitate (%)	VPP	VPN	Acuratețe
Stadiul clinic $T \geq cT3a$	67.74% (48.63%-83.32%)	64.71% (38.33%-85.79%)	77.78% (63.76%-84.44%)	52.38% (37.19%-67.14%)	66.67% (51.59% - 79.60%)
VPP- valoare predictivă pozitivă; VPN- valoare predictivă negativă;					

Discutii

În prezent, există un interes deosebit pentru optimizarea managementului pacienților diagnosticați cu CPRC. Deși CPRC are în general un prognostic nefavorabil, sub această definiție există și neoplasme care au un prognostic favorabil sau chiar pot fi vindecate prin strategiile de tratament actuale, inclusiv prin intervenție chirurgicală. În ciuda numeroaselor progrese efectuate în descoperirea de noi biomarkeri sau în caracterizarea imagistică a formelor agresive de boală, medicii folosesc în practica lor curentă parametrii clinici din definiția D'Amico pentru stratificarea pe grupe de risc prognostic a CP nou diagnosticat. Cu toate acestea, s-a arătat că nici unul dintre parametrii folosiți în clasificarea D'Amico, respectiv valoarea PSA seric, stadiul tumoral clinic sau scorul Gleason raportat la biopsia prostatică, nu pot prezice cu acuratețe prognosticul unui pacient cu CP tratat prin intervenție chirurgicală. Prin urmare, medicii nu pot lua decizii de tratament adecvat și nici nu pot consilia pacienții cu privire la tratamentul optim pentru boala lor. Mai mult, pacienții cu boală local avansată sau/și cu caracteristici de evoluție

nefavorabilă indiferent de tratamentul inițial nu au fost considerați în trecut candidați buni pentru intervenția chirurgicală din cauza rezultatelor oncologice și funcționale nefavorabile. În plus, chirurgia poate fi tehnic dificilă pentru majoritatea urologilor. Astăzi, cercetătorii fac eforturi deosebite pentru a identifica pacienții care vor beneficia de terapia chirurgicală. Numeroase studii recente au analizat parametrii patologici cu prognostic nefavorabil prezenți pe specimenul de PR. Printre ei, cei mai importanți factori de prognostic nefavorabili sunt considerați prezența marginilor pozitive, extensia extraprostatică, invazia veziculelor seminale și prezența adenopatiilor pozitive [5].

Datele din literatură privind semnificația prognostică a parametrilor clinici și biologici analizați în cohorta noastră de pacienți cu CPRC sunt contradictorii. Astfel, în timp ce unii autori au demonstrat asocierea nivelului seric al PSA cu volumul tumoral, stadiul patologic și extensia tumorii [14], alți autori nu au arătat corelații semnificative [17,18]. Mai mult, nivelul PSA-ului a fost corelat invers proporțional cu scorul Gleason. Nivelul seric al PSA preoperator > 20 ng/ml s-a corelat semnificativ statistic cu invazia ganglionară și invazia veziculelor seminale într-un studiu raportat de autorul tezei de doctorat [19]. Datorită studiilor recente, PR pentru pacienții cu PSA preoperator mai mare de 20 ng/ml este considerată o opțiune viabilă, demonstrând rezultate încurajatoare la acest grup de pacienți [20]. În cohorta noastră de pacienți cu CPRC, 43.8% din pacienți au avut nivelul PSA preoperator > 20 ng/ml iar valoarea PSA preoperator s-a corelat pozitiv cu prezența adenopatiilor pozitive ($r = 0.28$, $p = 0.04$) și cu prezența invaziei ganglionare în mai mult de 2 ganglioni la examenul anatomopatologic ($r = 0.34$, $p = 0.01$), dar nu s-a corelat semnificativ statistic cu celelalte elemente de patologie nefavorabilă.

De asemenea, scorul Gleason raportat la biopsia prostatică este considerat un predictor semnificativ pentru rezultatele patologice după PR, și în plus, poate prezice și evoluția postoperatorie nefavorabilă. În ciuda acestui fapt, numeroși autori au arătat în studiile lor că scorul Gleason biptic poate să nu fie concordant cu scorul Gleason patologic evaluat pe specimenul chirurgical și această constatare a încurajat PR ca tratament primar pentru pacienții cu scor Gleason crescut preoperator [16]. De asemenea, van Poppel și colab. au demonstrat rolul benefic al PR la pacienții cu CP și scor Gleason mai mare sau egal cu 8 [21]. În studiul nostru, mai mult de jumătate dintre pacienți au avut o valoare a scorului Gleason preoperator mai mare de 8, iar valoarea scorului Gleason preoperator s-a corelat pozitiv cu scorul Gleason patologic ($r = 0.55$, $p < 0.001$) și moderat pozitiv cu prezența invaziei ganglionare ($r = 0.45$, $p = 0.04$) și cu prezența invaziei veziculelor seminale ($r = 0.46$, $p = 0.03$) sau cu prezența invaziei bilaterale la nivelul

veziculelor seminale ($r = 0.40$, $p = 0.04$). Rezultatele studiului nostru sunt în concordanță cu alte studii clinice privind importanța scorului Gleason în predicția invaziei veziculelor seminale [19] sau prezența adenopatiilor pozitive [22].

TR este utilizat la examenul clinic al pacienților pentru a determina stadiul local tumoral T și este asociat cu extensia locală a bolii (etapa clinică T). De asemenea, TR a fost asociat cu un risc crescut de detectare a formelor de CP cu scor Gleason peste 8 [23]. Cu toate acestea, TR are o sensibilitate redusă, fiind dependentă de experiența examinatorului. Prin urmare, TR poate supraestima sau subestima gradul de invazie tumorală locală. În prezent, TR este utilizat în combinație cu alți parametri pentru a îmbunătăți puterea de prezicere a extensiei tumorale. În studiul nostru, stadiul clinic T s-a corelat pozitiv cu prezența extensiei extraprostatice ($r = 0.40$, $p = 0.02$) și cu prezența unei invazii bilaterale a veziculelor seminale ($r = 0.40$, $p = 0.02$). Dintre toți parametrii clinico-biologici analizați doar stadiul clinic $T \geq cT3a$ s-a asociat din punct de vedere statistic cu un prognostic patologic nefavorabil (67.7% vs. 35.3%, $p = 0.03$). Mai mult, în analiza multivariată prezența unui stadiu clinic $T \geq cT3a$ s-a asociat cu o creștere de 4.71 ori a riscului de prognostic patologic nefavorabil. Sensibilitatea și specificitatea acestui parametru în studiul nostru a fost de 67.74% și respectiv 64.71%. Aceste date sunt în concordanță cu studiile lui Cooperberg și colab. care au inclus acest parametru în modelul lor de apreciere a riscului de recurență a bolii localizate [24].

Numeroase studii clinice au analizat impactul vârstei asupra evoluției pacienților cu CP și au concluzionat că vârsta este un predictor semnificativ pentru recăderea biochimică, progresia tumorală și mortalitatea specifică după PR [25]. Unii autori au arătat că vârsta înaintată se asociază semnificativ cu riscul de recădere biochimică, progresie tumorală sau metastaze la distanță. Alți autori au arătat că riscul de supraviețuire fără recădere biochimică este similar la toate grupele de vârstă studiate. Din contră, Smith și colab. și Khan și colab. au arătat în studiile lor că pacienții mai tineri de 50 de ani au un prognostic favorabil după PR atât din punct de vedere al aspectelor patologice cât și al riscului de recădere biochimică [26, 27]. În grupul nostru de pacienți, vârsta medie a pacienților a fost de 65.4 ani, s-a corelat slab pozitiv cu scorul Gleason preoperator ($r = 0.429$, $p = 0.002$), tipul histopatologic al tumorii ($r = 0.27$, $p = 0.05$) și nu a avut semnificație statistică pentru prognosticul patologic nefavorabil.

Relația dintre nivelurile preoperatorii ale hormonilor sexuali endogeni și rezultatele PR este controversată în literatură. Unele studii au raportat o incidență mai mare a tumorilor slab diferențiate la pacienții cu CP și niveluri serice scăzute de testosteron [28].

Trei alte studii retrospective au arătat că testosteronul total scăzut este asociat cu caracteristici patologice nefavorabile în speciemenle de PR, dar nu au găsit nici o asociere cu recidiva biochimică [29,30,31]. În plus, un studiu clinic din 2006 a sugerat că testosteronul liber ajustat cu vârsta se corelează cu tumorile prostatice slab diferențiate [32]. Mulți compuși androgeni circulanți, inclusiv testosteronul, androstendion (A), dehidroepiandrosteron (DHEA) și dehidroepiandrosteron-sulfat (DHEA-S) pot fi convertiți la dihidrotestosteron (DHT) metabolic activ. Concentrațiile serice de SHBG cresc cu vârsta, SHBG leagă testosteronul cu afinitate mare, iar din ce în ce mai puțin din testosteronul total este liber sau biologic activ. Concentrațiile de testosteron, SHBG și DHT sunt substanțial mai mari în prostată decât în ser. DHT, care este cel mai puternic androgen intraprostatic, pare să joace un rol semnificativ în inițierea CP. Apariția inevitabilă a CP androgen-refractor după tratamentul hormonal sugerează că androgenii joacă un rol mai degrabă "permisiv" în progresia tumorii. Morote și colab. [33] au efectuat un studiu pe subiecți cu CP nonmetastatic, androgen independent și au subliniat faptul că, cu cât nivelurile de testosteron au fost mai mici, cu atât a fost mai lungă perioada de progresie a bolii. În studiul nostru, nivelul seric al testosteronului, al dihidrotestosteronului, al dehidroepiandrosteronului-sulfat cât și al androstendionului nu s-au corelat semnificativ din punct de vedere statistic cu elementele de prognostic nefavorabil la examenul histopatologic al piesei operatorii. În schimb, nivelul seric al dehidroepiandrosteronului s-a corelat pozitiv semnificativ din punct de vedere statistic cu prezența extensiei extraprostatice patologice ($r = 0.29$, $p = 0.05$).

