



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικό και Καποδιστριακό
Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ KISSPERTIN ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ GPR54
ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ιωάννης Ξωξάκος

Ιατρός

ΑΘΗΝΑ 2020

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ KISSPEPTIN ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ GPR54 ΣΤΟΝ
ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ιωάννης Ξωξάκος

Ιατρός

ΑΘΗΝΑ 2020

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Παναγούλα Αγγελολιάννη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας

Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

Μιχάλης Κουτσιλιέρης

Καθηγητής Πειραματικής Φυσιολογίας

Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

Μαρία Κυριακοπούλου – Λυμπέρη

Καθηγήτρια Α΄ Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική

Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Μέλος Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

**στους γονείς μου,
στην οικογένεια μου,
στην Σοφία, στην Πηνελόπη και στην Φωτεινή.**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Πειραματικής Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Ευχαριστώ θερμά τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής τον Καθηγητή κ. Μιχάλη Κουτσιλιέρη, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα. Αγγελολογιάννη Παναγούλα και την Καθηγήτρια κα. Μαρία Κυριακοπούλου-Λυμπέρη για την συμβολή τους στην εκπόνηση της παρούσας διατριβής.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Κουτσιλιέρη για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση διεκπεραίωσης της διδακτορικής διατριβής. Ήταν μεγάλη μου τιμή η δυνατότητα που μου έδωσε να ενταχθώ στην ερευνητική του ομάδα και να γνωρίσω το άρτια οργανωμένο Τμήμα του Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας.

Επίσης ευχαριστώ ιδιαίτερα την αναπληρώτρια Καθηγήτρια κα Αγγελολογιάννη Παναγούλα για την επίβλεψη και την υποστήριξη στην εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Επιπλέον με την παρούσα ευκαιρία θα ήθελα να εκφράσω την απεριόριστη εκτίμηση και ευγνωμοσύνη προς την κα Κωνσταντίνα Πετράκη, πρώην Διευθύντρια του Νεφροπαθολογοανατομικού Τμήματος του Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός» και νύν Διευθύντρια του Παθολογοανατομικού Τμήματος του Νοσοκομείου Metropolitan. Η βοήθεια και συμπαράσταση που απλόχερα προσέφερε η κα. Πετράκη ήταν καθοριστική σε όλη την διάρκεια και σε όλα τα στάδια πραγματοποίησης της εργασίας. Χωρίς την πολύτιμη συμβολή της η παρούσα διατριβή δεν θα μπορούσε να έχει ολοκληρωθεί.

Ευχαριστώ τους συναδέλφους ιατρούς της Ουρολογικής Κλινικής του Νοσοκομείου «Ο Ευαγγελισμός» και ιδιαίτερα τον Διευθυντή της Ουρολογικής κλινικής κ. Στεφανάκη Στέφανο, καθώς και τον κ. Γρηγοράκη Αλκιβιάδη για την βοήθεια και την συμπαράστασή τους.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες επίσης οφείλω στον αναπληρωτή καθηγητή κ. Αρμακόλα Αθανάσιο για την σημαντική συμβολή του, καθώς και στον κ. Παύλο Μσάουελ για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ επίσης όλα τα μέλη και τους συνεργάτες του Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας για την άποψη και δημιουργική συνεργασία.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την συνεχή τους παρότρυνση, υποστήριξη και συμπαράσταση. Τους ευχαριστώ θερμά.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Ονοματεπώνυμο

ΞΩΞΑΚΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ

ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

Επιμελητής Β ουρολόγος ΕΣΥ - Ουρολογική κλινική
ΓΝΑ «Ο Ευαγγελισμός»

1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ - ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

- | | |
|----------------------|---|
| 10.2018
- σήμερα | Ουρολογική Κλινική - Νοσοκομείο ΓΝΑ "Ο Ευαγγελισμός"
ως επιμελητής Β ουρολόγος ΕΣΥ |
| 02.2017
- 10.2018 | Ουρολογική κλινική - Νοσοκομείο Siloah St. Trudpert Klinikum,
Center of minimally invasive Therapy – Robotic-assisted Surgery
Pforzheim, Βάδη -Βυτεμβέργη, Γερμανία
ως επιμελητής ειδικός ουρολόγος (Facharzt für Urologie) |
| 2013-2017 | Ουρολογική Κλινική - Νοσοκομείο ANregiomed - Klinikum Ansbach
Βαυαρία, Γερμανία
ως επιμελητής ειδικός ουρολόγος (Facharzt für Urologie) |
| 2009 - 2012 | <ul style="list-style-type: none">• Ουρολογική Κλινική – Γ.Ν.Α. "Ο Ευαγγελισμός"
ως ειδικευόμενος ιατρός Ουρολογίας• Παιδοουρολογική Κλινική – ΓΝ Παίδων «Η Αγία Σοφία»
ως ειδικευόμενος ιατρός (τμήμα ειδικότητας Ουρολογίας)• Κλινική Πλαστικής Χειρουργικής - Γ.Ν.Α. "Ο Ευαγγελισμός"
ως ειδικευόμενος ιατρός (τμήμα ειδικότητας Ουρολογίας) |
| 2007-2009 | Ουρολογική Κλινική – Γ.Ν. Κορίνθου
ως ειδικευόμενος ιατρός Ουρολογίας |

2007	Ιδιωτικό Θεραπευτήριο Ευρωθεραπεία – Αθήναιον ως ιατρός Χειρουργικού τομέα- βοηθός χειρουργός Γενικής Χειρουργικής
2007	Κεντρική Κλινική Αθηνών ως ιατρός Χειρουργικού τομέα – βοηθός χειρουργός Γενικής Χειρουργικής
2006 - 2007	Endolaser Ιατρική Α.Ε ως επιστημονικός συνεργάτης και βοηθός χειρουργός Λαπαροσκοπικής Γενικής και Βαριατρικής Χειρουργικής
2006 - 2007	Χειρουργική Κλινική – Γ.Ν. Άρτας ως ειδικευόμενος ιατρός Γενικής Χειρουργικής
2005 - 2006	Περιφερικό Ιατρείο Λεονταρίου, Δήμος Ταμασίου, Καρδίτσα Κέντρο Υγείας Σοφάδων – Γ. Ν. Καρδίτσας- υπηρεσία υπαίθρου
2004 - 2005	Χειρουργική-Παθολογική-Καρδιολογική Κλινική Γ.Ν. Καρδίτσας ως ειδικευόμενος ιατρός (τμήμα ειδικότητας Γενικής Χειρουργικής)

2. ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

05. 2013	Αναγνώριση τίτλου ειδικότητας ουρολογίας στην Γερμανία (Facharzt Anerkennung), Μόναχο, Βαυαρία, Γερμανία
02. 2013	Άδεια άσκησης ιατρικού επαγγέλματος Γερμανίας – (Approbation als Arzt), Βαυαρία, Γερμανία
06. 2012	Τίτλος Μέλους Ευρωπαϊκής Επιτροπής Ουρολογίας- Fellow of European Board of Urology (FEBU)
01. 2012	Τίτλος ειδικότητας Ουρολογίας – Δ/ση Δημόσιας Υγείας, Αττική
02. 2005	Αναγνώριση Τίτλου Σπουδών ΔΟΑΤΑΠ
06. 2004	Άδεια άσκησης ιατρικού επαγγέλματος Δ/ση Υγείας και Δημόσιας Υγιεινής - Νομαρχία Αττικής
10. 2001	Άδεια άσκησης ιατρικού επαγγέλματος Ουγγαρίας
1995 - 2001	Πτυχίο Ιατρικής αγγλόφωνου τμήματος Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Debrecen Ουγγαρίας (Faculty of Medicine University of Debrecen, Hungary)
06.1993	Ολοκλήρωση εγκυκλίων σπουδών, 3ο Γενικό Λύκειο Γαλατσίου Αττικής

3. ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλική – άριστο επίπεδο

Γερμανική – άριστο επίπεδο

Ιταλική

Ουγγρική

4. ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ – ΠΡΑΚΤΙΚΗ ΑΣΚΗΣΗ

09.2018	Da Vinci Robotic Urology Training Newcastle Training Center, Freeman Hospital, UK
06.2018	2nd ESU-ESUT Masterclass on Urolithiasis, Πάτρα
05.2018	Advanced Training in laparoscopic and robotic urology, Aalborg University Hospital, Denmark
02.2018	26th Workshop Ενδοουρολογίας (EndoUrologie) (ως εκπαιδευτής) Pforzheim, Germany
12.2017	ESU-ESUT Masterclass on Focal therapy for localised prostate cancer Cancer - Paris, France
10.2017	25th Workshop Ενδοουρολογίας (EndoUrologie) (ως εκπαιδευτής) Pforzheim Germany
07.2017	Update in urological medical tumour therapy, Pforzheim, Germany
03. 2017	24 th Workshop Ενδοουρολογίας (EndoUrologie) (ως εκπαιδευτής), Pforzheim Germany
11.2016	Ουρολογικές επεμβάσεις επανορθωτικής χειρουργικής (Rekonstruktive Urologische Operationen) Νοσοκομείο Essen (Kliniken Essen-Mitte), Γερμανία
07.2016	HoLEP & Greenlight Hands-on Training (ESU/ESUT Laser Hands-on training), EAU, Αθήνα
07.2016	Ureterorenoscopy Hands-on Training ESU/ESUT/EULIS URS Hands-on training, EAU, Αθήνα
07.2016	Συμμετοχή στο Ευρωπαϊκό Πρόγραμμα Εκπαίδευσης στην

	Βασική Λαπαροσκοπική Ουρολογία (E-BLUS), EAU, Αθήνα
07.2016	Laparoscopy - "Basic Laparoscopic Skills Hands-on Training ESU/ESUT Laparoscopy Hands on training, EAU, Αθήνα
11.2015	Πρόγραμμα Ακτινοπροστασίας (Strahlenschutz – Spezialkurs) Ειδικό Σεμινάριο ιατρικού κλάδου, Klinikum Nord, Nurnberg, Γερμανία
05.2015	Συμμετοχή σε ζωντανή χειρουργική επέμβαση (live surgery) ultra-mini- διαδερμικής νεφρολιθοτομής (ultra mini PCNL) Πανεπιστήμιο Freiburg, Γερμανία
03.2015	Ενδοσκοπική, Λαπαροσκοπική-Ρομποτική Χειρουργική στην Ουρολογία Ελληνική Ουρολογική Εταιρεία, Αθήνα
10.2013	Πρόγραμμα Ακτινοπροστασίας (Strahlenschutz - Grundkurs) Βασικό Σεμινάριο ιατρικού κλάδου, Klinikum Nord, Nurnberg, Γερμανία
09.2011	9 th EUREP Laparoscopy Hands on training EAU/ EUREP – Πράγα, Τσεχία
03.2011	Ureterorenoscopy Hands-on Training ESU/ESUT/EAU - Vienna, Austria
12.2010	1 ^o Workshop Χειρουργικής Ανδρολογίας Ουρολογική Κλινική Γ.Ν. Πατρών, Ελλάδα
09.2010	10 th International Applied Laparoscopic Urology Course & Symposium Αθήνα, Ελλάδα
04.2009	5ο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Ενδοσκοπικής Ουρολογίας, Αθήνα
03.2009	Ureterorenoscopy Hands-on Training ESU/ESUT/EAU – Στοκχόλμη, Σουηδία
03.2009	Laparoscopy Hands-on training ESU/ESUT/EAU – Στοκχόλμη, Σουηδία
03.2008	Laparoscopy Hands-on training ESU/ESUT/EAU – Μιλάνο, Ιταλία
12.2007	Σεμινάριο Ενδοσκοπικής και Λαπαροσκοπικής Ουρολογίας Ουρολογική Κλινική Πανεπιστημίου Πατρών, Ελλάδα
01.2007	Τίτλος ATLS (Advanced Trauma Life Support)

Ελληνικό Τμήμα Αμερικανικής Χειρουργικής Εταιρείας
Χειρουργική Κλινική Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων

11. 2006 «Ποιότητα και Βιοϊατρική Τεχνολογία στο Νοσοκομειακό Περιβάλλον, Πρακτικές, Κανονιστικό πλαίσιο, Ασφάλεια»- Εκπαιδευτικό Πρόγραμμα Ερευνητικό Κέντρο Βιολογικών Υλικών ΑΕ (ΕΚΕΒΥΛ ΑΕ)
11. 2006 «ΚΑΡΠΑ – ΑΕΡΑΓΩΓΟΣ» - 2ο Συμπόσιο Επείγουσας Ιατρικής (Πρακτική Άσκηση), Ελληνική Εταιρεία Εντατικής Θεραπείας, ΜΕΘ Π.Γ.Ν. Ιωαννίνων, ΜΕΘ Γ.Ν. Άρτας, Ελλάδα

5. ΥΠΟΤΡΟΦΙΑ

- 10.2012 Ουρολογική Κλινική Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Βέρνης
- 11.2012 Universitätsspital Bern, Ελβετία, (Δ/ντες: Prof. Thalmann, Prof. Studer) ως υπότροφος στο πρόγραμμα διακρίσεων UROTOUR 2012 ΙΜΟΠ, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

6. ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

- 2001 Πτυχιακή Εργασία (Thesis): «Η παθοφυσιολογία και οι πιθανές θεραπευτικές παρεμβάσεις στην βλάβη επαναιμάτωσης του μυοκαρδίου μετά από οξύ στεφανιαίο ισχαιμικό επεισόδιο»
("A look at the pathophysiology and possible therapeutic interventions in reperfusion injury after myocardial infarction").
Faculty Of Medicine, University of Debrecen, Hungary

7. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ - ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ

- 02.2020 «Expression of Kisspeptin (KISS1) and its Receptor GPR54 (KISS1R) in Prostate Cancer».
I. Xoxakos, C. Petraki, P. Msaouel, A. Armakolas, A. Grigorakis, S. Stefanakis, M. Koutsilieris.
Anticancer Res.2020; 40: 709-718 doi:10.21873/anticancer.14001