Dat fiind rolul cheie al receptorului de androgen în apariția și progresia CP, variația în structura sau expresia genei receptorului de androgeni este logic să influențeze inițierea sau progresia bolii. S-a emis ipoteza că variația în activitatea de transcripție a receptorilor androgeni (AR) legată de polimorfismul repetitiv CAG din exonul 1 influențează riscul de CP. Gena AR este o genă în copie unică, care se întinde pe aprox. ~ 90 Kb din ADN-ul genomic și se află pe cromozomul Xq11-12.7-9. Regiunea care codifică proteina (~ 2757 Kp) cuprinde 8 exoni, numerotați A-H7 sau 1-8,10 separați prin introni până la 26 Kb. Exonul 1 codifică domeniul amino-terminal (NTD), care cuprinde mai mult de jumătate din proteinele AR. În gena AR sunt două situsuri polimorfe în exonul 1, caracterizate printr-un număr diferit de repetiții CAG și GGC și lungimi variabile de poliglutamină și poliglicină la capătul N-terminal al proteinei AR, care pare să moduleze funcția AR. Numărul de repetiții CAG 47 (polyglutamine, polyQ) din capatul 5' al exonului 1 la populația normală variază între 6 și 39, cu o medie de 21 ± 2 repetiții. Această regiune

repetitivă este extrem de polimorfă. În apropiere de capătul 3', există o altă regiune polimorfă poliglicina (PolyG). Numărul de repetiții GGC (polyglycine, polyG) din capătul 3' al exonului 1 în populația normală variază între 4 și 24. Exonii 2-3 codifică domeniul de legare la ADN, exonii 4 (regiunea 3') până la 8 codifică domeniul de legare a ligandului, în timp ce capătul 5' al exonului 4 codifică regiunea hinge.

O creștere a activității androgenice poate fi asociată cu CP, și variații etnice în lungimea CAG pot contribui la riscuri diferite de CP în diferite populații. Lungimea polimorfismului repetitiv trinucleotidic CAG din regiunea poliglutamină a genei receptorilor androgeni (AR) s-a sugerat că este invers corelată cu riscul de dezvoltare a CP iar prezența a mai puțin de 21 de repetiții este asociată cu un risc crescut de stadiu local avansat sau scor Gleason mai mare sau egal cu 7 [34]. Autorii însă nu au reușit să demonstreze o asociere semnificativ statistică între numărul de repetiții CAG și marginile de rezecție pozitive sau invazia veziculelor seminale. În studiul nostru, numărul de repetiții CAG în gena receptorului de androgeni a avut o valoare medie de 22 ± 2.8 repetiții, ceea ce este în concordanță cu datele raportate în literatură. În plus, polimorfismul în numărul de repetiții CAG nu a fost asociat semnificativ statistic cu elementele de agresivitate caracteristice lotului dar prezența a mai puțin de 22 de repetiții a fost asociată semnificativ statistic cu prognosticul patologic nefavorabil ($p = 0.043$).

Analiza simultană a unui panel de biomarkeri pentru predicția stadiului patologic și caracterul prospectiv sunt punctele forte ale studiului de față. Cu toate acestea, când analizăm rezultatele cercetărilor efectuate trebuie să luăm în considerare și caracteristicile lotului, numărul mic de pacienți și posibilitatea combinării parametrilor preoperatorii sau includerea altor factori de risc pentru a putea prezice cu acuratețe mare stadiul final patologic. În plus, va fi util pentru practica clinică curentă să analizăm puterea de predicție a parametrilor preoperatorii pentru evoluția oncologică ulterioară a pacienților cu CPRC tratați prin PR, inclusiv pentru riscul de progresie metastatică sau deces prin CP.

STUDIUL 2 – STUDIUL FACTORILOR CU VALOARE PREDICTIVĂ PENTRU RECĂDEREA BIOCHIMICĂ

PR reprezintă la ora actuală o opțiune de tratament viabilă pentru pacienții cu CP localizat, iar pentru un grup de pacienți poate avea rol curativ. În plus, datorită progreselor efectuate în tehnica operatorie și a rezultatelor oncologice și funcționale demonstrate în numeroase studii clinice, PR este inclusă în tratamentul multimodal al CPRC.

Cu toate acestea, datorită comportamentului heterogen al bolii din punct de vedere clinic, managementul acestor pacienți este complicat iar clinicienii au dificultăți în selecția pacienților care vor beneficia cel mai mult de tratamentul inițial prin PR. Pentru a îmbunătăți rezultatele pacienților tratați prin intervenție chirurgicală primară este necesară o strategie de tratament personalizată.

Factorii de risc actuali folosiți în practica clinică curentă precum PSA seric sau moleculele nou descoperite, împreună cu factorii patologici, pre și postoperatorii, nu sunt suficienți pentru a putea stratifica acești pacienți pe grupe de risc și a putea decide cea mai bună opțiune de tratament inițial.

În plus, modelele matematice recent dezvoltate, care încorporează acești factori, pot oferi predicții individualizate pentru fiecare scenariu clinic, dar sunt greu de implementat în practica clinică și lasă loc de îmbunătățiri.

Eforturile curente sunt îndreptate către descoperirea de noi biomarkeri serici sau tisulari, prin abordări complexe de biologie moleculară sau de investigare a expresiei genetice pentru un management optim al bolii relevante clinic, adaptat riscurilor.

În acest studiu, am propus evaluarea rolului PR în tratamentul inițial al pacienților cu CPRC prin analiza complexă a factorilor clinici, biologici, patologici și genetici asociați comportamentului agresiv al bolii pentru a putea prezice evoluția nefavorabilă postoperatorie și a putea consilia mai bine pacienții înainte de intervenția chirurgicală.

Rezultate

Incidența recăderii biochimice în populația studiată

În perioada de urmărire, 26 (54.2%) pacienți au dezvoltat recădere biochimică: 15 (57.7%) la 1 lună, 6 (23.1%) la 3 luni, 2 (7.7%) la 6 luni, 1 la 9 luni (3.8%) și 2 la 12 luni (7.7%). Timpul median al recăderii biochimice: 1 [IQR1-3] lună.

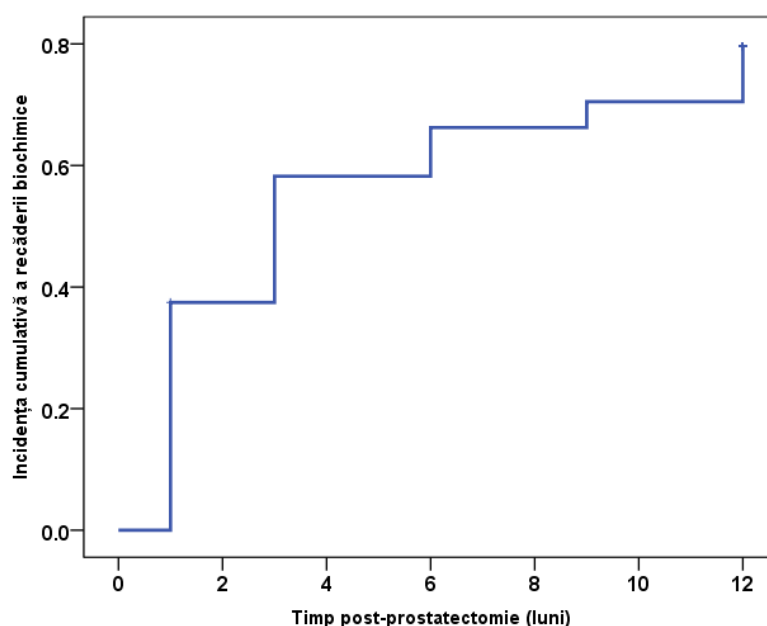


Figura 1. Incidența recăderii biochimice în perioada de urmărire

Evaluarea factorilor de risc asociați cu recăderea biochimică

Analiza univariată

În ceea ce privește analiza parametrilor clinico-biologici și histologici care reflectă riscul de apariție a recidivei biochimice, datele sunt sumarizate în **Tabelul 9**, care include principalele variabile analizate.

Tabel 9. Parametri investigați preoperator în întreg lotul și în grupurile definite în funcție de prezența recidivei biochimice

Variabile	Total (N=48)	Recădere biochimică (N=26)	Fără recădere biochimică (N=22)	Valoare <i>p</i>
Vârsta (medie; ani)	65.4±5.3	64.1±5.2	66.5±4.7	0.06
Vârsta > 60 ani (%)	38 (79.2%)	17 (65.4%)	21 (95.5%)	0.006
Indicele de comorbiditate Charlson (%)				0.50
≤ 3	37 (77.1%)	21 (80.8%)	16 (72.7%)	
> 4	11 (22.9%)	5 (19.2%)	6 (27.3%)	
PSA preoperator (mediană; ng/ml)	17 (9-26)	17 (8-26)	17.5 (9-26.5)	0.7
PSA preoperator ≥ 20 (%)	21 (43.8%)	11 (42.3%)	10 (45.5%)	0.82
Scor Gleason preoperator (medie)	7.7± 0.8	7.6± 0.8	7.7± 0.8	0.52
Scor Gleason preoperator (%)				0.76
≤6	1 (2.1%)	1 (3.8%)	0 (0%)	
7 (3+4)	8 (16.7%)	5 (19.2%)	3 (13.6)	
7 (4+3)	14 (29.2%)	6 (23.1%)	8 (36.4)	

8	16 (33.3%)	9 (34.6%)	7 (31.8%)	
9-10	9 (18.7%)	5 (19.3%)	4 (18.2%)	
Scor Gleason preoperator $\geq$ 8 (%)	25 (52.1%)	14 (53.8%)	11 (50%)	0.79
Vârsta > 60 ani + PSA preoperator $\geq$ 20 ng/ml + Scor Gleason preoperator $\geq$ 8 (%)	7 (14.6%)	3 (11.5%)	4 (18.2%)	0.51
Stadiul clinic T (cT)				0.16
$\leq$ cT2c	21 (43.8%)	9 (34.6%)	12 (54.5%)	
$\geq$ cT3a	27 (56.2%)	17 (65.4%)	10 (45.5%)	
Scor Gleason patologic (medie)	7.6 $\pm$ 0.8	7.8 $\pm$ 0.8	7.4 $\pm$ 0.8	0.08
Scor Gleason patologic (%)				0.15
$\leq$ 6	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
7 (3+4)	7 (14.6%)	3 (11.5%)	4 (18.2%)	
7 (4+3)	20 (41.7%)	8 (30.8%)	12 (54.5%)	
8	10 (20.8%)	8 (30.8%)	2 (9.1%)	
9-10	11 (22.9%)	7 (26.9%)	4 (18.2%)	
Scor Gleason patologic $\geq$ 8(%)	21 (43.8%)	15 (57.7%)	6 (27.3%)	0.15
Tipul histopatologic al tumorii(%)				0.11
Ductal	2(4.2%)	2 (7.7%)	0(0%)	
Acinar	46 (95.8%)	24 (92.3%)	2 (100%)	
Adenopatii (%)	18 (37.5%)	12 (46.2%)	6 (27.3%)	0.17
$\leq$ 2 ggl,	12 (25%)	8 (30.8%)	4 (18.2%)	0.39
>3 ggl,	6 (12.5%)	4 (15.4%)	2 (9.1%)	0.39
Inviaza veziculelor seminale(%)	28 (58.3%)	18 (69.2%)	10 (45.4%)	0.09
Unilaterală	8 (16.6%)	3(11.5%)	5 (22.7%)	0.04
Bilaterală	20 (41.7%)	15 (57.7%)	5 (22.7%)	0.04
Extensia extraprostatică (%)	45 (93.8%)	26 (100%)	19 (86.4%)	0.02
Unilaterală	14 (29.2%)	4 (15.4%)	10 (45.5%)	0.002
Bilaterală	31 (64.6%)	22 (84.6%)	9 (40.9%)	0.002
Margini de rezecție pozitive (%)	4 (8.3%)	2 (7.7%)	2 (9.1%)	0.86
Inviaza perineurală (%)	34 (70.8%)	20(76.9%)	14 (63.6%)	0.31
CCI- indicele de comorbiditate Charlson; cT- stadiul clinic T; HP- histopatologic; ggl/-ganglioni; p- semnificația statistică;				

Pacienții care au dezvoltat în perioada de urmărire recădere biochimică au fost în principal mai tineri (64.1 ± 5.2 vs. 66.5 ± 4.7 ani, $p = 0.06$). În ceea ce privește parametrii histopatologici, valoarea mediană a scorului Gleason postoperator a fost la limita semnificației statistice mai mare în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică (7.8 ± 0.8 vs. 7.4 ± 0.8 , $p = 0.08$). Procentul de pacienți cu un scor Gleason patologic ≥ 8 a fost mai mare în grupul de pacienți care a dezvoltat recădere biochimică,

dar diferența nu a fost semnificativă statistic (57.7% vs. 27.3%, $p = 0.15$). Procentul de pacienți care prezentau invazia veziculelor seminale a fost de asemenea semnificativ mai mare în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică în perioada de urmărire (69.2% vs 45.4%, $p = 0.09$).

Pacienții cu recădere biochimică în perioada de urmărire au prezentat mai frecvent la examenul histopatologic extensie extraprostatică comparativ cu grupul control (100% vs. 86.4%, $p = 0.02$).

Relația dintre valoarea parametrilor hormonal evaluați în studiu și recăderea biochimică (analiza univariată)

Nivelul seric al testosteronului a fost semnificativ statistic mai mic în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică în perioada de urmărire comparativ cu grupul pacienților la care evoluția nu a fost complicată de apariția acestui eveniment (3.5 ± 2.2 vs. 4.8 ± 2 , $p = 0.04$).

Nivelul seric al dehidroepiandrosteronului a fost semnificativ statistic mai mare în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică în perioada de urmărire comparativ cu grupul pacienților cu evoluție necomplicată de apariția acestui eveniment (4 ± 3.1 vs. 2 ± 1.9 ng/ml, $p = 0.005$).

Relația dintre polimorfismele genetice studiate și recăderea biochimică (analiza univariată)

În lotul nostru, toate polimorfismele genelor studiate (HOX B13, KLK2-KLK3, 17p12, SLCO2B1, SLCO2B3, PSA, CYP17) nu au diferit semnificativ statistic în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică în perioada de urmărire comparativ cu grupul pacienților a căror evoluție nu a fost complicată de apariția acestui eveniment (**Tabel 10**). Din cei 3 pacienți cu deleția BRCA2, doi au prezentat recădere biochimică la 1 lună și 9 luni respectiv, după intervenția chirurgicală. Prezența genei de fuziune TMPRSS2:ERG a fost mai frecventă în grupul de pacienți cu recădere biochimică, dar fără semnificație statistică (23.1% vs. 9.1%, $p = 0.18$).

Tabel 10. Relația dintre polimorfismele genelor studiate și recăderea biochimică

Variabile	Total (N=48)	Recădere biochimică (N=26)	Fără recădere biochimică (N=22)	Valoare p
HOX B13 (%)				
CC	48 (100%)	26 (100%)	22 (100%)	1
KLK2-KLK3 (%)				0.3
AA	3 (6.3%)	1 (3.8%)	2 (9.1%)	0
AG	11 (22.9%)	8 (30.8%)	3 (13.6%)	

GG	34 (70.8%)	17 (65.4%)	17 (77.3%)	
17p12 (%)				0.3
CC	12 (25%)	6 (23.1%)	6 (27.3%)	6
CT	23 (47.9%)	11 (42.3%)	12 (54.5%)	
TT	13 (27.1%)	9 (34.6%)	4 (18.2%)	
SLCO2B1 (%)				0.8
AA	3 (6.3%)	2 (7.7%)	1 (4.5%)	9
AG	9 (18.7%)	5 (19.2%)	4 (18.2%)	
GG	36 (75%)	19 (73.1%)	17 (77.4%)	
SLCO1B3(%)				0.7
GG	2 (4.2%)	1 (3.8%)	1 (4.5%)	9
TG	11 (22.9%)	5(19.2%)	6 (27.3%)	
TT	35 (72.9%)	20 (77%)	15 (68.2%)	
PSA (%)				0,1
AA	9 (19.1%)	6 (24%)	3 (13.6%)	0
AG	24 (51%)	15 (60%)	9 (40.9%)	
GC	14 (29.8%)	4 (16%)	10 (45.5%)	
CYP17 (%)				0.1
A1	16 (34.7%)	11 (42.3%)	5 (25%)	4
A2	8 (17.5%)	5 (19.2%)	3 (15%)	
A1A2	22 (47.8%)	10 (38.5%)	12 (60%)	
CAG repeats (medie)	22± 2.8	22.5± 3.2	21.4± 2.3	0.2
				1
Fuziunea TMPRSS2:ERG		6 (23.1%)	2 (9.1%)	0.1
				8

Analiza multivariată Cox

Modelul de analiză multivariată a hazardului proportional Cox a inclus următorii parametri: vârsta, scorul Gleason preoperator, scorul Gleason patologic ≥ 8 , tipul histopatologic al tumorii, stadiul clinic T, stadiul clinic $\geq cT3a$, prezența adenopatiilor, prezența invaziei bilaterale a veziculelor seminale, prezența extensiei extraprostatice bilaterale, nivelul seric al testosteronului, al DHEA-ului, prezența genotipului AA al genei care codifică PSA, al genotipului A1 al genei care codifică CYP 17 și a genei de fuziune TMPRSS2:ERG. Rezultatele acestei analize sunt prezentate în **Tabelul 11**. Prezența extensiei extraprostatice bilaterale, nivelul seric al DHEA-ului, prezența genei de fuziune TMPRSS2:ERG au fost parametri reținuți în modelul final fiind asociați independent cu un risc crescut de apariție a recăderii biochimice în lotul studiat.

Fiecare creștere cu un 1.0 ng/mL a nivelului seric al dehidroepiandrosteronului (DHEA) a fost asociată cu o creștere de 1.15 ori a riscului de recădere biochimică. Prezența extensiei extraprostatice bilaterale la examenul histopatologic s-a asociat cu o creștere de 3.64 ori a riscului de recădere biochimică, iar prezența genei de fuziune TMPRSS2:ERG s-a asociat cu o creștere de 2.97 ori a riscului de recădere biochimică.

Tabel 11. Factorii de risc asociați cu apariția recăderii biochimice (model Cox)

	Regresie Cox univariată			Regresie Cox multivariată		
	HR	IC 95%	Valoare p	HR	IC 95%	Valoare p
Vârsta	0.94	0.87- 1.02	0.15	-	-	-
Scor Gleason preoperator (medie)	1.01	0.64- 1.59	0.94	-	-	-
Scor Gleason patologic ≥ 8	2.01	0.87- 4.67	0.10	-	-	-
Tipul histopatologic al tumorii	0.28	0.06- 1.25	0.09	-	-	-
Stadiul clinic $T \geq cT3a$	1.58	0.70- 3.55	0.26	-	-	-
Prezența adenopatiilor	1.83	0.84- 3.99	0.12	-	-	-
Invazia bilaterală a veziculelor seminale	2.61	1.18- 5.77	0.01	-	-	-
Extensia extraprostatică bilaterală	4.19	1.43- 12.32	0.009	3.64	1.20- 11	0.02
Testosteron	0.85	0.70- 1.04	0.11	-	-	-
DHEA	1.15	1.03- 1.29	0.01	1.15	1.02- 1.30	0.02
Genotipul AA al genei care codifică PSA	1.30	0.52- 3.26	0.56	-	-	-
Genotipul A1 al genei care codifică CYP 17	1.78	0.81- 3.91	0.14	-	-	-
Fuziunea TMPRSS2-ERG	1.83	0.73-4.58	0.19	2.97	1.10-8	0.03

Utilitatea prognostică pentru determinanți independenți ai recăderii biochimice identificați

Pentru evaluarea utilității prognostice a principalilor determinanți independenți ai recăderii biochimice identificați, prezența extensiei extraprostatice bilaterale, nivelul seric al DHEA-ului și prezența genei de fuziune TMPRSS2:ERG, a fost utilizată analiza ariilor de sub curbele *receiver operator* (ROC). Analiza a arătat că nivelul seric al DHEA-ului identifică cu o precizie mai mare decât prezența extensiei extraprostatice bilaterale și genei de fuziune TMPRSS2:ERG grupul de pacienți care dezvoltă recădere biochimică (aria de sub curbă 0.75; 95% CI 0.60 – 0.86 vs. 0.73; 95% CI 0.58 – 0.85 vs. 0.54; 95% CI 0.39- 0.88) (**Tabelul 12**). Același tip de analiză a permis și identificarea nivelului prag (*cut-off*) pentru nivelul seric al DHEA. La un nivel prag de 2.75 ng/mL, valoarea nivelului seric al DHEA identifică corect pe cei care dezvoltă recădere biochimică cu o sensibilitate de 69.2% și o specificitate de 81.8%.