- 06.2013 «IGF-IEc expression is associated with advanced clinical and pathological stage in prostate cancer».
A. Savvani, C. Petraki, P. Msaouel, E. Diamanti, I. Xoxakos, M. Koutsilieris.
Anticancer Res. 2013 Jun; 33(6):2441-5. PMID: 23749893
- 02.2011 «Γηριατρική Ουρολογία - Αντιμετώπιση ασθενών τρίτης ηλικίας με ουρολογικά προβλήματα».
Ξωξάκος Ι., Κοντοθανάσης Δ.
Νοσοκομειακά Χρονικά, Τόμος 73, Συμπλήρωμα 1,142-161: 2011
- 10.2009 «Penile metastasis from prostatic adenocarcinoma».
Sotiropoulou G., Rompolis D., Xoxakos I., Chatzinicolaou V., Fliatouras C., Louka G., Stokidis D.
Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής, Τόμος 23, συμπλήρωμα 2, 2009 :71
- 10.2009 «Primary adenocarcinoma of the urinary bladder. 5 Cases».
Xoxakos I., Sotiropoulou G., Rompolis D., Chatzinicolaou V., Fliatouras C., Kalyvas C., Stokidis D.
European Urology Supplement . Volume 8 (2009) p.608
- 10.2008 «Παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά προστάτη αδένος και PSA. Συσχέτιση προεγχειρητικής τιμής PSA και ιστολογικών ευρημάτων σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αδενεκτομή για καλοήγη υπερπλασία προστάτους».
Ξωξάκος Ι., Σωτηροπούλου Γ., Ρομπόλης Δ., Λουκά Γ., Στοκίδης Δ.
Ελληνική Ουρολογία Τόμος 20, τεύχος 4, Οκτώβριος 2008
- 10.2008 «Ανάλυση θετικών ουροκαλλιεργείων ασθενών στο ουρολογικό τμήμα του Γ.Ν. Κορίνθου σε σχέση με την πάθησή τους και την ευαισθησία».
Π. Παπαδόπουλος, Ι. Ξωξάκος, Δ. Μοσχονάς, Γ. Λουκά, Σ. Στοκίδης, Δ. Στοκίδης.
Ελληνική Ουρολογία Τόμος 20, τεύχος 4, Οκτώβριος 2008
- 10.2008 «Ουρηθρικά «Stents» με θερμική μνήμη στο Γ.Ν. Κορίνθου. Προβλήματα – Αντιμετώπιση».
Θ. Καραολίδης, Δ. Μοσχονάς, Γ. Λουκά, Ι. Ξωξάκος, Σ. Στοκίδης, Δ. Στοκίδης.
Ελληνική Ουρολογία Τόμος 20, τεύχος 4, Οκτώβριος 2008
- 02.2008 Συμμετοχή στην συγγραφή «Πεπραγμένων Ουρολογικής Κλινικής Γ.Ν. Κορίνθου 2007»
- 02.2008 Συμμετοχή στην συγγραφή «Εσωτερικού Κανονισμού Χειρουργείου Γ.Ν. Κορίνθου»

8. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

8Α. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ, VIDEO ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 03.2011 «PCNL in posizione Valdivia in rene a ferro di cavallo, BPCO ed obesità. Tips and tricks».
T. Spiridon, G. Alkiviadis, K. Vassilis, I. Xoxakos, A. Tsiotras, D. Malovrouvas
10° Congresso Nazionale Associazione Italiana di Endourologia
3-5 Marzo 2011, Roma
- 02.2010 «Topographic location of positive surgical margins (PSM) after radical prostatectomy (RP) and its correlation with different pathological parameters».
A. Grigorakis, I. Xoxakos, D. Kontodimopoulos, C. Petraki, I. Probonas, M. Gerolymos, V. Kyrikos, S. Stefanakis, D. Malovrouvas
3rd World Congress on Controversies in Urology, 25-28 February 2010, Athens.
- 02.2010 «Prognostic parameters for positive surgical margins in post radical prostatectomy pathology specimens»
I. Xoxakos, A. Grigorakis, A. Nikolaraki, C. Petraki, V. Kyrikos, A. Tsiotras, P. Roubesis, S. Stefanakis, D. Malovrouvas
3rd World Congress on Controversies in Urology, 25-28 February 2010, Athens.
- 02.2010 «Repeat transurethral resection (RETUR) for non muscle invasive bladder cancer (NMIBC). Our experience»
V. Kyrikos, A. Grigorakis, C. Petraki, I. Xoxakos, D. Kontodimopoulos, I. Promponas, S. Stefanakis, D. Malovrouvas
3rd World Congress on Controversies in Urology, 25-28 February 2010, Athens.
- 02.2010 «Repeat transurethral resection (RETUR) prevents early recurrences in non muscle invasive bladder cancer (NMIBC)»
A. Grigorakis, V. Kyrikos, C. Petraki, I. Xoxakos, D. Kontodimopoulos, A. Tsiotras, S. Stefanakis, D. Malorouvas
3rd World Congress on Controversies in Urology, 25-28 February 2010, Athens.
- 10.2009 «Primary adenocarcinoma of the urinary bladder. 5 Cases».
Xoxakos I., Sotiropoulou G., Rompolis D., Chatzinikolaou V., Fliatouras C., Kalyvas C., Stokidis D.
EAU 5th South Eastern European Meeting (SEEM), 9-10 October 2009, Belgrade, Serbia.

- 10.2009 «Penile metastasis from prostatic adenocarcinoma».
Sotiropoulou G., Rompolis D., Xoxakos I., Chatzinicolaou V., Fliatouras C., Louka G., Stokidis D.
3rd Hellenic-Jordanian Congress of Pathology, 29-31 Οκτωβρίου 2009, Λεμεσός, Κύπρος
- 10.2009 «Neuroendocrine differentiation of urinary bladder tumours-report of 2 cases».
Sotiropoulou G., Xoxakos I., Rompolis D., Chatzinicolaou V., Fliatouras Ch., Louka g.,Lamprou A.,Stokidis D.
3rd Hellenic-Jordanian Congress of Pathology, 29-31 Οκτωβρίου 2009, Λεμεσός, Κύπρος
- 10.2009 «Penile and scrotum metastasis from a rectal adenocarcinoma».
Sotiropoulou G., Rompolis D., Xoxakos I., Chatzinicolaou V., Fliatouras Ch., Louka G., Stokidis D.
3rd Hellenic-Jordanian Congress of Pathology, 29-31 Οκτωβρίου 2009, Λεμεσός, Κύπρος
- 06.2009 «Incidental prostate cancer. A malignancy while treating a benign disease».
Xoxakos I., Sotiropoulou G., Rompolis D., Chatzinicolaou V., Kalyvas Ch., Louka G., Stokidis D.
Focal Therapy and Imaging in prostate and kidney cancer, 10-13 June 2009, Amsterdam, The Netherlands.
- 06.2009 «Sarcomatoid renal cancer. A case report».
Sotiropoulou G., Xoxakos I., Chatzinicolaou V., Rompolis D., Kalyvas Ch., Louka G., Stokidis D.
Focal Therapy and Imaging in prostate and kidney cancer, 10-13 June 2009, Amsterdam, The Netherlands.
- 06.2009 «Primary signet ring cell carcinoma of the prostate».
Xoxakos I., Sotiropoulou G., Rompolis D., Chatzinicolaou V., Kalyvas Ch., Stokidis D.
Focal Therapy and Imaging in prostate and kidney cancer, 10-13 June 2009, Amsterdam, The Netherlands.
- 06.2009 «CLL and leukemic infiltration of the prostate».
Rompolis D., Xoxakos I., Sotiropoulou G., Chatzinicolaou V., Kalyvas Ch., Stokidis D.
Focal Therapy and Imaging in prostate and kidney cancer, 10-13 June 2009, Amsterdam, The Netherlands.

- 06.2009 «Synchronous primary prostate and urinary bladder cancer».
Xoxakos I., Sotiropoulou G., Chatzinikolaou V., Rompolis D., Kalyvas C.,
Stokidis D.
Focal Therapy and Imaging in prostate and kidney cancer, 10-13 June
2009, Amsterdam, The Netherlands.

8B. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ, VIDEO ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 10.2012 «Η βελτιστοποίηση της όρασης με μεγεθυντικούς φακούς (loupes) κατά την ριζική οπισθοβική προστατεκτομή σχετίζεται με καλύτερα ογκολογικά αποτελέσματα».
Δημάκης Γ., Κοντοδημόπουλος Δ., Ρουμπέσης Π., Βούλγαρης Α.,
Μοιράγιας Χ., Ξωξάκος Ι., Γρηγοράκης Α., Στεφανάκης Σ.
21ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 11-14 Οκτωβρίου 2012, Αθήνα
- 10.2010 «Ευρύς πυελικός λεμφαδενικός καθαρισμός μετά τη ριζική κυστεκτομή. Περιγραφή της τεχνικής μας». (video)
Τσιότρας Α., Κοντοδημόπουλος Δ., Κυρίκος Β., Ξωξάκος Ι., Νικολαράκη Α., Ρουμπέσης Π., Γρηγοράκης Α., Στεφανάκης Σ., Μαλόβρουβας Δ.
20^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 23-28 Οκτωβρίου 2010, Κύπρος
- 10.2010 «Καλυκοκυστική ανστόμωση με την χρήση boari flap σε μεταμοσχευμένο νεφρό, μια σπάνια περίπτωση». (video)
Γρηγοράκης Α., Τσιότρας Α., Ξωξάκος Ι., Κυρίκος Β., Κοντοδημόπουλος Δ., Νικολαράκη Α., Ρουμπέσης Π., Στεφανάκης Σ., Ζώτος Δ.,
Δρακόπουλος Β., Δρακόπουλος Σ., Μαλόβρουβας Δ.
20^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 23-28 Οκτωβρίου 2010, Κύπρος
- 10.2010 «Προγνωστικοί παράγοντες θετικών χειρουργικών ορίων (ΘΧΟ) σε παθολογοανατομικά παρασκευάσματα ριζικής οπισθοβικής προστατεκτομής».
Ξωξάκος Ι., Τσιότρας Α., Κυρίκος Β., Κοντοδημόπουλος Δ., Νικολαράκη Α., Ρουμπέσης Π., Πετράκη Κ., Γρηγοράκης Α., Στεφανάκης Σ.,
Μαλόβρουβας Δ.
20^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 23-28 Οκτωβρίου 2010, Κύπρος
- 10.2010 «Η επαναληπτική διουρηθρική εκτομή (ReTUR) αποτρέπει τις πρώιμες υποτροπές του μη μυοδιηθητικού καρκίνου ουροδόχου κύστης (NMIBC)».
Κυρίκος Β., Κοντοδημόπουλος Δ., Τσιότρας Α., Ξωξάκος Ι., Νικολαράκη Α., Ρουμπέσης Π., Πετράκη Κ., Γρηγοράκης Α., Στεφανάκης Σ.,
Μαλόβρουβας Δ.
20^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 23-28 Οκτωβρίου 2010, Κύπρος

- 10.2010 «Η εντόπιση των θετικών χειρουργικών ορίων (ΘΧΟ) μετά ριζική προστατεκτομή (ΡΠ) και η σχέση με τα παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του καρκίνου».
Ξωξάκος Ι., Τσιότρας Α., Κυρίκος Β., Κοντοδημόπουλος Δ., Νικολαράκη Α., Ρουμπέσης Π., Πετράκη Κ., Γρηγοράκης Α., Στεφανάκης Σ., Μαλόβρουβας Δ.
20^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 23-28 Οκτωβρίου 2010, Κύπρος
- 10.2010 «Επαναληπτική διουρηθρική εκτομή (ReTUR) μη μυοδιηθητικού καρκίνου ουροδόχου κύστης (NMIBC). Η εμπειρία μας».
Κυρίκος Β., Κοντοδημόπουλος Δ., Τσιότρας Α., Ξωξάκος Ι., Νικολαράκη Α., Ρουμπέσης Π., Πετράκη Κ., Γρηγοράκης Α., Στεφανάκης Σ., Μαλόβρουβας Δ.
20^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 23-28 Οκτωβρίου 2010, Κύπρος
- 06.2009 «Διηθητικό ουροθηλιακό καρκίνωμα με πυελοκαλυκτική διάταση νεφρού».
Λάμπρου Α., Γεωργάκη Σ., Σωτηροπούλου Γ., Ρομπόλης Δ., Φλιάτουρας Χ. Ξωξάκος Ι.
12^ο Ετήσιο Συνέδριο Ακτινολόγων Νοτιοδυτικής Ελλάδος, 26-27 Ιουνίου 2009, Καλαμάτα.
- 06.2009 «Πολλαπλά αγγειομυολιπώματα νεφρού σε ασθενή με έντονη οσφυαλγία».
Λάμπρου Α., Γεωργάκη Σ., Παπουτσή Δ., Κουκουμτζή Ι., Ρομπόλης Δ., Ξωξάκος Ι., Φλιάτουρας Χ.
12^ο Ετήσιο Συνέδριο Ακτινολόγων Νοτιοδυτικής Ελλάδος, 26-27 Ιουνίου 2009, Καλαμάτα.
- 03.2009 «Σύγχρονα πρωτοπαθή νεοπλασμάτα ουροδόχου κύστεως και προστάτου. Παρουσίαση δυο περιπτώσεων».
Σωτηροπούλου Γ., Ξωξάκος Ι., Χατζηνικολάου Β., Παπαδόπουλος Π., Τερζή Μ.
15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Ογκολογίας, 26-28 Μαρτίου, Αθήνα
- 01.2009 «Παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά προστάτη αδένος και PSA. Συσχέτιση προεγχειρητικής τιμής PSA και ιστολογικών ευρημάτων σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αδενεκτομή για καλοήγη υπερπλασία προστάτου».
Ξωξάκος Ι., Σωτηροπούλου Γ., Ρομπόλης Δ., Λουκά Γ., Στοκίδης Δ.
8^ο Πανελλήνιο Κυτταρολογικό Συνέδριο, 23-25 Ιανουαρίου 2009, Αθήνα