Tabel 12. Sensibilitatea și specificitatea factorilor de risc pentru recădere biochimică

	Sensibilitate (%)	Specificitate (%)	VPP	VPN	Acuratețe
Extensie extraprostatică bilaterală	84.62% (65.13-95.64%)	59.09% (36.35-79.29%)	70.97% (59.04-80.57%)	76.47% (55.29-89.52%)	72.92% (58.15-84.72%)
DHEA $\geq$ 2.75 ng/ml	69.23% (48.21-85.67%)	81.82% (59.72-94.81%)	81.82% (64.14-91.88%)	69.23% (55.02-80.54%)	75% (60.40-86.36%)
Fuziunea TMPRSS2:ERG	23.08% (8.97-43.65%)	90.91% (70.84-98.88%)	75% (40.19-93%)	50% (43.82-56.18%)	54.17% (39.17-88.83%)
VPP- valoare predictivă pozitivă; VPN- valoare predictivă negativă;					

Curbele de supraviețuire Kaplan-Meier generate pentru fiecare parametru identificat ca fiind factor de risc independent privind apariția recăderii biochimice

Curbele de supraviețuire Kaplan-Meier generate pentru fiecare parametru identificat ca fiind factor de risc independent privind apariția recăderii biochimice (prezența extensiei extraprostatice bilaterale, nivelul seric al DHEA, și prezența genei de fuziune TMPRSS2:ERG) sunt prezentate în **Figurile 2,3,4**.

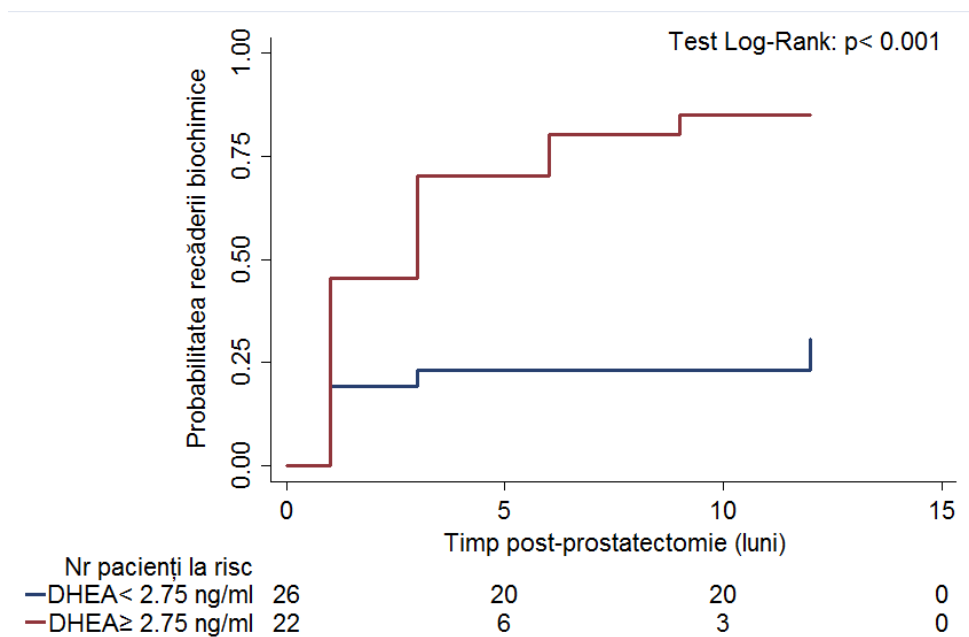


Figura 2. Curba de supraviețuire Kaplan-Meier privind riscul de apariție a recăderii biochimice în grupul de pacienți cu un nivel seric al DHEA < 2.75 ng/ml vs. grupul pacienților cu un nivel seric al DHEA ≥ 2.75 ng/ml ($p < 0.001$).

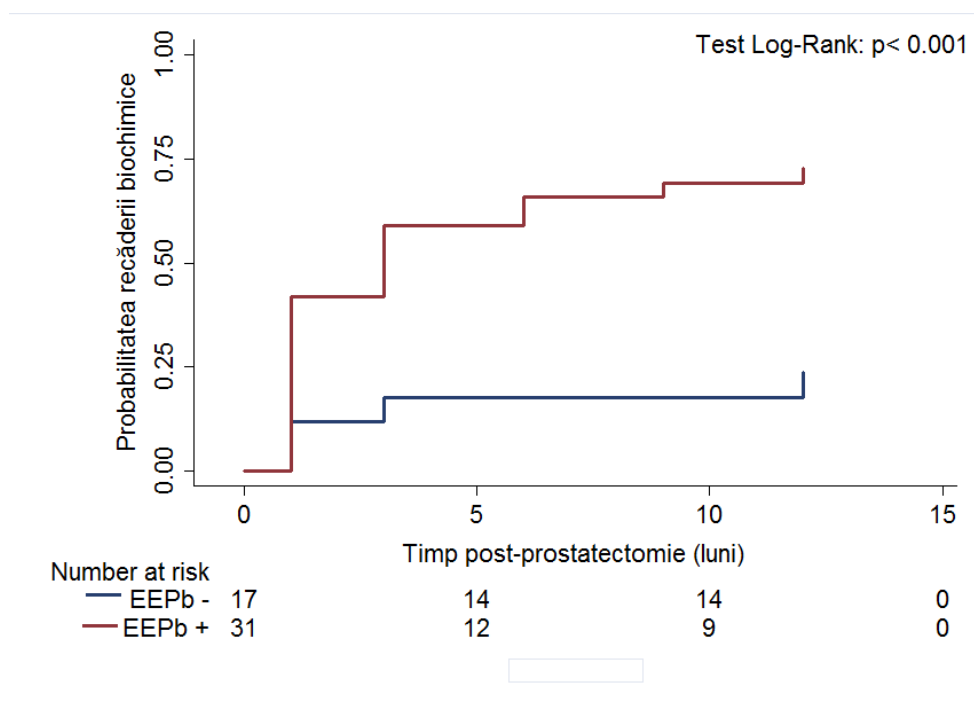


Figura 3. Curba de supraviețuire Kaplan-Meier privind riscul de apariție a recăderii biochimice în grupul de pacienți cu extensie extraprostatică bilaterală vs. grupul pacienților fără extensie extraprostatică bilaterală ($p < 0.001$).

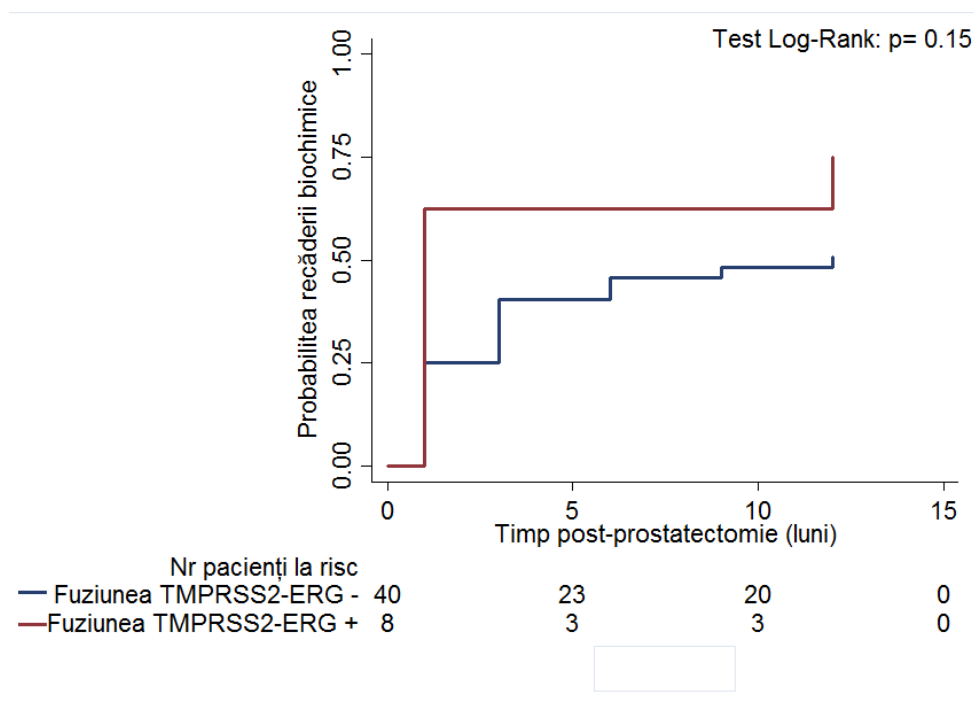


Figura 4. Curba de supraviețuire Kaplan-Meier privind riscul de apariție a recăderii biochimice în grupul de pacienți cu gena de fuziune TMPRSS2:ERG prezentă vs. grupul pacienților fără prezența genei de fuziune TMPRSS2:ERG ($p = 0.15$).

Discutii

În ciuda lipsei de consens care să definească strategia optimă de urmărire a pacienților cu CPRC, antigenul specific prostatic (PSA) rămâne instrumentul principal pentru evaluarea recurenței bolii după PR. Imagistica convențională pare a fi inutilă pentru diagnosticul bolii recurente într-o etapă suficient de timpurie iar tehnicile de imagistică nou dezvoltate, în principal în domeniul medicinei nucleare, ar putea contribui în viitor la îmbunătățirea detecției recidivei locale sau la distanță.

PSA este instrumentul central pentru diagnosticul recurenței, dar nu există un consens cu privire la cel mai bun prag seric al PSA pentru a defini recăderea biochimică. Definirea strictă a recăderii biochimice este importantă pentru identificarea pacienților cu risc de progresie a bolii și pentru a permite raportarea uniformă a rezultatelor diverselor terapii în studiile clinice.

Standardizarea recăderii biochimice după intervenția chirurgicală a fost intens studiată în ultimii ani. În condițiile bolii localizate, nivelul seric al PSA trebuie să ajungă la o valoare nedetectabilă după efectuarea PR. Studiile au arătat că pacienții obțin un nivel PSA nedetectabil la aproximativ 4 săptămâni după intervenția chirurgicală, iar timpul de înjumătățire plasmatică al PSA este de aproximativ 3.2 zile. În plus, creșterea nivelului seric al PSA-ului după obținerea valorii nedetectabile este primul semn al bolii recurente.

Mai mult de 50 de definiții ale recăderii biochimice pot fi găsite în literatură. Credem că, valoarea serică a PSA ≥ 0.2 ng/mL detectată postoperator ar trebui să fie valoarea de referință, deoarece este cea mai frecvent întâlnită definiție în literatură și în studiile clinice efectuate recent. Mai mult, AUA dar și EAU recomandă pragul de 0.2 ng/ml în definirea recăderii biochimice după PR.

Numeroase studii au raportat rezultate excelente după PR pentru tratamentul primar al CPRC, cum ar fi îmbunătățirea supraviețuirii specifice și scăderea riscului de progresie a bolii. Mai mult, datele arată că PR poate vindeca până la 20% dintre pacienții cu CPRC. Problema rămâne selecția pacienților care beneficiază cel mai mult de terapia chirurgicală.

În ciuda acestor rezultate favorabile, până la 40% din pacienții cu CP vor fi diagnosticați cu recădere biochimică după intervenția chirurgicală. În studiul nostru, 54.2% din pacienți au dezvoltat recădere biochimică, definită prin detectarea unor valori de PSA ≥ 0.2 ng/ml postoperator. Cu toate că, pacienții incluși în studiul nostru au respectat criteriile de clasificare a grupului de risc crescut conform criteriilor D'Amico, 43.8% au avut PSA inițial ≥ 20 ng/ml iar 52.1% au avut scorul Gleason ≥ 8 . În plus, discrepanțele

între scorul Gleason pre și postoperator ar putea explica incidența mare a recăderii biochimice în lotul nostru.

Mai mulți factori preoperatori au fost evaluați pentru riscul de recădere biochimică după PR. Pacienții cu nivele serice ale PSA ≥ 20 ng/ml au un risc de 3.7 ori mai mare în comparație cu pacienții cu nivele serice < 6 ng/ml pentru a dezvolta recădere biochimică postoperatorie [35]. Studiile recente au arătat că valorile crescute de PSA nu se corelează întotdeauna cu stadiul tumoral avansat sau recăderea biochimică. În grupul nostru de pacienți, valoarea mediană a PSA-ului sau PSA-ul peste 20 ng/ml nu au prezentat corelații semnificative cu riscul de recădere biochimică. Scorul Gleason primar sau secundar a fost de asemenea asociat cu un risc crescut de recădere biochimică, precum și cu riscul de progresie metastatică sau mortalitate specifică. Și pentru acest factor de predicție au fost raportate date contradictorii. În timp ce unii autori au arătat că scorul Gleason ≥ 8 este asociat cu o creștere de 3.3 a riscului de recădere biochimică [36], alții nu au găsit această asociere semnificativ statistică. Scorul Gleason preoperator nu a fost un factor de risc pentru recăderea biochimică în studiul nostru, posibil datorită faptului că raportarea scorului biptic poate să nu corespundă estimării reale, mai mulți pacienți din studiu fiind incluși pe baza rezultatelor biptice raportate în altă unitate. De aceea, reevaluarea fragmentelor de biopsie prostatică de către un anatomopatolog cu experiență poate fi necesară pentru aprecierea corectă a valorii predictive a acestui parametru. În studiul nostru, valoarea mediană a scorului Gleason postoperator a fost la limita semnificației statistice mai mare în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică ($p = 0.08$).

De asemenea, alți parametrii patologici postoperatorii au fost analizați în relație cu riscul de recădere biochimică.

Extensia extraprostatică (pT3a sau mai mare) pare să influențeze recăderea biochimică, dar nu este un factor independent pentru mortalitatea specifică cancerului [36,37]. Extensia extraprostatică crește riscul recăderii biochimice de 1.5 ori față de boala limitată. Mai mult, extensia extraprostatică este un predictor independent al recăderii biochimice în CP pT3a, chiar și fără margini de rezecție pozitive. Cu toate acestea, diferența dintre extensia extraprostatică focală și non-focală nu are niciun impact asupra mortalității specifice sau a supraviețuirii globale [38]. În studiul nostru, pacienții cu recădere biochimică în perioada de urmărire au prezentat mai frecvent la examenul histopatologic extensie extraprostatică comparativ cu grupul control ($p = 0.02$). Mai mult, prezența extensiei extraprostatice bilaterale la examenul histopatologic s-a asociat cu o creștere de 3.6 ori a riscului de recădere biochimică.

Inviaza veziculelor seminale (pT3b) după PR a fost asociată istoric cu un prognostic slab, deoarece aceste tumori au de obicei volume mari, sunt slab diferențiate și au tendința de a avea o incidență mai mare a extensiei extracapsulare. Prezența acestui parametru mărește riscul de recădere biochimică la 2.3 ori [36,37]. Cu toate acestea, unii autori au găsit un subgrup de pacienți cu invazia izolată a veziculelor seminale și margini chirurgicale negative, ganglioni limfatici negativi, scor Gleason mic precum și PSA seric mic, care au avut prognostic favorabil [39]. În studiul nostru, invazia veziculelor seminale unilaterală sau bilaterală a fost asociată semnificativ statistic cu recăderea biochimică ($p = 0.004$).

Din punct de vedere oncologic, prezența marginilor de rezecție pozitive la specimenul de PR indică teoretic controlul local inadecvat al bolii neoplazice. Studiile retrospective au sugerat că prezența marginilor de rezecție pozitive sunt un factor de risc pentru recăderea biochimică [40]. Astfel, marginile de rezecție pozitive au fost asociate cu creșterea rezultatelor negative în mai multe studii și majoritatea investigatorilor consideră acest parametru ca un predictor independent de recurență după PR [41]. Cu toate acestea, alte studiile au contestat aceste constatări [42]. Mai mult, datele indică faptul că, atunci când caracteristicile patologice nefavorabile, cum ar fi gradul Gleason 4/5, invazia veziculelor seminale sau invazia ganglionară sunt prezente, acest parametru nu mai are un rol semnificativ în determinarea rezultatelor clinice [43]. În grupul nostru de pacienți, prezența marginilor de rezecție pozitivă nu s-a corelat semnificativ statistic cu recăderea biochimică.

Pacienții cu adenopatii pozitive au rate de recurență de 1.7 ori mai mari în comparație cu absența invaziei ganglionare. Metastazele ganglionare pot crește mortalitatea specifică în mai mult de 40% de cazuri în urmărirea pe termen lung [37]. Timpul până la progresia tumorală este semnificativ corelat cu numărul de adenopatii pozitive. Bărbații cu invazie ganglionară minimă care sunt tratați prin PR cu limfodisecție ganglionară extinsă pot rămâne fără recădere biochimică mai mult de 10 ani [44]. În studiul nostru, nu a fost înregistrată o diferență semnificativă în ceea ce privește prezența invaziei ganglionare între cele două grupuri (46.2% vs. 27.3%, $p = 0.17$).

Inviaza perineurală raportată la examenul patologic ca factor de prognostic este aparent o cale prin care CP se extinde în afara glandei. Similar altor studii privind valoarea prognostică a acestui parametru asociat recăderii biochimice, în studiul nostru nu a existat o corelație semnificativă între prezența invaziei perineurale la examenul patologic al specimenului de PR și riscul de recădere biochimică [45].

În 2005, Tomlins și colab. [46] au descoperit o fuziune genică, specifică CP, între gena TMPRSS2 care codifică o serin protează transmembranară de tip II prezentă în celulele prostatei, reglată de hormonii androgeni, și gena ERG. Cele mai multe studii care au analizat pacienții tratați cu PR nu au prezentat nicio corelație între prezența genei de fuziune și riscul de recădere biochimică sau mortalitate specifică. Contrar celor raportate până în prezent, în studiul nostru prezența genei de fuziune TMPRSS2:ERG s-a asociat cu o creștere de 2.97 ori a riscului de recădere biochimică.

Mai multe studii au analizat relația dintre nivelul seric scăzut al testosteronului și riscul recăderii biochimice după PR, dar nu au reușit să demonstreze o asociere semnificativă între nivelul seric scăzut al testosteronului și recăderea biochimică sau progresia tumorală post-PR [29,30,31]. Cu toate acestea, în studiul nostru, nivelul seric al testosteronului a fost semnificativ statistic mai mic în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică în perioada de urmărire comparativ cu grupul pacienților la care evoluția nu a fost complicată de apariția acestui eveniment (3.5 ± 2.2 vs. 4.8 ± 2 , $p = 0.04$). Mai mult, nivelul seric al dehidroepiandrosteronului a fost semnificativ statistic mai mare în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică în perioada de urmărire comparativ cu grupul pacienților cu evoluție necomplicată de apariția acestui eveniment ($p = 0.005$). În plus, fiecare creștere cu un 1.0 ng/mL a nivelului seric al dehidroepiandrosteronului (DHEA) a fost asociată cu o creștere de 1.15 ori a riscului de recădere biochimică. La un nivel prag de 2.75 ng/mL, valoarea nivelului seric al DHEA identifică corect pe cei care dezvoltă recădere biochimică cu o sensibilitate de 69.2% și o specificitate de 81.8%.