- 01.2009 «Ενδιαφέρουσα περίπτωση μεταστατικού καρκινώματος στην ουροδόχο κύστη με εκτεταμένη νευροενδοκρινική διαφοροποίηση». Σωτηροπούλου Γ., Ξωξάκος Ι., Παπαδόπουλος Π., Καλύβας Χ., Χατζηνικολάου Β., Λουκά Γ., Χατζηνικολάου Β., Στοκίδης Δ., Τερζή Μ., Αραπαντώνη Π.
8^ο Πανελλήνιο Κυτταρολογικό Συνέδριο, 23-25 Ιανουαρίου 2009, Αθήνα
- 01.2009 «Καρκίνος προστατικού αδένος με κύτταρα σφραγιστήρα δακτυλίου (signet-ring cell). Μια σπάνια ενιαφέρουσα αναφορά περιστατικού». Σωτηροπούλου Γ., Παπαδόπουλος Π., Ξωξάκος Ι., Λουκά Γ., Χαντζηνικολάου Β., Τερζή Μ., Βεγκίνι Τ.
8^ο Πανελλήνιο Κυτταρολογικό Συνέδριο, 23-25 Ιανουαρίου 2009, Αθήνα
- 06.2008 «Παρουσίαση ενδιαφέρουσας περίπτωσης νεφροκυτταρικού καρκινώματος με σαρκωματοειδές πρότυπο ανάπτυξης». Παπουτσή Δ., Σωτηροπούλου Γ., Γεωργάκη Σ., Ξωξάκος Ι., Δαρίτσης Α., Σοσούνης Α.
11^ο Ετήσιο συνέδριο ακτινολόγων νοτιοδυτικής Ελλάδος, 20-21 Ιουνίου 2008, Ναύπλιο
- 10.2008 «Ασθενείς που υποβλήθηκαν σε προστατεκτομή για καλοήγη υπερπλασία προστάτου. Προεγχειρητικό PSA και ιστολογικά ευρήματα στο Γ.Ν. Κορίνθου». Ξωξάκος Ι., Παπαδόπουλος Π., Καραολίδης Θ., Λουκά Γ., Στοκίδης Σ., Στοκίδης Δ.
19^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 1-5 Οκτωβρίου 2008, Χαλκιδική.
- «Ανάλυση θετικών ουροκαλλιεργείων ασθενών στο ουρολογικό τμήμα του Γ.Ν. Κορίνθου σε σχέση με την πάθησή τους και την ευαισθησία». Παπαδόπουλος Π., Ξωξάκος Ι., Μοσχονάς Δ., Λουκά Γ., Στοκίδης Σ., Στοκίδης Δ.
19^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 1-5 Οκτωβρίου 2008, Χαλκιδική,
- «Ουρηθρικά Stents με θερμική μνήμη στο Γ.Ν. Κορίνθου. Προβλήματα – Αντιμετώπιση». Καραολίδης Θ., Μοσχονάς Δ., Λουκά Γ., Ξωξάκος Ι., Στοκίδης Σ., Στοκίδης Δ.
19^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, 1-5 Οκτωβρίου 2008, Χαλκιδική.

9. ΟΜΙΛΙΕΣ – ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΕΙΣ

- 06.2019 «Τοπικο-περιοχική υποτροπή μετά αρχική θεραπεία-Μετά Ριζική Προστατεκτομή σε N+ νόσο. Λεμφαδενεκτομή σωτηρίας, ΑΚΘ, Ορμονοθεραπεία?»
1^ο Πανελλήνιο Διατμηματικό Συνέδριο Ελληνικής Ουρολογικής Εταιρείας, 6-8 Ιουνίου 2019, Καλαμάτα
- 11.2011 «Λαπαροσκοπική Ριζική Νεφρεκτομή μέσω ενός τροκάρ» ("LESS Radical Nephrectomy")
Βιβλιογραφική Ενημέρωση Ελληνικής Ουρολογικής Εταιρείας (ΕΟΕ), Νοέμβριος 2011, Αθήνα.
- 11.2011 «Ανατομική προσπέλαση στην χειρουργικά (ανοικτή-λαπαροσκοπική-ρομποτική): α. Νεφρός και εγγύς ουρητήρας, β. κατώτερο ουροποιητικό και άπω ουρητήρας»
Βιβλιογραφική Ενημέρωση Ελληνικής Ουρολογικής Εταιρείας (ΕΟΕ), Νοέμβριος 2011, Αθήνα.
- 10.2010 «Προγνωστικοί παράγοντες θετικών χειρουργικών ορίων σε χειρουργικά παρασκευάσματα ριζικής προστατεκτομής».
20^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, Οκτώβριος 2010, Κύπρος
- 11.2010 «Outcome of Primary Versus Deferred Radical Prostatectomy in the National Prostate Cancer Register of Sweden Follow-Up Study»
10^η Βιβλιογραφική Ενημέρωση Νοσοκομείων ΕΣΥ Αθήνας, Νοέμβριος 2010, Αθήνα
- 10.2009 «Primary adenocarcinoma of urinary bladder. 5 cases»
EAU 5th South Eastern European Meeting (SEEM), Belgrade, Serbia
- 10.2009 «Καρκίνος Ουροδόχου κύστεως»
1^η Βιβλιογραφική Ενημέρωση Νοσοκομείων ΕΣΥ Αθήνας, Οκτώβριος 2009, Αθήνα
- 10.2008 «Προστατεκτομή για Καλοήγη Υπερπλασία Προστάτη-Προεγχειρητικό PSA και Ιστοπαθολογικά ευρήματα».
19^ο Πανελλήνιο Ουρολογικό Συνέδριο, Οκτώβριος 2008, Χαλκιδική.

10. ΔΙΔΑΚΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- 2017-2018 Εκπαιδευτής Workshop Ενδοουρολογίας
(Instructor to -Hands-on training Endoscopic Urology Workshop)
Richard Wolf Academy "Prima Vista" and Siloah St. Trudpert Klinikum

Knittlingen, Baden-Württemberg, Γερμανία

09.2011 Εκπαιδευτικό πρόγραμμα μαθημάτων του Γ.Ν. Κορίνθου

10.2013 Εκπαιδευτής τμήματος Εκπαιδευτών υποψηφίων οδηγών
Δημόσιο ΙΕΚ – Ν. Καρδίτσας

11. ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΣΥΝΑΝΤΗΣΕΙΣ

Συμμετοχή σε πλήθος ελληνικών και διεθνών επιστημονικών συναντήσεων και ιατρικών συνεδρίων

12. ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΙΩΝ

- Μέλος Ιατρικού Συλλόγου Βάδης Βυρτεμβέργης Γερμανίας (Landesärztekammer Baden-Württemberg)
- Μέλος Ιατρικού Συλλόγου Βαυαρίας Γερμανίας (Bayerische Landesärztekammer)
- Μέλος Ελληνικής Ουρολογικής Εταιρίας (ΕΟΕ)
- Fellow European Board of Urology (FEBU)
- Μέλος Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας (European Association Urology)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
Εισαγωγή	26
A. Γενικό Μέρος	
I. Καρκίνος Προστάτη	28
Επιδημιολογία	29
Παράγοντες Κινδύνου	33
- Ηλικία	33
- Φυλή-Εθνικότητα	33
- Οικογενειακό ιστορικό	34
- Διαιτητικοί παράγοντες	34
- Άλλοι παράγοντες κινδύνου	36
- Αναστολείς της 5-α- αναγωγάσης (5-ARIs)	37
- Χρόνια Φλεγμονή – Προστατίτιδα	38
- Τεστοστερόνη	39
- Insulin-like growth factor – 1 (IGF-1)	40
- Οιστρογόνα	41
Μοριακή Βιολογία καρκίνου προστάτη	42
- Πολυεστιακότητα – Πολυσταδιακότητα -Ετερογένεια	42
- Πολυσταδιακή Ανάπτυξη	45
- Κλωνική εξέλιξη	46
- Ανάπτυξη με κλάδους και απόκλιση	46
- Ο προστάτης ως ογκογενετικό-μεταλλαξιγόνο πεδίο	47
- Πολυεστιακότητα - ετερογένεια (intertumor-intratumor heterogeneity)	48
- Οδηγός μετάλλαξη (driver mutation)	50
Γενετικές Μεταβολές στον καρκίνο προστάτη	53
- Χρωμοσωμικές μεταβολές	54
- Σύντηξη γονιδίων – χιμαιρικά γονίδια	55
- Γενετικές Μεταλλάξεις - Κληρονομικότητα	57
- Ανδρογονικός Υποδοχέας (AR, Androgen Receptor)	58
- Ανδρογono-αντοχή (Ευνουχοαντοχή)	60
- RNASEL, HPC1	62
- MSR1	62
- MTHFR	63
- SRD5a2	63

- CYP17	63
- BRCA1	63
- BRCA2	63
- Σωματικές Μεταλλάξεις	65
- GSTP1	65
- NKX3.1	66
- HOXB13	66
- PTEN	66
- SPOP	67
- CDKN1B	67
- Ογκοκατασταλτικά γονίδια	68
- Retinoblastoma	68
- TET2	69
- MXI-1	69
- P53	69
- TGFβ-1	69
- KLF6	70
- ATBF1	70
- EPHB2	70
- Μικροδορυφορικό DNA	70
- Μικροδορυφορική Αστάθεια (MSI)	71
- Mismatch Repair Genes – Γονίδια επιδιόρθωσης λαθών DNA	72
- Ογκογονίδια	73
- c-MYC	73
- MKP-1	74
- BCL-2	74
- Τελομεράσες	74
- RAS	75
- HER2	75
- FASN	75
- Πολυμορφισμός	75
- Μεταλλάξεις στον μεταστατικό καρκίνο	78
- KAI-1/CD82	78
- CDH-1	78
- Γονίδια επιδιόρθωσης DNA (DNA Repair Genes)	78

Ιστολογική Ταξινόμηση	81
Σύστημα Βαθμονόμησης κατά Gleason, Gleasonscore	83
Αναπροσαρμοσμένο σύστημα Gleason κατά ISUP 2014	85
Υψηλόβαθμη PIN (High Grade PIN, HGPIN)	87
Σταδιοποίηση	89
Διαγνωστική προσέγγιση	92
- Προσυμπτωματικός Έλεγχος - Screening	92
- Δακτυλική Εξέταση	97
- Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο (PSA)	97
Βελτίωση της διαγνωστικής αξίας του PSA	101
- Πυκνότητα PSA - PSA Density (PSAD)	101
- Χρόνος Διπλασιασμού PSA - PSA Doubling Time (PSADT)	102
- Ταχύτητα Αύξησης PSA – PSA Velocity (PSAV)	102
- Προσαρμοσμένο στην ηλικία PSA	104
- Λόγος ελεύθερου / ολικό PSA (ratiofree/totalPSA, %fPSA)	105
- Ισομορφές του PSA	104
- Δείκτης PHI	108
Απεικονιστικές μέθοδοι	110
- Διορθικό Υπερηχογράφημα	110
- Πολυπαραμετρική Μαγνητική Τομογραφία (mpMRI)	110
Επαναληπτική βιοψία προστάτη	112
Νεότεροι βιοδείκτες πλάσματος	113
- 4K score	113
- Νεότεροι βιοδείκτες ούρων	114
- Progens PCA3 assay	114
- TMPRSS2-ERG fusion gene	115
- MiPS	116
- EN2	116
- Anenexin A3	117
- Sarcosine	117
- Select MDX	117
- Γενετικοί και πρωτεϊνικοί ιστικοί βιοδείκτες	118
- Oncotype	118
- Prolaris Test	118
- Decipher genomic classifier (Decipher GC)	119

- ProMark	119
- Εξωσώμια	120
- lncRNA	120
- Micro RNA	120
IIα. Κισπεπτίνη (KISS1) – Υποδοχέας (KISS1R) - Εισαγωγή	121
Κισπεπτίνη (KISS1), <i>KISS1</i>	122
Υποδοχέας GPR54 (KISS1R), <i>KISS1R</i>	124
Ρύθμιση έκφρασης KISS1, KISS1R	124
IIβ. Κισπεπτίνη (KISS1) – Υποδοχέας (KISS1R) - Λειτουργίες του συμπλέγματος KISS1/KISS1R σε βιολογικά συστήματα	126
Η επίδραση στον γοναδοτροπικό άξονα (HPG)	126
- Φυλετικός διμορφισμός νευρώνων κισπεπτίνης	127
- Νευρώνες Κισπεπτίνης - Νευρώνες KNDy	128
Κισπεπτίνη στην διαδικασία της ήβης	129
- Η επίδραση στην έναρξη της ήβης	129
- Η επίδραση στην επιτάχυνση της εφηβείας	130
- Η επίδραση στην καθυστερημένη εφηβεία	130
- Η επίδραση στον Υπογοναδοτροπικό Υπογοναδισμό	131
Η επίδραση στον καταμήνιο κύκλο των θηλέων	132
Η άμεση επίδραση της κισπεπτίνης πάνω στις γονάδες	132
- Έκφραση στη θηλυκή αναπαραγωγική οδό	132
- Επίδραση στους όρχεις και στα σπερματοζωάρια	133
Επίδραση στην εμφύτευση εμβρύου και στην κύηση	133
Κισπεπτίνη και μεταβολικές καταστάσεις	134
- Λεπτίνη – Κισπεπτίνη	134
Επίδραση της κισπεπτίνης στην αμυγδαλή και στην αναπαραγωγική συμπεριφορά - Εξωυποθαλαμική κισπεπτίνη	136
IIγ. Κισπεπτίνη (KISS1) – Υποδοχέας (KISS1R) και καρκίνος	137
Διπλός ρόλος - Καταστολή ή επαγωγή του καρκίνου;	138
Σύνδεση KISS1 με τον υποδοχέα KISS1R	139
Σηματοδότηση KISS1 / KISS1R	139
- Μελάνωμα	142
- Καρκίνος μαστού	142
- Ηπατοκυτταρικός καρκίνος	145
- Καρκίνος παγκρέατος	145

- Καρκίνος παχέος εντέρου	146
- Καρκίνος οισοφάγου	147
- Καρκίνος στομάχου	148
- Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα	148
- Καρκίνος νεφρού	148
- Καρκίνος ουροδόχου κύστεως	149
- Καρκίνος ενδομητρίου	149
- Καρκίνος ωοθηκών	150
- Καρκίνος θυρεοειδούς	150
- Οστεοσάρκωμα	151
- Φαιοχρωμοκύττωμα	151
Κισπεπτίνη στον προστάτη	152
Φυσιολογικός Προστάτης, Καλοήθης Υπερπλασία Προστάτη	152
Καρκίνος προστάτη	152
B. Ειδικό Μέρος	155
Σκοπός της παρούσας μελέτης	156
Υλικό	156
Μεθοδολογία	157
- Ανοσοϊστοχημεία - Επιλογή της μεθόδου	157
- Μεθοδολογία της παρούσας μελέτης	158
Στατιστική Ανάλυση	160
Αποτελέσματα	160
Συζήτηση	170
Περίληψη	179
Summary	181
Βιβλιογραφία	182

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΕΣ - ΕΙΚΟΝΕΣ - ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ

	Σελ.
Πίνακας 1: Αριθμός νέων περιστατικών και θανάτων σχετιζόμενων με καρκίνο προστάτη το 2018 (Globocan 2018)	30
Εικόνα 1: Συχνότητα εμφάνισης διαφόρων τύπων καρκίνου το 2018, για τα δύο φύλα, σε όλες τις ηλικίες, (Globocan 2018)	30
Πίνακας 2: Αιτίες θανάτου- καρκίνος προστάτη, 2016 (Eurostat)	31
Εικόνα 2: Μέσος όρος θνητότητας ανά 100.00 άνδρες και ανά γεωγραφική περιοχή στην ΕΕ μεταξύ 2014-2016. Eurostat	32
Πίνακας 3: Διαιτητικοί παράγοντες και καρκίνος προστάτη	35
Εικόνα 3: Κατευθυντήριες οδηγίες - Σύσταση της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας 2019, για διαιτητικούς παράγοντες και προφύλαξη	35
Εικόνα 4: Χαρακτηριστικά του καρκίνου	43
Εικόνα 5: Πιθανός μηχανισμός έναρξης και εξέλιξης καρκίνου προστάτη	44
Εικόνα 6: Το γράφημα Venn από την μελέτη των Mamidi και συνεργατών	54
Πίνακας 4: Χρωμοσωμικές μεταβολές στον καρκίνο προστάτη	55
Εικόνα 7: Σύντηξη γονιδίων – Χιμαιρικά γονίδια στον καρκίνο προστάτη.	56
Πίνακας 5: Κληρονομικά γονίδια στον καρκίνο προστάτη	58
Εικόνα 8: Ποσοστιαία κατανομή των πολυμορφισμών SNPs αναλόγως με τον τύπο κακοήθειας Onco Array Bead Chip.	76
Εικόνα 9: Κατανομή γονιδιακών περιοχών που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη (μελέτες GWAS)	77
Πίνακας 6: Γαμετικές Μεταλλάξεις σε μεταστατικό καρκίνο	79
Πίνακας 7: Ιστολογική ταξινόμηση καρκίνου προστάτη, ΠΟΥ 2016	82
Πίνακας 8: Ιστολογική ταξινόμηση Καρκίνου προστάτη, ΠΟΥ 2016, και οι αλλαγές από την προηγούμενη ταξινόμηση του 2004	82
Εικόνα 10: Βαθμοί διαφοροποίησης - κακοήθειας του προστατικού καρκίνου κατά Gleason	84
Πίνακας 9: αναπροσαρμοσμένο κατά ISUP2014 σύστημα Gleason και η 5ετής επιβίωση, ελεύθερη βιοχημικής υποτροπής	86
Εικόνα 11: Οι βαθμοί διαφοροποίησης του καρκίνου προστάτη κατά Gleason και οι αναπροσαρμογές τους	86
Πίνακας 10: Σταδιοποίηση καρκίνου του προστάτη - σύστημα TNM 2009	89
Πίνακας 11: Κίνδυνος βιοχημικής υποτροπής σε εντοπισμένο και τοπικά	

προχωρημένο καρκίνο προστάτη, EAU Guidelines 2020	91
Πίνακας 12: Δεδομένα παρακολούθησης ασθενών από την μελέτη ERSPC, EAU 2020	94
Πίνακας 13: Κατευθυντήριες οδηγίες προσυμπτωματικού ελέγχου με PSA	96
Πίνακας 14: Κίνδυνος καρκίνου προστάτη σε σχέση με χαμηλές τιμές PSA	100
Πίνακας 15: PSA ανα ηλικία	105
Εικόνα 12: Πορεία σχηματισμού του ενεργού PSA και των ισομορφών του	106
Εικόνα 13: Βασικά δομικά στοιχεία των ανθρώπινων κισπεπτινών	123
Εικόνα 14: Κατανομή του υποδοχέα της KISS1 στους ανθρώπινους ιστούς.	127
Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση βασικών μονοπατιών σηματοδότησης του μηχανισμού δράσης του συμπλέγματος KISS1/ GPR54 (KISS1R)	142
Εικόνα ανοσοϊστοχημείας 1	161
Εικόνα ανοσοϊστοχημείας 2	162
Πίνακας 16: Συσχέτιση της έκφρασης KISS1 και KISS1R με κλινικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά της μελέτης (N=186)	163
Γράφημα 1: Παθολογοανατομικό στάδιο	166
Γράφημα 2: Gleason score	166
Γράφημα 3. Gleason Group (ISUP 2014)	167
Γράφημα 4. Έκφραση KISS1	167
Γράφημα 5. Έκφραση KISS1R	168
Γράφημα 6. Έκφραση KISS1-KISS1R	168
Εικόνα 16: Η έκφραση KISS1, KISS1R σε σχέση με το στάδιο, Gleason score, Gleason Group κατά ISUP	169
Εικόνα 17: Η έκφραση KISS1, KISS1R σε σχέση με το Gleason score	169

Η εντυπωσιακή πρόοδος που έχει επιτευχθεί στον τομέα της μοριακής βιολογίας και γενετικής τα τελευταία χρόνια κυρίως με την δυνατότητα ανάλυσης του γονιδιώματος, έχει διευρύνει σημαντικά το πεδίο της έρευνας που αφορά στην μοριακή βιολογία του καρκίνου. Υπάρχει έντονη ερευνητική δραστηριότητα στην αναζήτηση νέων βιοδεικτών με στόχο την πρόωμη διάγνωση του καρκίνου, αλλά και τον εντοπισμό πιθανών θεραπευτικών στόχων στην αντιμετώπισή του. Ένα από τα μόρια που έχει προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι το πεπτιδίο κισπεπτίνη (KISS1).

Ο κισπεπτίνες (kisspeptins) είναι πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια των κισπεπτινών, αποτελούν προϊόντα του γονιδίου *KISS1* και ασκούν την δράση τους μέσω της σύνδεσής τους με τον υποδοχέα GPR54 ή αλλιώς KISS1R.

Η δράση των κισπεπτινών είναι πολύπλευρη και έχει ερευνηθεί στην μοριακή βιολογία διαφόρων τύπων καρκίνου, σε νευροενδοκρινείς μηχανισμούς όπως στην ρύθμιση του γοναδοτροπικού άξονα, στην λειτουργία της ήβης, στην αναπαραγωγή, καθώς και σε άλλους μεταβολικούς και φυσιολογικούς μηχανισμούς.

Στα περισσότερα είδη καρκίνου έχει παρατηρηθεί ογκοκατασταλτική δράση της κισπεπτίνης, περιορίζοντας επίσης την μεταστατική δυνατότητα του όγκου. Ωστόσο νεότερες έρευνες αναφέρουν έναν διπλό ρόλο της κισπεπτίνης, καθώς φαίνεται ότι σε ορισμένους τύπους καρκίνων προάγει την καρκινογένεση.

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα μέχρι σήμερα που αφορούν στην δράση της κισπεπτίνης (KISS1) στον καρκίνο προστάτη είναι σχετικά περιορισμένα. Γενικά έχει παρατηρηθεί συσχέτιση ανάμεσα στην μείωση έκφρασης της κισπεπτίνης (KISS1) και το στάδιο και τον βαθμό κακοήθειας του προστατικού καρκίνου.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετάται η έκφραση της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) στον καρκίνο προστάτη, με την χρήση ανοσοϊστοχημικής εξέτασης, σε χειρουργικά παρασκευάσματα ριζικής προστατεκτομής. Επιπλέον αναφέρονται τα νεότερα δεδομένα σχετικά με τον καρκίνο προστάτη, κυρίως την μοριακή βιολογία και γενετική του

καρκίνου, καθώς επίσης και οι νεότερες εξελίξεις που αφορούν γενικά στην πολυεπίπεδη δράση του μορίου της κισπεπτίνης (KISS1).

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της έκφρασης της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) στον καρκίνο προστάτη, εξετάζοντας έτσι τον ενδεχόμενο ρόλο τους μελλοντικά στην διάγνωση και αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης του καρκίνου ή ακόμα και στην αναζήτηση συγκεκριμένων θεραπευτικών στόχων για την αντιμετώπισή του.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

I. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

I. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος προστάτη αποτελεί παγκοσμίως σήμερα την δεύτερη πιο συχνά διαγνωσμένη κακοήθεια σε άνδρες και την έκτη αιτία θανάτου από κακοήθεια. Το 2020 υπολογίζεται ότι θα διαγνωσθούν στις ΗΠΑ περίπου 191.930 νέες περιπτώσεις καρκίνου προστάτη και 33.330 άνδρες θα πεθάνουν από τη νόσο αυτή. Με την ευρεία χρήση του PSA και την εφαρμογή του προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) αυξήθηκε ραγδαία η συχνότητα εμφάνισης του καρκίνου προστάτη στα τέλη της δεκαετίας '80 και αρχές '90. Το γεγονός αυτό οδήγησε μεταξύ άλλων στην διενέργεια μεγάλου αριθμού μη απαραίτητων βιοψιών προστάτη και στην «υπερδιάγνωση» μη σημαντικών κλινικά καρκίνων. Ο σκεπτικισμός που αναπτύχθηκε γύρω από την χρήση του PSA ως διαγνωστικής εξέτασης προσυμπτωματικού ελέγχου επέφερε αλλαγές στις κατευθυντήριες οδηγίες της διεθνούς επιστημονικής κοινότητας, με συνέπεια την μείωση της ευρείας χρήσης του PSA από το 2000 ως εξέτασης μαζικού προσυμπτωματικού ελέγχου. Άρχισε έτσι να παρατηρείται μείωση της συχνότητας διάγνωσης του καρκίνου προστάτη, η οποία συνεχίστηκε και τα επόμενα χρόνια. Από το 2007 έως το 2016 ο ρυθμός μείωσης της διάγνωσης του καρκίνου προστάτη ήταν κατά μέσο όρο 3.8% ανά έτος (1). Η εμφάνιση του καρκίνου προστάτη αναμένεται να αυξηθεί παγκοσμίως στα 2.3 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και 740.000 θανάτους μέχρι το 2040 απλά λόγω της αύξησης ηλικίας και γήρανσης του πληθυσμού (2). (Πίνακας 1).

Table 1 – Estimated number of new prostate cancer cases and deaths, by world area, 2018.

Area	Population size	Cases		Deaths	
		n	ASR	n	ASR
Africa	643 300 000	81 000	26.6	42 300	14.6
Eastern Africa	215 198 000	20 800	23.9	12 800	14.8
Middle Africa	83 985 000	11 700	35.9	7100	22.7
Northern Africa	119 461 000	11 800	13.2	5100	5.8
Southern Africa	32 347 000	13 000	64.1	4700	26.8
Western Africa	192 309 000	23 800	31.9	12 500	18.6
Asia	2 324 852 000	297 200	11.5	118 400	4.5
Eastern Asia	846 480 000	193 600	13.9	68 500	4.7
South-Central Asia	1 009 203 000	41 100	5.0	27 000	3.3
South-Eastern Asia	327 313 000	35 400	12.7	14 900	5.4
Western Asia	141 856 000	27 000	26.9	8000	8.0
Europe	359 539 000	449 800	62.1	107 300	11.3
Central and Eastern Europe	137 381 000	98 100	42.2	33 700	13.5
Northern Europe	51 690 000	91 400	85.7	21 000	13.5
Southern Europe	74 788 000	99 500	60.7	20 500	7.9
Western Europe	95 679 000	160 700	75.8	32 000	10.1
Latin America and the Caribbean	322 213 000	190 400	56.4	53 800	14.2
Caribbean	21 844 000	17 600	64.2	8600	25.4
Central America	89 153 000	33 700	42.2	9900	10.7
South America	211 216 000	139 100	60.4	35 300	14.0
North America	180 174 000	234 300	73.7	32 700	7.7
Oceania	20 642 000	23 500	79.1	4500	10.7
Australia and New Zealand	14 676 000	22 100	86.4	4000	10.2
Melanesia	5 346 000	1100	34.1	400	14.5
Micronesia	268 000	100	42.4	40	16.3
Polynesia	351 000	220	66.5	70	19.9
World	3 850 719 000	1 276 100	29.3	359 000	7.6

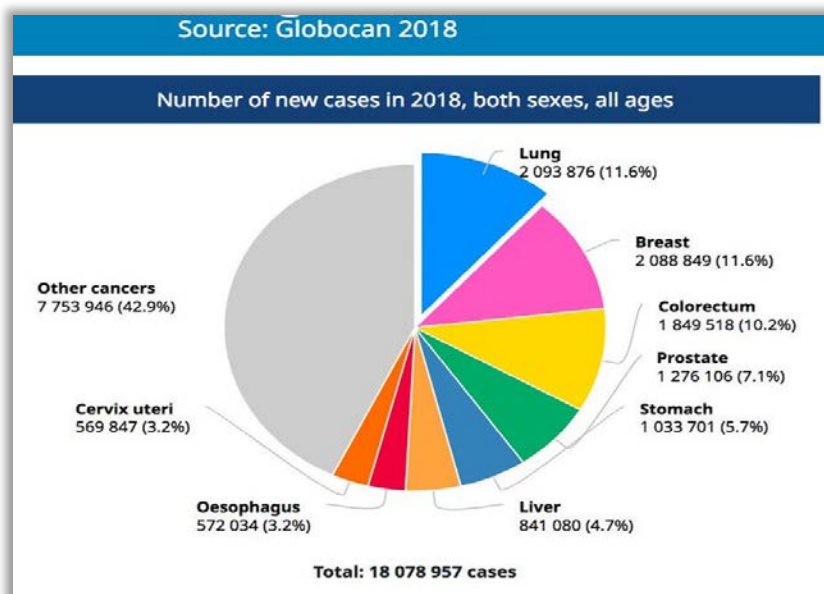
ASR = age-standardized rate per 100 000.