Polimorfismele genice prezentate și evaluate în studiul 1 al tezei de doctorat pentru predicția rezultatelor patologice nefavorabile (HOXB13, KLK2-KLK3, 17p12, SLCO2B1, SLCO2B3), au fost asociate modest cu agresivitatea CP sau mortalitatea specifică în unele studii clinice. Analiza noastră nu a arătat însă o asociere semnificativ statistică cu recăderea biochimică.

Relația dintre nivelul de variație genică în CYP17, genele PSA și CP a fost intens studiată. Deoarece polimorfismul CYP17 este considerat a afecta activitatea promotorului CYP17, creșterea în activitatea CYP17 poate crește biodisponibilitatea testosteronului și a DHT, metabolitul său. Ulterior, complexul DHT-AR (DHT-receptor de androgen) se poate lega la elementele de răspuns androgenic ale genei PSA și poate iniția transcrierea genei PSA, afectând astfel nivelul seric al PSA. Gena citocrom P-450c17 α (CYP17), localizată pe cromozomul 10q24.3 codifică enzima citocrom P-450c17 α , care funcționează în etape

cheie ale biosintezei hormonilor steroizi în glanda suprarenală, ovar și gonade. Mai precis citocrom P-450c17 α mediază atât activitatea steroid 17 α -hidroxilazei care convertește pregnenolon la dehidroepiandrosteron, cât și activitatea 17,20-liazei, care generează androstenedion din progesteron. Acești androgeni pot fi convertiți ulterior la estronă, testosteron și estradiol. Descoperirea de polimorfisme ale genei CYP17 au determinat investigarea rolului acestor variante genice în etiologia unor boli androgen-dependente, inclusiv CP. Determinarea genotipului poate stabili dacă acesta influențează metabolismul hormonal. Dintre polimorfismele CYP17 cel mai studiat și probabil cu cea mai mare influență asupra activității genei și proteinei este prezent la nivelul promotorului în regiunea 5'-UTR. Acest polimorfism implică modificarea unei singure baze (T→C) în regiunea promotorului, la distanță de 34 perechi de baze în aval de startul situsului de transcriere. Varianta crează un situs de recunoaștere pentru enzima de restriție MspAI. În literatură alela sălbatică este numită A1, iar varianta alelică -34T→C, este numită A2. Ca urmare, homozigoția pentru alela sălbatică este notată A1A1 (în loc de CC), heterozigoția este notată A1A2 (în loc de CT), iar homozigoția pentru varianta alelică este notată A2A2 (în loc de TT).

PSA este un membru al familiei de kalikreine tisulare, gena PSA fiind localizată în cromozomul 19q13.4. Multe studii epidemiologice și clinice susțin ideea că variații în genele PSA și CYP 17 pot juca un rol în dezvoltarea CP sau în agresivitatea bolii. Rezultatele contradictorii din literatură [47,48,49] ne-au determinat să evaluăm asocierea dintre aceste variante genetice și recăderea biochimică la pacienții din România cu CPRC, supuși PR. În studiul nostru, nu a existat o asociere semnificativ statistic între polimorfismele CYP 17 și ale genei PSA cu recăderea biochimică.

Analiza simultană a unui panel de biomarkeri pentru predicția recăderii biochimice și caracterul prospectiv sunt punctele forte ale studiului de față. Cu toate acestea, când analizăm rezultatele cercetărilor efectuate trebuie să luăm în considerare și caracteristicile lotului, numărul mic de pacienți și posibilitatea combinării parametrilor preoperatorii și postoperatorii sau includerea altor factori de risc pentru a putea prezice cu acuratețe mare recăderea biochimică. Datorită faptului că recăderea biochimică este considerată un marker surrogat pentru aprecierea rezultatului oncologic după PR, va fi util să analizăm puterea de predicție a parametrilor preoperatorii și postoperatorii pentru a prezice riscul de progresie metastatică sau deces prin CP, evenimente considerate mult mai importante din punct de vedere clinic.

CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

CPRC cuprinde un grup heterogen de pacienți cu un prognostic neuniform. Lipsa de consens asupra unei definiții precise a acestui grup de pacienți împiedică luarea deciziilor clinice și consilierea adecvată a pacienților. Factorii actuali de prognostic utilizați în practica clinică sunt insuficienți pentru a putea caracteriza comportamentul agresiv al CP. Astfel, caracterizarea incorectă a riscurilor, bazată doar pe parametrii din clasificarea D'Amico, ar putea conduce la un management necorespunzător.

În epoca medicinei moderne și a tratamentului personalizat, pentru a lua o decizie în cunoștință de cauză, pacienții doresc să știe mai multe despre boala lor și despre rezultatele diferitelor terapii, iar medicii au nevoie de o caracterizare clinică și moleculară mai precisă pentru o consiliere adecvată. Mai mulți biomarkeri au fost extensiv studiați și ar putea fi folosiți în practica clinică pentru a caracteriza comportamentul agresiv al CP, astfel încât, medicii împreună cu pacienții lor să poată lua decizii asupra celui mai bun tratament sau management după inițierea tratamentului primar. În contextul medicinei personalizate, analiza expresiei genice va avea cu siguranță în următorii ani un loc important în arsenalul de diagnostic și management al pacienților cu CPRC.

Datorită subiectelor și obiectivelor abordate, acest proiect va avea un impact clinic important, luând în considerare faptul că s-a concentrat pe prognosticul evoluției pacienților cu CPRC tratați prin PR, pentru care definirea unei strategii corespunzătoare de tratament este esențială. Cel mai important beneficiu al proiectului este reprezentat de analiza simultană a unui panel de biomarkeri serici și tisulari, la același pacient, care poate ajuta medicii în luarea deciziilor clinice privind predicția stadiului patologic final și stabilirea riscului de recidivă biochimică după intervenția chirurgicală.

Prin activitățile de cercetare realizate în cadrul acestei teze de doctorat și analiza complexă a rezultatelor privind studiul factorilor predictivi asociați stadiului patologic final și recăderii biochimice după PR, concluzionăm următoarele privind importanța biomarkerilor serici și tisulari studiați:

1. **Vârsta** pacienților din studiu s-a corelat slab pozitiv cu tipul histopatologic al tumorii;

2. **Valoarea PSA-ului seric preoperator** s-a corelat pozitiv cu prezența adenopatiilor pozitive și cu prezența invaziei ganglionare în mai mult de 2 ganglioni la examenul anatomopatologic;

3. **Valoarea scorului Gleason preoperator** s-a corelat pozitiv cu scorul Gleason patologic, moderat pozitiv cu prezența invaziei ganglionare, moderat pozitiv cu prezența invaziei veziculelor seminale și cu prezența invaziei bilaterale a veziculelor seminale;

4. **Stadiul clinic T** s-a corelat pozitiv cu prezența extensiei extraprostatice și cu prezența unei invazii bilaterale a veziculelor seminale; **stadiul clinic $T \geq cT3a$** s-a asociat din punct de vedere statistic cu un **prognostic patologic nefavorabil**; **prezența unui stadiu clinic $T \geq cT3a$** a fost parametrul reținut în modelul final fiind asociat independent cu prognostic histologic nefavorabil. **Prezența unui stadiu clinic $T \geq cT3a$ s-a asociat cu o creștere de 4.71 ori a riscului de prognostic patologic nefavorabil. Mai mult, prezența unui stadiu clinic $T \geq cT3a$ identifică cu o sensibilitate de 67.74% și o specificitate de 64.71% pacienții cu un prognostic patologic nefavorabil;**

5. **Nivelul seric al dehidroepiandrosteronului** s-a corelat pozitiv semnificativ din punct de vedere statistic cu prezența extensiei extraprostatice;

6. **Numărul de repetiții CAG < 22** a fost asociat semnificativ statistic cu **prognosticul patologic nefavorabil**;

7. **54.2% din pacienți au dezvoltat recădere biochimică, majoritatea (57.7%) în prima lună după intervenția chirurgicală;**

8. Pacienții care au dezvoltat în perioada de urmărire **recădere biochimică** au fost în principal **mai tineri**;

9. Valoarea mediană a scorului Gleason postoperator a fost la limita semnificației statistice mai mare în grupul pacienților care au dezvoltat recădere biochimică;

10. Pacienții cu recădere biochimică în perioada de urmărire au prezentat mai frecvent la examenul histopatologic extensie extraprostatică comparativ cu grupul control;

11. **Invazia veziculelor seminale unilaterală sau bilaterală** a fost asociată semnificativ statistic cu **recăderea biochimică**;

12. **Nivelul seric al testosteronului** a fost semnificativ statistic mai mic în grupul pacienților care au dezvoltat **recădere biochimică** în perioada de urmărire comparativ cu grupul pacienților la care evoluția nu a fost complicată de apariția acestui eveniment;

13. **Nivelul seric al dehidroepiandrosteronului** a fost semnificativ statistic mai mare în grupul pacienților care au dezvoltat **recădere biochimică** în perioada de urmărire comparativ cu grupul pacienților cu evoluție necomplicată de apariția acestui eveniment.

Fiecare creștere cu un 1.0 ng/mL a nivelului seric al dehidroepiandrosteronului (DHEA) a fost asociată cu o creștere de 1.15 ori a riscului de recădere biochimică. Analiza curbei ROC a permis și identificarea nivelului prag (*cut-off*) pentru nivelul seric al DHEA, și a arătat că la un nivel prag de 2.75 ng/mL, valoarea nivelului seric al DHEA identifică corect pe cei care dezvoltă recădere biochimică cu o sensibilitate de 69.2% și o specificitate de 81.8%.

14. **Prezența extensiei extraprostatice bilaterale** la examenul histopatologic s-a asociat cu o creștere de 3.64 ori a riscului de **recădere biochimică**.

15. Prezența prezența genei de fuziune **TMPRSS2:ERG** s-a asociat cu o creștere de 2.97 ori a riscului de **recădere biochimică**.