Numbers are rounded to the nearest 10 or 100, and may not sum up to total.

Source: GLOBOCAN 2018 [1].

Πίνακας 1: Αριθμός νέων περιστατικών και θανάτων σχετιζόμενων με καρκίνο προστάτη το 2018 (2)

Στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 1) φαίνεται η συχνότητα εμφάνισης διαφόρων τύπων καρκίνου και για τα δύο φύλα σε όλες τις ηλικίες, όπως αυτή υπολογίστηκε για το 2018 (Globocan, 2018) (2).



Εικόνα 1: Υπολογισθείσα συχνότητα εμφάνισης διαφόρων τύπων καρκίνου το 2018, για τα δύο φύλα, σε όλες τις ηλικίες (2)

Ο καρκίνος προστάτη ήταν ο πιο συχνά διαγνωσμένος καρκίνος στον ανδρικό πληθυσμό το 2018 σε 106 χώρες, κυρίως εντοπιζόμενος σε περιοχές της κεντρικής και νότιας Αμερικής, δυτικής και βόρειας Ευρώπης καθώς και στην υποσαχάρια Αφρική (2). Ωστόσο μόνο σε 46 χώρες ο προστατικός καρκίνος αποτέλεσε την βασικότερη αιτία θανάτου λόγω κακοήθειας, οι οποίες βρίσκονται με λίγες εξαιρέσεις στην υποσαχάρια Αφρική και την λατινική Αμερική (2). Οι υψηλότερες συχνότητες εμφάνισης καρκίνου προστάτη ανα 100.000 άνδρες το 2018, παρατηρήθηκαν στην Αυστραλία-N. Ζηλανδία, Καραϊβική, βόρεια Αμερική, δυτική και βόρεια Ευρώπη, ενώ χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης παρατηρήθηκε στην νότια και ανατολική Ασία και βόρεια Αφρική (2).

Η θνητότητα από τον καρκίνο προστάτη βρέθηκε υψηλότερη σε χώρες με πληθυσμό κυρίως αφρικανικής προέλευσης, συμπεριλαμβανομένης της Καραϊβικής, νότιας και κεντρικής Αφρικής, ενώ η χαμηλότερη θνητότητα παρατηρήθηκε στην Ασία και βόρεια Αφρική (2).

Όπως ανέφερε στα τέλη του 2019 η ευρωπαϊκή στατιστική υπηρεσία (Eurostat), στην Ευρωπαϊκή Ένωση των 28 κρατών-μελών, 76.900 άνδρες πέθαναν το 2016 λόγω καρκίνου προστάτη (Πίνακας 2), το οποίο αντιστοιχεί στο 10% των θανάτων ανδρικού πληθυσμού από κάποια κακοήθεια και στο 3% των συνολικών θανάτων του ανδρικού πληθυσμού από οποιαδήποτε αιτία.

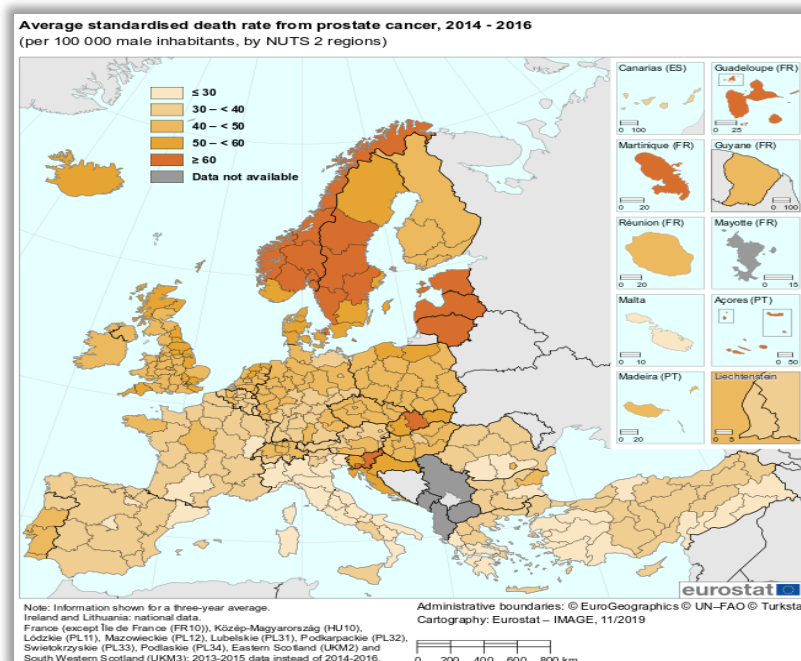
	Number of male deaths (number)	Share of all male deaths (%)	Males	Standardised death rates Males aged < 65 years (per 100 000 inhabitants)	Males aged ≥ 65 years
EU-28	76 930	3.0	39.1	2.5	190.4
Belgium	1 530	2.9	36.2	2.0	177.4
Bulgaria	916	1.7	33.7	3.3	159.2
Czechia	1 422	2.6	41.6	3.0	201.2
Denmark	1 227	4.7	59.2	3.1	291.1
Germany	14 434	3.2	41.0	2.7	199.2
Estonia	271	3.7	70.8	5.6	340.0
Ireland	509	3.3	41.7	2.2	204.8
Greece	1 643	2.7	30.7	1.2	152.6
Spain	5 748	2.8	30.2	1.8	147.5
France	9 041	3.1	34.6	1.9	169.6
Croatia	770	3.0	51.3	4.0	246.6
Italy	7 523	2.5	26.8	1.4	131.7
Cyprus	91	3.1	38.0	0.0	194.9
Latvia	406	3.0	71.3	5.2	344.5
Lithuania	561	2.8	62.9	7.5	291.6
Luxembourg	53	2.6	32.3	2.8	154.0
Hungary	1 300	2.1	42.5	3.5	203.4
Malta	49	3.0	30.5	0.5	154.2
Netherlands	2 774	3.9	45.6	2.8	222.4
Austria	1 226	3.2	38.8	2.3	189.5
Poland	5 223	2.6	47.6	3.6	229.2
Portugal	1 836	3.3	44.0	2.5	215.1
Romania	2 333	1.7	34.6	2.8	166.1
Slovenia	406	4.2	57.9	3.8	281.2
Slovakia	687	2.6	50.7	3.6	245.2
Finland	888	3.3	42.4	2.1	208.6
Sweden	2 349	5.3	58.5	2.5	289.4
United Kingdom	11 714	4.0	47.8	2.7	233.7
Iceland	64	5.4	60.7	3.2	208.4
Liechtenstein	6	4.6	44.2	6.3	200.4
Norway	967	5.0	56.8	2.7	279.8
Switzerland	1 262	4.0	41.2	2.2	202.9
Serbia	981	1.9	36.0	3.1	172.2
Turkey	3 576	1.6	29.4	1.6	144.2

Source: Eurostat (online data codes: hlth_cd_aro and hlth_cd_asdr2)

eurostat

Πίνακας 2: Αιτίες θανάτου- καρκίνος προστάτη, ανδρικός πληθυσμός, 2016 (3)

Μεταξύ των κρατών μελών της ΕΕ, η χαμηλότερη θνητότητα από τον καρκίνο προστάτη ήταν στην Τουρκία 1.6%, στην Βουλγαρία και Ρουμανία 1.7% αντίστοιχα. Αντιθέτως οι σκανδιναβικές χώρες εμφανίζουν 3 φορές υψηλότερο ποσοστό θνητότητας. Συγκεκριμένα στην Νορβηγία η θνητότητα λόγω του καρκίνου προστάτη ήταν 5.0%, στην Σουηδία 5.3% και στην Ισλανδία 5.4%. Στην Εικόνα 2 σύμφωνα με τα στοιχεία της από την Eurostat, παρουσιάζεται ο μέσος όρος θνητότητας από τον προστατικό καρκίνο ανά 100.000 άνδρες για το χρονικό διάστημα 2014-2016, ανάλογα με την γεωγραφική περιοχή στην Ευρωπαϊκή Ένωση.



Εικόνα 2: Μέσος όρος θνητότητας ανά 100.00 άνδρες και ανά γεωγραφική περιοχή στην ΕΕ μεταξύ 2014-2016 (3).

Ο τυποποιημένος δείκτης θνητότητας από καρκίνο προστάτη στην ΕΕ των 28 μελών για το 2016, ήταν 39.1 ανά 100.000 άνδρες. Ο δείκτης αυτός ήταν στα 13 από τα 28 κράτη-μέλη λίγο χαμηλότερος από τον αντίστοιχο για τον καρκίνο παχέος εντέρου, ο οποίος ήταν 40.4 ανά 100.000 άνδρες, ενώ στα υπόλοιπα 15 κράτη-μέλη ήταν λίγο υψηλότερος από αυτόν του καρκίνου παχέος εντέρου (3). Επιπλέον η Σουηδία ήταν το μοναδικό μέλος της ΕΕ στην οποία ο τυποποιημένος δείκτης θνητότητας καρκίνου προστάτη για το 2016, ήταν υψηλότερος από τον αντίστοιχο δείκτη για τον καρκίνο πνεύμονα. (3)

Όπως είναι γνωστό ο καρκίνος προστάτη είναι μια νόσος της προχωρημένης ηλικίας. Σε άτομα ηλικίας 65 ετών και άνω, ο τυποποιημένος δείκτης θνητότητας ήταν 77 φορές υψηλότερος από αυτόν για άτομα νεότερα των 65 ετών (3).

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Οι πιο καλά εδραιωμένοι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου προστάτη είναι η αυξημένη ηλικία, η εθνικότητα/φυλή και η γενετική προδιάθεση (4). Υπάρχουν ενδείξεις για περισσότερους παράγοντες κινδύνου χωρίς ωστόσο αυτοί να είναι πλήρως διευκρινισμένοι. Τέτοιοι είναι η παχυσαρκία, διαιτητικοί παράγοντες, αυξημένη πρόσληψη ασβεστίου, χαμηλή επίπεδα σεληνίου ορού και χαμηλά επίπεδα α-τοκοφερόλης καθώς και πιθανώς το υψηλό σωματικό ύψος (5).

Ηλικία

Ο καρκίνος προστάτη σπάνια εμφανίζεται σε άνδρες νεότερους των 40 ετών, αυξάνει όμως σημαντικά για κάθε επόμενη δεκαετία. Έτσι, για παράδειγμα, η πιθανότητα να διαγνωσθεί κάποιος νεότερος των 50 ετών με καρκίνο προστάτη είναι 1 στους 441, ενώ η πιθανότητα αυξάνει και είναι 1 στους 59 άνδρες ηλικίας 50-59 ετών. Για άτομα ηλικίας 60-69 η πιθανότητα εμφάνισης αυξάνει ακόμα περισσότερο και είναι ένας στους 21, ενώ για ηλικία 70 ετών και άνω γίνεται 1 στα 12 άτομα. Περίπου 12.1% των ανδρών θα διαγνωσθούν με καρκίνο προστάτη σε κάποια ηλικία, σύμφωνα με τα δεδομένα των ετών 2015-2017 (6). Με τα σημερινά δεδομένα στις ΗΠΑ πάντως, η συνολική πιθανότητα να νοσήσει κάποιος με καρκίνο προστάτη σε οποιαδήποτε ηλικία είναι ένας στους 9 (1).

Φυλή / Εθνικότητα

Η συχνότητα εμφάνισης και η θνητότητα του καρκίνου προστάτη στην αφροαμερικανική φυλή είναι 1,6 φορές και 2,4 φορές αντίστοιχα υψηλότερες από αυτές της καυκάσιας φυλής για άτομα της ίδιας ηλικίας. Η φυλετική αυτή

διαφορά της εμφάνισης του συγκεκριμένου καρκίνου απασχόλησε πολλούς ερευνητές. Αν και αρχικά η διαφορά στην συχνότητα εμφάνισης θεωρούνταν ότι βασιζόταν σε κοινωνικοοικονομικά κριτήρια, έρευνες τελευταίων ετών αναφέρουν, ότι ένα διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο πιθανώς ευθύνεται για την αυξημένη συχνότητα του προστατικού καρκίνου στην αφροαμερικανική φυλή. Έτσι υπάρχουν μελέτες που εντοπίζουν διαφορετικό προφίλ γονιδιακής έκφρασης και πολυμορφισμών για γονίδια που σχετίζονται με τον υποδοχέα των ανδρογόνων, αυξητικούς παράγοντες και την απόπτωση σε ασθενείς αφροαμερικανικής φυλής με καρκίνο προστάτη (7).

Οικογενειακό ιστορικό

Εδώ και πολλά χρόνια πολλές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει την οικογενή προδιάθεση και τον κληρονομικό χαρακτήρα του προστατικού καρκίνου. Για ερευνητικούς σκοπούς ο καρκίνος προστάτη μπορεί να χωριστεί σε 3 φαινότυπους, τον σποραδικό, τον οικογενή και τον κληρονομικό.

Οι σποραδικοί καρκίνοι παρατηρούνται σε μεμονωμένους ασθενείς με αρνητικό οικογενειακό ιστορικό.

Οικογενής προστατικός καρκίνος ορίζεται ο καρκίνος σε ασθενή με περισσότερους από έναν συγγενή που πάσχει από την νόσο.

Ο κληρονομικός που είναι ουσιαστικά μια υποκατηγορία του οικογενούς, αναφέρεται σε οικογένειες με πάνω από 3 προσβεβλημένα μέλη σε ύπαρξη της νόσου σε 3 διαδοχικές γενιές ή σε δύο μεμονωμένους ασθενείς που νόσησαν πριν την ηλικία των 55 ετών (8). Οι σποραδικοί καρκίνοι αποτελούν το 85% των περιστατικών, ενώ οι κληρονομικοί αποτελούν το 15%. Η κληρονομική νόσος αφορά το 43% των νέων ασθενών <55 έτη, αλλά μόνο το 9% όλων των καρκίνων μέχρι τα 85 έτη (8).

Διαιτητικοί παράγοντες και κίνδυνος καρκίνου προστάτη

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3) φαίνονται τα δεδομένα που αφορούν στην σχέση διαφόρων διαιτητικών παραγόντων με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη, όπως παρουσιάζονται από την Ευρωπαϊκή Ουρολογική Εταιρεία στις κατευθυντήριες οδηγίες του 2019. Δεν υπάρχει ειδικό προφυλακτικό μέτρο

ή τρόφιμο ή άλλος ειδικός διαιτητικός παράγοντας που αποδεδειγμένα να προστατεύει από τον καρκίνο προστάτη.

Πίνακας 3. Διαιτητικοί παράγοντες και κίνδυνος καρκίνου προστάτη	
Αλκοόλ	Δοσοεξαρτώμενος παράγοντας κινδύνου. Υπερβολική κατανάλωση αλλά και παντελής έλλειψη σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου προστάτη (9)
Πρωτεΐνες γαλακτοκομικών προϊόντων	Μάλλον ασθενής σχέση μεταξύ πρωτεϊνών γαλακτοκομικών προϊόντων και κινδύνου εμφάνισης προστατικού καρκίνου (9)
Λιπαρά οξέα	Δεν έχει βρεθεί σχέση μεταξύ καρκίνου προστάτη και ωμέγα 3-πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (9). Ωστόσο ενδέχεται να υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου από κατανάλωση τηγανισμένων τροφίμων (9)
Τομάτες, λυκοπένιο	Μετα-αναλύσεις δείχνουν πιθανή σχέση από κατανάλωση τομάτας (κυρίως μαγειρεμένης) και λυκοπενίου με την συχνότητα εμφάνισης καρκίνου προστάτη (9). Ωστόσο τυχαιοποιημένες μελέτες δεν κατάφεραν να δείξουν σημαντική μείωση της συχνότητας προστατικού καρκίνου από την κατανάλωση λυκοπενίου σε σύγκριση με placebo (9)
κρέας	Μετα-ανάλυση δεν δείχνει κάποια σχέση μεταξύ κόκκινου ή επεξεργασμένου κρέατος και κινδύνου εμφάνισης καρκίνου προστάτη (9)
Φυτοοιστρογόνα, σόγια	Κατανάλωση φυτοοιστρογόνων φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο χαμηλής κακοήθειας καρκίνου προστάτη, αντίθετα αποκλειστική διατροφή με σόγια-φυτοοιστρογόνα ενδέχεται να σχετίζεται τόσο με μειωμένο κίνδυνο καρκίνου προστάτη αλλά και με αυξημένο κίνδυνο προχωρημένου σταδίου προστατικού καρκίνου (9)
Βιταμίνη D	Ακραίες καταστάσεις επιπέδων βιταμίνης D, έλλειψη αλλά και υπερβιταμίνωση D σχετίζονται με υψηλού σταδίου καρκίνο προστάτη (9)

Σελήνιο, βιταμίνη E	Προφυλακτική δράση του σεληνίου για τον καρκίνο προστάτη. Ωστόσο δεν έχει αποδειχθεί ότι λήψη σκευασμάτων υποκατάστασης σεληνίου και βιταμίνης E προστατεύει από την εμφάνιση καρκίνου προστάτη (9)
------------------------	---

Πίνακας 3: Διαιτητικοί παράγοντες και καρκίνος προστάτη (9)

Recommendation	Strength rating
No specific preventive or dietary measures are recommended to reduce the risk of developing prostate cancer.	Strong

Εικόνα 3: Κατευθυντήριες οδηγίες - Σύσταση της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας EAU guidelines 2019, (9)

Άλλοι παράγοντες κινδύνου

Μεταξύ των παραγόντων του μεταβολικού συνδρόμου, η υπέρταση ($p = 0.035$) και η περιφέρεια μέσης > 102 cm ($p = 0.007$) έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη (9).

Μελέτες σε επίπεδο πληθυσμού έχουν δείξει ότι τα άτομα που λαμβάνουν μετφορμίνη στα πλαίσια θεραπείας τους για τον σακχαρώδη διαβήτη είχαν μικρότερο κίνδυνο να διαγνωσθούν με καρκίνο προστάτη από άλλα άτομα που δεν είχαν λάβει ποτέ μετφορμίνη (9). Ωστόσο στην μελέτη REDUCE, στην οποία συμμετείχαν 540 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη δεν παρατηρήθηκε κάποια προφυλακτική δράση της μετφορμίνης έναντι της εμφάνισης καρκίνου προστάτη (10). Η μελέτη STAMPEDE, η οποία μελετά την αποτελεσματικότητα συστηματικής θεραπείας σε προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο προστάτη, μεταξύ άλλων ερευνά και την ενδεχόμενη συσχέτιση της μετφορμίνης με τον καρκίνο προστάτη. Τα αποτελέσματα αναμένονται, καθώς η μελέτη δεν έχει ακόμα ολοκληρωθεί (11).

Μια μετα-ανάλυση από 14 μεγάλες προοπτικές μελέτες δεν κατάφερε να αναδείξει κάποια σχέση μεταξύ ολικής χοληστερόλης, HDL, LDL στον ορό με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη (12).

Επίσης από τα αποτελέσματα της μελέτης REDUCE δεν προκύπτει κάποια προφυλακτική δράση από την χρήση στατινών έναντι της εμφάνισης καρκίνου προστάτη (10).

Αντίθετα παρατηρήθηκε ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο επιθετικού καρκίνου προστάτη (13). Η σχέση αυτή πιθανώς οφείλεται σε εξωτερικούς περιβαλλοντικούς-διαιτητικούς παράγοντες που καθορίζουν τον δείκτη μάζας-σώματος (BMI) και όχι σε γενετικούς παράγοντες (9).

Γονόρροια (OR: 1.31; 95% CI: 1.14-1.52) (9), αλλά και ιογενής λοίμωξη από τον human papillomavirus-16 (9), φαίνεται να συνδέονται ενδεχομένως με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου προστάτη.

Αντίθετα υπεριώδης ακτινοβολία (hazard ratio [HR]: 0.91; 95% CI: 0.88-0.95) (9) και αυξημένη συχνότητα εκσπερμάτισης (> 21 φορές σε ένα μήνα σε σύγκριση με 4-7 φορές σε 1 μήνα) (9) πιθανώς σχετίζονται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη.

Η απολίνωση σπερματικού πόρου, ενώ θεωρείται παραδοσιακά παράγοντας που ευνοεί την εμφάνιση προστατικού καρκίνου, ωστόσο δεν έχει αποδειχθεί αναμφισβήτητα ότι αποτελεί παράγοντα κινδύνου και δεν αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης προστατικού καρκίνου (9).

Αναστολείς της 5-α- αναγωγάσης (5-ARIs)

Οι αναστολείς 5α-αναγωγάσης (5-ARIs) μπορούν εν δυνάμει να προστατεύσουν ή να καθυστερήσουν την ανάπτυξη του καρκίνου προστάτη, κατά 25%. Αυτό ισχύει για όγκους βαθμού I κατά ISUP. Θα πρέπει ωστόσο αυτό το ενδεχόμενο να εξετασθεί με επιφύλαξη και να συνυπολογισθούν οι πιθανές παρενέργειες τους, αλλά και ο ενδεχόμενος μικρός κίνδυνος ανάπτυξης υψηλής κακοήθειας καρκίνου προστάτη από την δράση τους (14-16). Κανένα από τα σκευάσματα 5α-αναγωγάσης δεν έχει εγκριθεί από τον ανάλογο υπεύθυνο ευρωπαϊκό φορέα European Medicines Agency (EMA) για χημειοπροφύλαξη από τον καρκίνο προστάτη.

Η ενδεχόμενη σχέση της χρόνιας φλεγμονής με την ογκογένεση έχει απασχολήσει πολλές ερευνητικές ομάδες παγκοσμίως και αφορά την καρκινογένεση γενικότερα σε διάφορα όργανα. Ήδη έχει τεκμηριωθεί η συσχέτιση της χρόνιας φλεγμονής με διάφορους καρκίνους, όπως για παράδειγμα των φλεγμονωδών νόσων του εντέρου με τον ορθοκολικό καρκίνο, της ηπατίτιδας C με το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και της σχιστοσωμιάσης με τον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως και άλλους (17).

Η χρόνια φλεγμονή μπορεί να οφείλεται σε ενδογενείς παράγοντες, όπως λοιμώξεις, ή σε εξωτερικούς παράγοντες όπως λοιμώξεις, διαιτητικούς, περιβαλλοντικούς και ορμονικούς παράγοντες. Σε κάθε περίπτωση η χρόνια φλεγμονή συνεπάγεται μεταξύ άλλων, αντικατάσταση υγιούς ιστού από κολλαγόνο, κυτταρικό πολλαπλασιασμό και προκαλεί αρχιτεκτονική αναδιαμόρφωση του ιστού, η οποία είναι σημαντικό στοιχείο στην έναρξη της ογκογένεσης. Επιπλέον στην χρόνια φλεγμονή ενεργοποιούνται μεταξύ άλλων, η παραγωγή διαφόρων κυτοκινών, ιντερλευκινών, χημειοκινών, αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), κυκλοοξυγενάσης-2, λιπooξυγενάσης, μεταλοπρωτεϊνάσης-9, καθώς και άλλων κυτταρικών αμυντικών μηχανισμών ως απάντηση σε οξειδωτικά μόρια, οι οποίοι πιθανώς προκαλούν ή ενισχύουν την καρκινογένεση.

Το οξειδωτικό στρες από ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες, μέσω ενεργών ριζών οξυγόνου και αζώτου που συνδέονται στο DNA, με την πάροδο του χρόνου και την παρατεταμένη έκθεση, δρα αθροιστικά οδηγώντας σε μεταλλάξεις οι οποίες με την σειρά τους προκαλούν καρκινογένεση. Στις περιοχές χρόνιας φλεγμονής δημιουργείται επομένως ένα μικροπεριβάλλον το οποίο είναι ευνοϊκό για την διαδικασία της καρκινογένεσης (17-22). Οι κυτταρικοί αμυντικοί μηχανισμοί έναντι των οξειδωτικών παραγόντων, περιλαμβάνουν την άμεση δράση αντιοξειδωτικών ενζύμων, ένζυμα και μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA καθώς και την ενεργοποίηση της απόπτωσης. Μεταλλάξεις των παραπάνω ενζύμων, μεταλλάξεις και διαταραχές του μηχανισμών επιδιόρθωσης βλαβών του DNA, αλλά και καταστολή του μηχανισμού της απόπτωσης προκαλούν ή ενισχύουν την

καρκινογένεση (17-22). Βλάβες χρονίας φλεγμονής παρατηρούνται πολύ συχνά σε παρασκευάσματα βιοψίας ασθενών με καρκίνο προστάτη (23). Παθολογοανατομικά δεδομένα χειρουργικών παρασκευασμάτων ριζικής προστατεκτομής αναδεικνύουν μαζί με τον καρκίνο, συχνά σε γειτνίαση με αυτόν, πολυεστιακές περιοχές επιθηλιακής ατροφίας με αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό που αποτελούν την λεγόμενη «πολλαπλασιαστική φλεγμονώδη ατροφία» (proliferative inflammatory atrophy – PIA) (24).

Η PIA περιλαμβάνει ένα φάσμα αλλοιώσεων με επιθηλιακή ατροφία, υψηλό δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού και χαμηλό δείκτη απόπτωσης, ενώ εμφανίζεται στα πλαίσια αναγέννησης μετά από φλεγμονή, οξειδωτική βλάβη, υποξία ή λοίμωξη (24). Οι περιοχές με PIA εκτός από την γειτνίασή τους με περιοχές αδενοκαρκινώματος, συχνά μεταπίπτουν σε υψηλού βαθμού προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (High Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia – HGPIN), η οποία θεωρείται προκαρκινωματώδης κατάσταση.

Τα παραπάνω ευρήματα ευνοούν την θεωρία για μια ενδεχόμενη σχέση της χρονίας φλεγμονώδους αντίδρασης με την ανάπτυξη καρκίνου προστάτη. Διάφορες μετααναλύσεις αναφέρουν σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ της προστατίτιδας και της ανάπτυξης καρκίνου προστάτη (20,21). Ωστόσο δεν έχουν ακόμα διευκρινιστεί το είδος και η χρονική διάρκεια της προστατίτιδας που έχει μεγαλύτερη σχέση με την καρκινογένεση (20).

Τεστοστερόνη

Σε μια μελέτη από τους Travis και συνεργάτες (25), η οποία παρουσιάστηκε το 2019 από το National Cancer Research Institute (NCRI), μελετήθηκε το ενδεχόμενο συσχέτισης δύο ορμονών, της τεστοστερόνης και του παράγοντα IGF-1 με τον καρκίνο προστάτη. Στην μελέτη αυτή συμμετείχαν 200.452 άνδρες καταχωρημένοι στην βάση δεδομένων του Ηνωμένου Βασιλείου UK Biobank, οι οποίοι είχαν ελεύθερο ιστορικό, χωρίς κάποια γνωστή κακοήθεια. Σε αυτούς μετρήθηκαν ο παράγοντας IGF-1 και η τεστοστερόνη στον ορό. Μετά από μέσο όρο χρόνου παρακολούθησης 6.9 ετών, 5.412 άνδρες εμφάνισαν καρκίνο προστάτη, ενώ 296 άνδρες πέθαναν από αυτόν.