16. Analiza curbei ROC a arătat că nivelul seric al DHEA-ului identifică cu o precizie mai mare decât prezența extensiei extraprostatice bilaterale și genei de fuziune TMPRSS2:ERG grupul de pacienți care dezvoltă recădere biochimică.

Bibilografie:

1. Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014. CA Cancer J Clin 2014; 64:9–29.
2. Siegel RL, Miller KD and Jemal A: Cancer Statistics, 2017. CA Cancer J Clin 2017; 67: 7.
3. Cooperberg MR, Cowan J, Broering JM, Carroll PR. High-risk prostate cancer in the United States, 1990-2007. World J Urol 2008; 26:211–8
4. N. Mottet (Chair), R.C.N. van den Bergh, E. Briers (Patient Representative) et. al. EAU – ESTRO – ESUR – SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Publisher: EAU Guidelines Office. Place published: Arnhem, The Netherlands, 2017: <http://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/>
5. Campbell-Walsh Urology Tenth Edition. Alan J. Wein, Louis R. Kavoussi, Andrew C. Novick, Alan W. Partin and Craig A. Peters. Saunders, 2011; 10th revised edition, hardback, 4320 pages; ISBN-10: 1416069119, ISBN-13: 978-1416069119
6. Pietzak EJ, Eastham JA. Neoadjuvant Treatment of High-Risk, Clinically Localized Prostate Cancer Prior to Radical Prostatectomy. Curr Urol Rep. 2016 May;17(5):37. doi: 10.1007/s11934-016-0592-4.
7. NCCN 2015.Prostate Cancer Guidelines
https://www.nccn.org/store/login/login.aspx?ReturnURL=http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf

8. Morlacco A, Karnes RJ. High-risk prostate cancer: the role of surgical management. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 Jun; 102:135-43. Epub 2016 Apr 27.
9. S.B. Stewart, S.A. Boorjian. Radical prostatectomy in high-risk and locally advanced prostate cancer: Mayo Clinic perspective. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* (2014) 1–10
10. Hull GW, Rabbani F, Abbas F, et al. Cancer control with radical prostatectomy alone in 1,000 consecutive patients. *J Urol* 2002; 167:528–34
11. Cookson MS, Aus G, Burnett AL, et al. Variation in the definition of biochemical recurrence in patients treated for localized prostate cancer: the American Urological Association Prostate Guidelines for Localized Prostate Cancer Update Panel report and recommendations for a standard in the reporting of surgical outcomes. *J Urol* 2007; 177:540–5
12. Wysock JS, Mendhiratta N, Zattoni F et al: Predictive value of negative 3T multiparametric magnetic resonance imaging of the prostate on 12-core biopsy results. *BJU Int* 2016; 118: 515.
13. A. Preda, C. Gingu, M. Harza, C. Baston, S. Voinea, C. Dudu, B. Haineala, G. Ismail, I. Sinescu. Radical Prostatectomy for High Risk Prostate Cancer: The Role of Contemporary Predictive Models in Clinical Practice. *Editorial Revista Romana de urologie* nr 2/2015.vol14.
14. Stamey T.A. et al. Prostate specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. II. Radical prostatectomy treated patients. *J Urol*, 1989. 141: 1076.
15. Zagars GK1, Pollack A, von Eschenbach AC. Prognostic factors for clinically localized prostate carcinoma: analysis of 938 patients irradiated in the prostate specific antigen era. *Cancer*. 1997 Apr 1;79(7):1370-80.
16. Boorjian SA, Karnes RJ, Rangel LJ, Bergstralh EJ, Blute ML. Mayo Clinic validation of the D'Amico risk group classification for predicting survival following radical prostatectomy. *J Urol*. 2008 Apr;179(4):1354-60; discussion 1360-1. doi: 10.1016/j.juro.2007.11.061. Epub 2008 Mar 4.
17. Stenman UH, Abrahamsson PA, Aus G, Lilja H, et al. Prognostic value of serum markers for prostate cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl*. 2005 May;(216):64-81.
18. Stamey TA, Caldwell M, McNeal JE, et al. The prostate specific antigen era in the United States is over for prostate cancer: what happened in the last 20 years? *J Urol* 2004;172(4 Pt. 1):1297–301.

19. A. Preda, C. Gîngu, C. Baston, S. Voinea, C. Dudu, A. Dick, B. Sorohan, G. Ismail, I. Sinescu. Predictors of unfavorable pathological outcome in patients undergoing radical prostatectomy for high risk prostate cancer. *Revista Română de Urologie*, 2017, vol.16, nr. 4, pag.7-10, ISSN: 1223-0650.
20. Zwergel U, Suttman H, Schroeder T, et. al. Outcome of prostate cancer patients with initial PSA> or =20 ng/ml undergoing radical prostatectomy. *Eur Urol*. 2007 Oct;52(4):1058-65. Epub 2007 Mar 28.
21. Van Poppel H, Joniau S. An analysis of radical prostatectomy in advanced stage and high-grade prostate cancer. *Eur Urol*. 2008 Feb;53(2):253-9. Epub 2007 Oct 12.
22. Martin NE, Mucci LA, Loda M, Depinho RA. Prognostic determinants in prostate cancer. *Cancer J*. 2011;17(6):429-437.
23. Gosselaar C, Roobol MJ, Roemeling S, et al. The role of the digital rectal examination in subsequent screening visits in the European randomized study of screening for prostate cancer (ERSPC), Rotterdam. *Eur Urol* 2008; 54:581–8.
24. Cooperberg MR, Pasta DJ, Elkin EP et al. The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy. *J. Urol*. 2005; 173: 1938–42
25. Briganti A, Spahn M, Joniau S, Gontero P, Bianchi M, Kneitz B, Chun FK, Sun M, Graefen M, Abdollah F, Marchioro G, Frohenberg D, Giona S, Freja B, Karakiewicz PI, Montorsi F, Van Poppel H, Jeffrey Karnes R, European Multicenter Prostate Cancer Clinical and Translational Research Group (EMPaCT). Impact of age and comorbidities on long-term survival of patients with high-risk prostate cancer treated with radical prostatectomy: a multi-institutional competing-risks analysis. *Eur Urol*. 2013 Apr;63(4):693-701. Epub 2012 Sep 5
26. Smith, C. V., Bauer, J. J., Connelly, R. R., Seay, T., Kane, C., Foley, J. et al: Prostate cancer in men age 50 years or younger: a review of the Department of Defense Center for Prostate Disease Research multicenter prostate cancer database. *J Urol*, 164: 1964, 2000
27. Khan, M. A., Han, M., Partin, A. W., Epstein, J. I. and Walsh, P. C.: Long-term cancer control of radical prostatectomy in men younger than 50 years of age: update 2003. *Urology*, 62: 86, 2003.
28. Hoffman MA, DeWolf WC, Morgentaler A, et al. Serum free testosterone a marker for high-grade prostate cancer? *J Urol*. 2000; 163:824-827.
29. Isom-Batz G, Bianco FJ Jr, Kattan MW, et al. Testosterone as a predictor of pathological stage in clinically localized prostate cancer. *J Urol*. 2005; 173:1935-1937.

30. Teloken C, Da Ross C, Caraver F, et al. Low serum testosterone levels are associated with positive surgical margins in radical retropubic prostatectomy: Hypogonadism represents bad prognosis in prostate cancer. *J Urol*. 2005; 174:2178-2180.
31. Massengill JC, Sun L, Moul JW, et al. Pretreatment total testosterone level predicts pathological stage in patients with localized prostate cancer treated with radical prostatectomy. *J Urol*. 2003;169:1670-1675.
32. San Francisco IF, Regan MM, Dewolf WC, et al. Low age adjusted free testosterone levels correlate with poorly differentiated prostate cancer. *J Urol*. 2006; 175:1341, 1345-1346.
33. Morote J, Planas J, Salvador C, Raventos CX, Catalan R, Reventos J. Individual variations of serum testosterone in patients with prostate cancer receiving androgen deprivation therapy. *BJU Int* 2009; 103(3):332-335.
34. Paz-Y-Miño C, Robles P, Salazar C, Leone PE, García-Cárdenas JM, Naranjo M, López-Cortés A. Positive association of the androgen receptor CAG repeat length polymorphism with the risk of prostate cancer. *Mol Med Rep*. 2016 Aug;14(2):1791-8. doi: 10.3892/mmr.2016.5414. Epub 2016 Jun 21.
35. Freedland SJ, Sutter ME, Dorey F, Aronson WJ. Defining the ideal cutpoint for determining PSA recurrence after radical prostatectomy. *Prostate-specific antigen. Urology*. 2003;61:365–369.
36. Cooperberg MR, Hilton JF, Carroll PR. The CAPRA-S score: A straightforward tool for improved prediction of outcomes after radical prostatectomy. *Cancer*. 2011 Nov 15;117(22):5039-46. doi: 10.1002/cncr.26169. Epub 2011 Jun 3.
37. Eggener SE, Scardino PT, Walsh PC, Han M, Partin AW, Trock BJ, et al. Predicting 15-year prostate cancer specific mortality after radical prostatectomy. *J Urol*. 2011;185:869–875.
38. Maubon T, Branger N, Bastide C, Lonjon G, Harvey-Bryan KA, Validire P, et al. Impact of the extent of extraprostatic extension defined by Epstein's method in patients with negative surgical margins and negative lymph node invasion. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2016;19:317–321.
39. Freedland SJ, Aronson WJ, Presti JC, Jr, Amling CL, Terris MK, Trock B, et al. Predictors of prostate-specific antigen progression among men with seminal vesicle invasion at the time of radical prostatectomy. *Cancer*. 2004;100:1633–1638.
40. Eastham JA, Kuroiwa K, Ohori M, et al. Prognostic significance of location of positive surgical margins in radical prostatectomy specimens. *Urology* 2007;70:965–9.