Παρατηρήθηκε ότι υψηλά επίπεδα ελεύθερης τεστοστερόνης ορού συσχετίστηκαν θετικά με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου προστάτη,

ενώ αυξημένες τιμές της SHBG (συνδεόμενη με σφαιρίνη ορμόνη του φύλου) συσχετίζονταν με χαμηλό κίνδυνο προστατικού καρκίνου.

Ούτε η ελεύθερη τεστοστερόνη, αλλά ούτε και η SHBG βρέθηκε να σχετίζονται με την θνητότητα από τον προστατικό καρκίνο.

Η ολική τεστοστερόνη ορού επίσης δεν βρέθηκε να σχετίζεται με την συχνότητα εμφάνισης καρκίνου προστάτη ή την θνητότητα από αυτόν (25).

Μια άλλη μελέτη στην οποία συμμετείχαν 3.886 ασθενείς και 6438 υγιείς άνδρες, δεν ανέδειξε καμία συσχέτιση μεταξύ καρκίνου προστάτη και των επιπέδων ορού της τεστοστερόνης, της ελεύθερης τεστοστερόνης, της διϋδροτεστοστερόνης, της ανδροστενδιόνης, της οιστραδιόλης ή άλλων ανδρογόνων (26). Οι συγγραφείς της συγκεκριμένης μελέτης συμπεραίνουν ότι μια μέτρηση ανδρογόνων ορού στην ενήλικη ζωή του άνδρα δεν θα πρέπει να αποτελεί παράγοντα κινδύνου εμφάνισης καρκίνου προστάτη (26).

Όπως αναφέρεται στις κατευθυντήριες οδηγίες του 2019 της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας μια ομαδοποιημένη ανάλυση (pooled analysis) έδειξε ότι υπογοναδικοί άνδρες με πολύ χαμηλή τεστοστερόνη (κατώτερη τιμή 10%) έχουν χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης προστατικού καρκίνου σε σύγκριση με τον κοινό μέσο όρο (OR: 0.77) (27). Επιπλέον αναφέρεται ότι η θεραπεία αποκατάστασης τεστοστερόνης σε υπογοναδικούς άνδρες δεν αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου προστάτη (28).

Insulin-like growth factor – 1 (IGF-1)

Ο προσομοιάζων την ινσουλίνη αυξητικός παράγων IGF-1 είναι μια πεπτιδική ορμόνη που προάγει την ανάπτυξη κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, ενώ στους ενήλικες σχετίζεται με την μυϊκή μάζα (29). Έχει παρατηρηθεί *in vitro* ότι ο IGF-1 προάγει τον πολλαπλασιασμό και αναστέλλει την απόπτωση φυσιολογικών και καρκινικών κυττάρων (30, 31). Σε μια μελέτη με 3.700 άνδρες με καρκίνο του προστάτη και 5.200 μάρτυρες, διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του IGF-1 στον ορό και του καρκίνου του προστάτη και πιο συγκεκριμένα οι ασθενείς με αυξημένα επίπεδα IGF-1 εμφάνιζαν 1,4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης του καρκίνου (32). Επίσης στην παραπάνω μελέτη (25) με τους 200.452 άνδρες του Ηνωμένου Βασιλείου (UK

Biobank), όπως παρουσιάστηκε από τους Travis και συνεργάτες το 2019, μαζί με την τεστοστερόνη ερευνήθηκε και η σχέση του IGF-1 με τον καρκίνο προστάτη.

Στα αποτελέσματα της μελέτης βρέθηκε ότι υψηλές τιμές του παράγοντα IGF-1 στον ορό συσχετίζονταν θετικά με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη (HR per 1 SD increase = 1.11, 95% CI 1.07-1.15), καθώς και αυξημένη θνητότητα από καρκίνο προστάτη (1.17, 1.01-1.36) (25).

Οιστρογόνα

Τα οιστρογόνα παραδοσιακά θεωρούνταν ότι έχουν προστατευτική δράση έναντι του καρκίνου προστάτη και χρησιμοποιούνταν ως ένα από τα θεραπευτικά μέσα σε προχωρημένο καρκίνο προστάτη. Το θεραπευτικό αποτέλεσμα επιτυγχάνεται μέσω του μηχανισμού αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-γονάδες, αλλά και μέσω μηχανισμού άμεσης καταστολής της ανάπτυξης των προστατικών καρκινικών κυττάρων. Τα τελευταία χρόνια ωστόσο έχουν προκύψει δεδομένα από πειραματικές μελέτες που αναδεικνύουν μια ενδεχόμενη ενίσχυση της ανάπτυξης, αλλά και εξέλιξης του προστατικού καρκίνου, από την δράση των οιστρογόνων. Δρώντας μέσω του στρωματικού υποδοχέα των οιστρογόνων ERα φαίνεται ότι ευνοείται η έναρξη και ανάπτυξη του προστατικού καρκίνου (33). Η έκφραση του υποδοχέα ERα παύει στα πρώιμα στάδια του καρκίνου και επανενεργοποιείται με την εξέλιξη της νόσου, σε πιο προχωρημένα στάδια. Αντίστοιχα ο υποδοχέας των οιστρογόνων ERβ, που βρίσκεται στο προστατικό επιθήλιο, φαίνεται να παίζει ρόλο στην έναρξη του καρκίνου και στην εξέλιξή του σε ορμονοάντοχο καρκίνο (33). Απαιτούνται περαιτέρω έρευνες ώστε να αποσαφηνισθεί η επίδραση των οιστρογόνων στον καρκίνο του προστάτη.

Πολυεστιακότητα - Πολυσταδιακότητα - Ετερογένεια

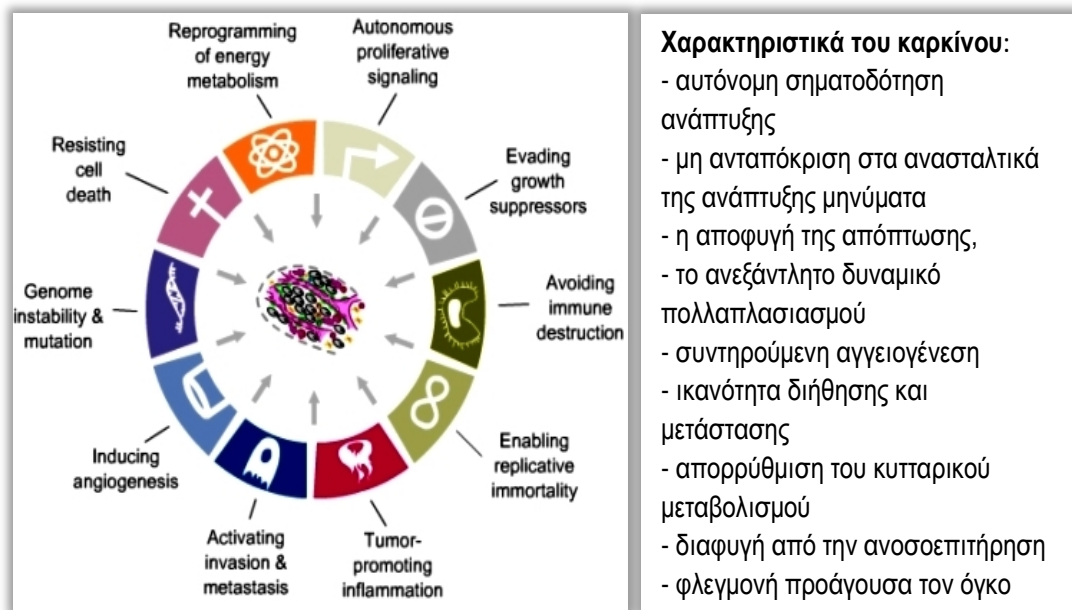
Ο καρκίνος προστάτη είναι αναμφισβήτητα μια πολυεστική και πολυσταδιακή νόσος με έντονη ετερογένεια. Η μοριακή παθοφυσιολογία του προστατικού καρκίνου είναι σύνθετη, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες και σίγουρα δεν είναι ακόμα πλήρως διευκρινισμένη.

Υπάρχουν διάφορες θεωρίες έναρξης της καρκινογένεσης, εξέλιξης και δημιουργίας μεταστάσεων. Η ανάπτυξη εφαρμογών γενετικής των τελευταίων κυρίως ετών και οι δυνατότητες ανάλυσης του γονιδιώματος άνοιξαν νέους ορίζοντες στην διερεύνηση της μοριακής βιολογίας και των γενετικών φαινομένων που χαρακτηρίζουν τον προστατικό καρκίνο. Ο μηχανισμός έναρξης της καρκινογένεσης του προστατικού καρκίνου είναι όμως ακόμα σε σημαντικό βαθμό άγνωστος.

Θεμελιώδης αρχή της καρκινογένεσης γενικότερα που ισχύει και στην περίπτωση του προστατικού καρκίνου είναι, ότι μια μη θανατηφόρα γενετική βλάβη αποτελεί το εναρκτήριο γεγονός της καρκινογένεσης. Τρεις αρχικές κατηγορίες φυσιολογικών γονιδίων αποτελούν τον πρωταρχικό στόχο της γενετικής βλάβης (πρωτοογκογονίδια, ογκοκατασταλτικά γονίδια, γονίδια που ρυθμίζουν την απόπτωση). Μια τέταρτη κατηγορία αφορά τα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA.

Η καρκινογένεση είναι μια πολυσταδιακή διαδικασία σε φαινοτυπικό και γονιδιακό επίπεδο.

Τα καρκινικά κύτταρα γενικά εμφανίζουν κάποιες κοινές χαρακτηριστικές ιδιότητες (Εικόνα 4). Αυτές είναι η αυτόνομη σηματοδότηση ανάπτυξης, η μη ανταπόκριση στα ανασταλτικά της ανάπτυξης μηνύματα, η αποφυγή της απόπτωσης, το ανεξάντλητο δυναμικό πολλαπλασιασμού, η συντηρούμενη αγγειογένεση, η ικανότητα διείσδυσης, μετανάστευσης προς δημιουργία μετάστασης, η απορρύθμιση του κυτταρικού μεταβολισμού, η διαφυγή από την ανοσοεπιτήρηση, η φλεγμονή προάγουσα τον όγκο και η γονιδιακή αστάθεια (34).



Εικόνα 4: Χαρακτηριστικά του καρκίνου (τροποποίηση από 34)

Η κακοήθης εξαλλαγή του φυσιολογικού προστατικού κυττάρου ξεκινά όταν αυτό υποστεί την αρχική βλάβη στο DNA. Κύτταρα-απόγονοι του αρχικού κυττάρου θα υποστούν στην συνέχεια νέες βλάβες του DNA, επιγενετικές αλλαγές, μεταλλάξεις και μοριακές μεταβολές, η συσσώρευση των οποίων επάγει την κακοήθη εξαλλαγή δημιουργώντας τον αρχικό πληθυσμό καρκινικών κυττάρων του όγκου. Κάποιες μελέτες αναφέρουν ότι τα αρχικά καρκινικά κύτταρα προέρχονται από πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα του προστάτη (prostate stem cells), ενώ άλλες μελέτες θεωρούν ότι προέρχονται από βασικά επιθηλιακά κύτταρα (35, 36).

Έχουν προταθεί και διερευνηθεί διάφορα μοντέλα καρκινογένεσης, όπως το στοχαστικό μοντέλο, όπου κάθε καρκινικό κύτταρο μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ενός όγκου, το μοντέλο της κλωνικής εξέλιξης και το μοντέλο των καρκινικών αρχέγονων κυττάρων ή βλαστοκυττάρων. Είναι πιθανό στον καρκίνο προστάτη να συμβαίνουν περισσότερα από ένα των παραπάνω μοντέλων καρκινογένεσης ή και συνδυασμός αυτών (37).

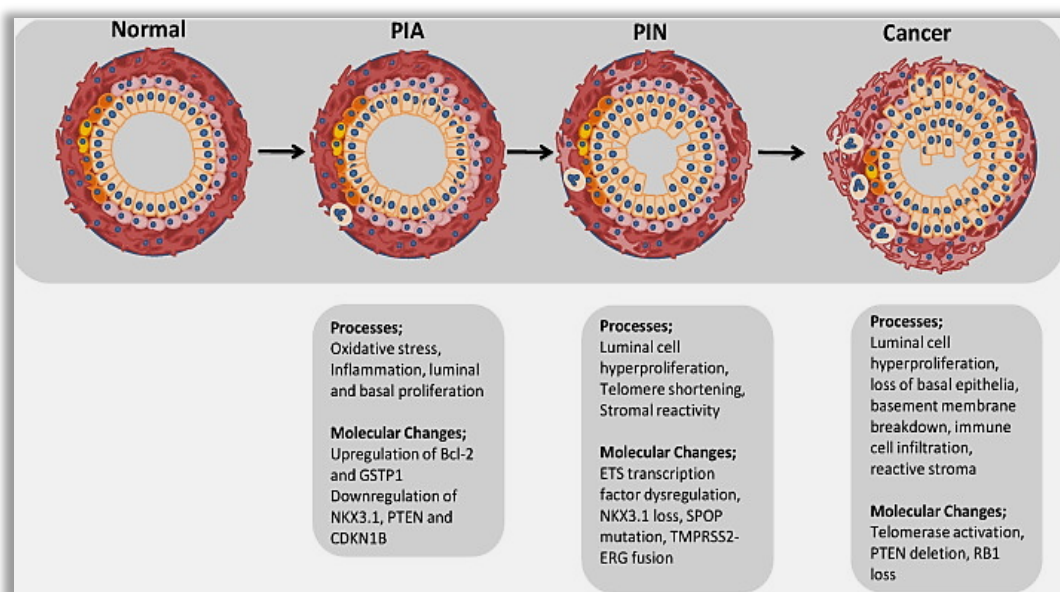
Τα αρχέγονα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από την ικανότητα αυτοανανέωσης, την χημειοανθεκτικότητα και την ικανότητα διαφοροποίησής τους προς διάφορους κυτταρικούς τύπους. Δεν είναι ακόμα σαφές αν τα αρχέγονα προστατικά καρκινικά κύτταρα αποτελούν έναν αυτούσιο κυτταρικό

πληθυσμό ή έχοντας κάποια πλαστικότητα, βρίσκονται σε μια διαρκή κατάσταση μετάπτωσης και διαφοροποίησης προς διαφορετικούς τύπους προστατικών κυττάρων (37). Μέχρι σήμερα δεν έχει ακόμα ταυτοποιηθεί το πρωταρχικό γεγονός, γενετικό ή επιγενετικό, που προκαλεί την έναρξη της καρκινογένεσης.