41. Pfitzenmaier J, Pahernik S, Tremmel T, Haferkamp A, Buse S, Hohenfellner M. Positive surgical margins after radical prostatectomy: do they have an impact on biochemical or clinical progression? BJU Int 2008;102:1413–8.
42. Vis AN, Schroeder FH, van der Kwast TH. The actual value of the surgical margin status as a predictor of disease progression in men with early prostate cancer. Eur Urol 2006;50:258–65.
43. Simon MA, Kim S, Soloway MS. Prostate specific antigen recurrence rates are low after radical retropubic prostatectomy and positive margins. J Urol 2006;175:140–4.
44. Zwergel U, Lehmann J, Wullich B, Schreier U, Remberger K, Zwergel T, et al. Lymph node positive prostate cancer: long-term survival data after radical prostatectomy. J Urol. 2004;171:1128–1131.
45. Thompson IM, Salem S, Chang SS, et al. Tumor volume as a predictor of adverse pathologic features and biochemical recurrence (BCR) in radical prostatectomy specimens: a tale of two methods. World J Urol 2011;29:15–20.
46. Tomlins SA, Day JR, Lonigro RJ, et al. Urine TMPRSS2:ERG plus PCA3 for individualized prostate cancer risk assessment. Eur Urol 2016;70(1):45–53.
47. Sivoňová MK, Dobrota D, Dušenka R, Waczulíková I, Slezák P, Matáková T, Mahmoodová S, Mištuna D, Kliment J. Effect of CYP17 and PSA gene polymorphisms on prostate cancer risk and circulating PSA levels in the Slovak population. Mol Biol Rep. 2012 Aug;39(8):7871-80. doi: 10.1007/s11033-012-1631-y. Epub 2012 Apr 22.
48. Wang F, Zou YF, Feng XL, Su H, Huang F. CYP17 gene polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis based on 38 independent studies. Prostate. 2011 Aug 1;71(11):1167-77. doi: 10.1002/pros.21332. Epub 2011 Jan 12.
49. Robles-Fernandez I, Martinez-Gonzalez LJ, Pascual-Geler M, Cozar JM, Puche-Sanz I, Serrano MJ, Lorente JA, Alvarez-Cubero MJ. Association between polymorphisms in sex hormones synthesis and metabolism and prostate cancer aggressiveness. PLoS One. 2017 Oct 5;12(10):e0185447. doi: 10.1371/journal.pone.0185447. eCollection 2017

Lista de lucrări științifice publicate

Cărți

1. Gîngu C., Baston C., **Preda A.** Prostatectomia radicală în cancerul de prostată local avansat și metastazat. Editura Pim, Iași, 341 pagini, 2015. ISBN: 978-606-13-2779-9.
9. Cap. 9 - CANCERUL DE PROSTATĂ LOCAL AVANSAT ȘI METASTAZAT, p. 153-186

Articole publicate în reviste de specialitate

1. **Preda A.**, C. Gîngu, M. Hârza, C. Baston, S. Voinea, C. Dudu, B. Hăineală, G. Ismail, I. Sinescu. Radical Prostatectomy for High Risk Prostate Cancer: The Role of Contemporary Predictive Models in Clinical Practice. Revista Română de Urologie, 2015, vol.14, nr.2, p.10-15. ISSN: 1223-0650 (CNCSIS-B+486)

Revista-urologia.ro/wp-content/uploads/2015/06/Radical-Prostatectomy-for-High-Risk-Prostate-Cancer-the-Role-of-Contemporary-Predictive-Models-in-Clinical-Practice.pdf

2. Tănase CP, Codrici E, Popescu ID, Mihai S, Enciu AM, Necula LG, **Preda A**, Ismail G, Albulescu R. (autori cu drepturi egale). Prostate Cancer Proteomics: Current Trends and Future Perspective for Biomarker Discovery. Oncotarget, Mar. 2017, 8(11):18497-18512, ISSN: 1949/2553. IF=5,168. PMID:28061466, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14501>

3. Dudu C, Hârza M, Toader C, Hăineală B, **Preda A**, Domnișor L, Baston C, Rădulescu MF, Sinescu I. LDR Brachytherapy for Localized Prostate Cancer-Five Year Results. Revista Română de Urologie, 2017, vol.16, nr.3, pag.5-8, ISSN: 1223-0650 (CNCSIS-B+486)

<http://revista-urologia.ro/wp-content/uploads/2018/03/LDR-Brachytherapy-for-Localized-Prostate-Cancer-%E2%80%93-Five-Year-Results.pdf>

4. Dudu C, Hârza M, Toader C, Hăineală B, **Preda A**, Domnișor L, Baston C, Rădulescu MF, Sinescu I. PSA Bounce Phenomenon After Brachytherapy Using Permanent 125Iodine Seeds Implantation. Revista Română de Urologie, 2017, vol.16, nr.3, pag.26-28, ISSN: 1223-0650 (CNCSIS-B+486)

<http://revista-urologia.ro/wp-content/uploads/2018/03/PSA-Bounce-Phenomenon-after-LDR-Brachytherapy-Using-Permanent-125-Iodine-Seeds-Implantation.pdf>

5. **Preda A.**, C. Gîngu, C. Baston, S. Voinea, C. Dudu, A. Dick, B. Sorohan, G. Ismail, I. Sinescu. Predictors of unfavorable pathological outcome in patients undergoing radical prostatectomy for high risk prostate cancer. Revista Română de Urologie, 2017, vol.16, nr. 4, pag.7-10, ISSN: 1223-0650 (CNCSIS-B+486)

<http://revista-urologia.ro/wp-content/uploads/2018/05/Predictors-of-unfavorable-pathological-outcome-in-patients-undergoing-radical-prostatectomy-for-high-risk-prostate-cancer.pdf>

Lucrări prezentate la manifestări științifice organizate de asociații profesionale naționale și internaționale

1. **Preda A.**, C. Gîngu, M. Hârza, C. Baston, S. Voinea, C. Dudu, G. Ismail, I. Sinescu. FACTORII DE RISC PENTRU RECĂDEREA BIOCHIMICĂ DUPĂ

PROSTATECTOMIA RADICALĂ LA PACIENȚII CU CANCER DE PROSTATĂ CU RISC ÎNALT. Al XXXI-lea Congres al Asociației Române de Urologie ROMURO 2015, București 17-20 iunie 2015. Rezumat publicat în Revista Română de Urologie, PN14, 2015, vol.14, nr.3, pag.142. ISSN: 1223-0650.CNCSIS: B+486.

2. C. Gîngu, A. Dick, M. Crășneanu, S. Ianiotescu, A. Andreșanu, C. Baston, **Preda A.**, A. Mihancea, A. Iordache, L. Domnișor, M. Mihai, I. Sinescu. ROLUL CHIRURGIEI ÎN TRATAMENTUL CANCERULUI DE PROSTATĂ LOCAL AVANSAT „VERY HIGH RISK”. Al XXXII-lea Congres al Asociației Române de Urologie ROMURO 2016, București 8-11 iunie 2016. Rezumat publicat în Revista Română de Urologie, PM2.1, 2016, vol.15, nr.2, pag.16. ISSN: 1223-0650.CNCSIS: B+486.

3. Popescu ID, Codrici E, Mihai S, Enciu AM, Albulescu R, Constantin N, Lopazan N, **Preda A**, Gener I, Tănase C. EVALUAREA NIVELULUI CITOKINELOR ÎN MANAGEMENTUL CANCERULUI DE PROSTATĂ. Sesiunea Științifică Anuală a Institutului Național de Patologie Victor Babeș - Al 9-lea Simpozion Național de Patologie - 129 de ani (1887 - 2016) - Tradiție, continuitate, inovație, 2016

4. C. Gîngu, A. Andreșanu, **Preda A.**, A. Dick, M. Crășneanu, S. Ianiotescu, A. Mihancea, A. Orezanu, C. Baston, Domnișor L., I. Sinescu. PROSTATECTOMIA RADICALĂ LA PACIENȚII CU INTERVENȚII ANTERIOARE PENTRU HBP. Al XXXIII-lea Congres al Asociației Române de Urologie ROMURO 2017, București 14-17 iunie 2017. Rezumat publicat în Revista Română de Urologie, PM2.5, 2017, vol.16, nr.2, pag.17. ISSN: 1223-0650.CNCSIS: B+486.

5. ID Popescu, E. Codrici, S. Mihai, AM Enciu, E. Codorean, R. Albulescu, **A. Preda**, Gener Ismail, C. Tănase. ASSESSMENT OF CYTOKINES LEVEL IN MANAGEMENT OF PATIENTS WITH PROSTATE CANCER. 42nd FEBS Congress - From molecules to cells and back, Jerusalem, Israel, 10-14 septembrie, 2017. The FEBS Journal, 284 (Suppl. 1) (2017) - 273, ISSN: 1742-464X, IF= 3.902; <https://doi.org/10.1111/febs.14174>

6. Pavel Anca Gabriela, Dimos Luiza, Achim Ruxandra, Gîngu Constantin, **Preda Adrian**, Gener Ismail, Becleanu Mirel, Stambouli Danae. BLOOD BIOMARKERS FOR RISK PREDICTION OF AGGRESSIVE PROSTATE CANCER PATIENTS – PRELIMINARY STUDY OF A ROMANIAN COHORT. 8th National Conference for Rare Diseases and Orphan Drugs & 12th Balkan Congress of Human Genetics”, Plovdiv, Bulgaria, 8-10 Sep. 2017

7. Suzana Vlădoiu, Dana Manda, Sabina Oros, Sorina Schipor, **Adrian Preda**, Ismail Gener, Catalina Picu, Roxana Roșca, Corin Badiu. STUDY OF CYP17 AND PSA G158A

POLYMORPHISMS IN PROSTATE CANCER. 19th European Congress of Endocrinology 2017, 20-23 May 2017, Lisbon, Portugal. Endocrine Abstracts (2017) 49 EP1094 | DOI:10.1530/endoabs.49.EP1094 - ISSN:1479-6848

Contracte de cercetare

Contract de finanțare nr. 192/2014.

Cod Proiect: PN-II-PT-PCCA-2013-4-1851

Acronim proiect: PROMETEU

Finanțare: Bugetul de stat

Autoritatea contractantă: Unitatea Executivă pentru Finanțarea Învățământului Superior, a Cercetării, Dezvoltării și Inovării

Contractor: Institutul Clinic Fundeni