Σίγουρα ένα από τα πρωταρχικά μοριακά φαινόμενα που έχει παρατηρηθεί στην καρκινογένεση του προστάτη είναι η υπερμεθυλίωση του γονιδίου GSTP1 (38), το οποίο έχει ρόλο στην επιδιόρθωση του DNA.

Η υπερμεθυλίωση, η οποία οδηγεί σε μεταγραφική αποσιώπηση (silencing) του γονιδίου, έχει ανιχνευθεί στο γονιδίωμα όλων των καρκινωμάτων του προστάτη καθώς και στην πλειοψηφία των PIN βλαβών. Είναι επίσης βέβαιο ότι φλεγμονή και οξειδωτικές βλάβες, μεταξύ άλλων, εμπλέκονται στην αρχική διαφοροποίηση του φυσιολογικού προστατικού ιστού προς καταστάσεις που θεωρούνται προ-καρκινικές όπως είναι η προστατική υπερπλαστική φλεγμονώδης ατροφία (Proliferative Inflammatory Atrophy, PIA) και η προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (Prostatic Intraepithelial Neoplasia, PIN).

Εικόνα 5



Εικόνα 5: Πιθανός μηχανισμός έναρξης και εξέλιξης καρκίνου προστάτη (35)

Πολυσταδιακή Ανάπτυξη

Στις περισσότερες μελέτες θεωρείται ότι υφίστανται γενικά 3 βασικά στάδια ανάπτυξης του προστατικού καρκίνου: Το πρώτο στάδιο (1^ο) είναι η προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (PIN), η οποία θεωρείται προ-καρκινωματούδης κατάσταση και χαρακτηρίζεται από υπερπλασία των εκκριτικών κυττάρων και προοδευτική απώλεια των βασικών κυττάρων. Δεύτερο στάδιο (2^ο) είναι το ανδρογονο-εξαρτώμενο αδενοκαρκίνωμα, το οποίο διακρίνεται σε λανθάνον και κλινικό αδενοκαρκίνωμα και χαρακτηρίζεται από ολική απώλεια των βασικών κυττάρων και ισχυρό φαινότυπο εκκριτικών κυττάρων (luminal phenotype). Το τρίτο στάδιο (3^ο) είναι το ανδρογονο-άντοχο αδενοκαρκίνωμα (ευνουχοάντοχο ή ορμονοάντοχο), το οποίο αναπτύσσεται ανεξάρτητα από την σηματοδότηση των ανδρογόνων.

Παρά το ότι η υψηλόβαθμη PIN θεωρείται προ-καρκινική κατάσταση, η ύπαρξη της PIN δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για να αναπτυχθεί καρκίνος προστάτη, αλλά ούτε και όλες οι HGPIN εξελίσσονται σε καρκίνους. Υπάρχουν αρκετές μελέτες που ερευνούν τις μεταλλάξεις που παρατηρούνται σε περιοχές HGPIN και στους καρκίνους με τους οποίους γειτνιάζουν. Στην μελέτη των Gerrin και συνεργατών (39) μελετώντας το προφίλ μεταλλάξεων 6 περιοχών HGPIN που γειτνιάζουν με ένα αδενοκαρκίνωμα θετικό ως προς την TMPRSS2-ERG σύντηξη, φάνηκε ότι όλες οι περιοχές είχαν το ίδιο ειδικό σημείο θραύσης του γονιδίου σύντηξης TMPRSS2-ERG του καρκίνου, γεγονός που φανερώνει την κοινή κλωνική καταγωγή και συσχέτιση των HGPIN περιοχών με τον καρκίνο (39). Ωστόσο από τις 32 συνολικά γονιδιακές μεταλλάξεις που παρατηρήθηκαν στο αδενοκαρκίνωμα, μόνο η μετάλλαξη του γονιδίου ORZAP1 ανιχνεύθηκε σε μία μόνο περιοχή με HGPIN (39). Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ενδεχομένως ότι η HGPIN δεν αποτελεί πάντα την πρόδρομη βλάβη του καρκινώματος με το οποίο συνορεύει, αλλά ενδεχομένως μόνο έναν μακρινό πρόγονό του (39).

Έτσι εκφράζεται από τους ερευνητές Haffner και συνεργάτες κάποια επιφυλακτικότητα για την μοριακή συσχέτιση μεταξύ μιας HGPIN και του γειτονικού της καρκίνου (40). Στην μελέτη τους αναφέρεται, ότι μερικές φορές η περιοχή που εκλαμβάνεται ως HGPIN είναι ήδη αδενοκαρκίνωμα, το οποίο

μιμείται την μορφολογική εικόνα της HGPIN, μέσω μηχανισμών ανάδρομου αποικισμού των φυσιολογικών αδενίων με καρκινικά κύτταρα. Αναφέρεται δε, ότι παρόμοιο φαινόμενο θα μπορούσε να ισχύει και στην περίπτωση ενός ενδοπροstaticού προστατικού καρκίνου με το γειτονικό του αδενοκαρκίνωμα (40). Πάντως όλο και περισσότερες μελέτες αναφέρουν ότι κάποιες βλάβες με χαρακτηριστικά HGPIN αποτελούν στην πραγματικότητα ήδη καρκινώματα, τα οποία υποδύονται μορφολογικά απλές HGPIN βλάβες (41).

Κλωνική εξέλιξη

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι ο προστατικός καρκίνος ακολουθεί κλωνική εξελικτική πορεία, κατά την οποία αναπτύσσει υποκατηγορίες καρκινικών κυττάρων (κλώνους) με διαφορετική βιολογική συμπεριφορά (εξέλιξη και μεταστατική ιδιότητα) (35, 42).

Μελετώντας γεινιάζοντες καρκίνους με διαφορετικό βαθμό κακοήθειας στο ίδιο παρασκεύασμα ριζικής προστατεκτομής, φάνηκε ότι όγκοι χαμηλού βαθμού διαφοροποίησης κατά Gleason 3 (Gleasonscore 3+3=6) καθώς και όγκοι υψηλότερου βαθμού κακοήθειας κατά Gleason 4, εμφάνιζαν ίδια σημεία θραύσης της σύντηξης TMPRSS2-ERG, επιβεβαιώνοντας την κλωνική καταγωγή των όγκων αυτών (43, 44). Θεωρείται έτσι πιθανό ότι όγκοι με χαμηλό βαθμό κακοήθειας 3 κατά Gleason εξελίσσονται κλωνικά σε υψηλότερου βαθμού κακοήθειας 4 κατά Gleason ή ότι Gleason βαθμού 3 και Gleason βαθμού 4 προέρχονται από κοινή πρόδρομη-προκαρκινική βλάβη ακολουθώντας κλωνικού τύπου εξέλιξη (43). Ανάλογα αποτελέσματα κοινής καταγωγής και κλωνικής εξέλιξης των όγκων Gleason βαθμού 3 και Gleason βαθμού 4 παρουσιάζει και η μελέτη των Kontun και συνεργάτων (44). Στην μελέτη αυτή επίσης αναδείχθηκαν τα ίδια σημεία θραύσης στην σύντηξη TMPRSS2-ERG, η οποία ήταν και η πιο συχνή γονιδιακή αναδιάταξη που παρατηρείται και στους όγκους Gleason βαθμού 3 και Gleason βαθμού 4 ενώ απώλεια PTEN παρατηρήθηκε μόνο σε ορισμένους θετικούς για TMPRSS2-ERG σύντηξη όγκους (44).

Ανάπτυξη με κλάδους και απόκλιση

Στην μελέτη των Van der Weele και συνεργατών έγινε ανάλυση της αλληλουχίας του DNA όλων των γονιδίων σε Gleason 3 όγκους, Gleason 4 και σε μεταστατικούς όγκους σε ορισμένους ασθενείς. Παρατηρήθηκε ότι 87% σωματικών μεταλλάξεων που ανιχνεύονται στους Gleason 3 όγκους παρατηρήθηκαν μόνο σε αυτούς, ενώ Gleason 4 και μεταστατικοί όγκοι παρουσίασαν ένα διαφορετικό αλλά σχετικά κοινό προφίλ μεταλλάξεων. Οι Gleason 4 όγκοι εμφάνισαν 82% κοινές μεταλλάξεις με τους μεταστατικούς καρκίνους, ενώ αντίστοιχα είχαν μόνο 9% παρόμοιες μεταλλάξεις με τους Gleason 3 (45). Μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη p53 παρατηρήθηκαν μόνο σε Gleason 4 και μεταστατικούς καρκίνους. Αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν ενδεχομένως μια πρώιμη απόκλιση (divergence) των Gleason 3 στην εξελικτική πορεία από αυτή των Gleason 4 και μεταστατικών όγκων (45). Η ανάλυση αλληλουχίας του γονιδιώματος σε άλλη μελέτη (46) έδειξε ότι γειτονικοί Gleason 3 και Gleason 4 όγκοι έχουν πολλές όμοιες μεταλλάξεις καταδεικνύοντας έτσι την κοινή κλωνική εξελικτική τους πορεία, ωστόσο παρατηρήθηκαν και άλλες πολλές μοναδικές, διαφορετικές μεταξύ τους μεταλλάξεις μεταξύ των Gleason 3 και Gleason 4 όγκων, γεγονός που πιθανώς υποδηλώνει ότι ο όγκος Gleason 4 δεν προήλθε από τον Gleason 3 όγκο (46). Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν υπέρ ενός διακλαδισμένου μοντέλου (branched) ανάπτυξης του καρκίνου. Αυτό σημαίνει ότι οι όγκοι Gleason 3 και Gleason 4 έχουν ίσως κοινή προέλευση, ωστόσο στην συνέχεια αποκλίνουν και ακολουθούν διαφορετικές εξελικτικές πορείες ως διαφορετικοί κλάδοι εξέλιξης του όγκου καταλήγοντας έτσι για παράδειγμα σε Gleason 3 όγκο και Gleason 4 όγκο (46).

Ο προστάτης ως ογκογενετικό-μεταλλαξιογόνο πεδίο

Μελέτες ανάλυσης του γονιδιώματος (Whole genome DNA sequencing studies) που πραγματοποιήθηκαν σε περιοχές του όγκου, κοντά στις οποίες υπήρχαν και περιοχές με φυσιολογικό προστατικό ιστό, ανίχνευσαν μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων σε μορφολογικά φυσιολογικό ιστό εκτός από τον καρκινικό ιστό. Οι μεταλλάξεις που παρατηρήθηκαν στον μορφολογικά φυσιολογικό ιστό αντιπροσωπεύουν στην ουσία κλωνοποιημένες επεκτάσεις του καρκινικού

ιστού, καταδεικνύοντας ότι η μεταλλαξιογόνος διαδικασία που συντελείται στον καρκινικό ιστό, συντελείται παράλληλα ως έναν βαθμό και στον μορφολογικά γειτονικό φυσιολογικό ιστό (46). Το φαινόμενο αυτό βασίζεται στην θεωρία, ότι στον προστατικό ιστό δημιουργείται ένα «ογκογενετικό-μεταλλαξιογόνο πεδίο» (oncogenic mutational field) επηρεάζοντας τον φυσιολογικό προστατικό ιστό, ή ότι τα φυσιολογικά προστατικά κύτταρα ακολουθούν μια διαδικασία σωματικού μωσαϊκισμού με αυξημένο ρυθμό μεταλλάξεων (47). Η θεωρία του «ογκογενετικού μεταλλαξιογόνου πεδίου» εξηγεί κατά έναν τρόπο και τον πολυεστιακό χαρακτήρα του προστατικού καρκίνου (47), ενώ ανάλογος μηχανισμός έχει περιγραφεί και σε άλλους καρκίνους, όπως στον καρκίνο μαστού και στον ορθοκολικό καρκίνο (48).

Πολυεστιακότητα και ετερογένεια (intertumor - intratumor heterogeneity)

Ο καρκίνος προστάτη είναι πολυεστιακός, αφού κατά την διάγνωση πρωτοπαθείς όγκοι έχουν πολλαπλές γενετικές διακριτές εστίες (tumor foci). Ανάλυση γονιδιώματος σε αυτές τις εστίες του καρκίνου ανέδειξε ανεξάρτητους και ξεχωριστούς ως προς το σωματικό γονιδιακό προφίλ τους όγκους (49).

Έχει παρατηρηθεί, ότι απομακρυσμένες καρκινικές εστίες μέσα στον ίδιο όγκο εμφανίζουν διαφορετική, ανεξάρτητη ογκογενετική προέλευση (47).

Υπολογίζεται ότι 80% των ασθενών που υποβάλλονται σε ριζική προστατεκτομή για κλινικά εντοπισμένο καρκίνο προστάτη έχουν πολυεστιακούς καρκίνους (47). Γονιδιακή ανάλυση των ανεξάρτητων και διαφορετικών εστιών από τον ίδιο όγκο δεν ανέδειξε όμοιες γονιδιακές μεταβολές, παρά μόνο πολύ λίγες κοινές σημειακές μεταλλάξεις μεταξύ των εστιών, ενισχύοντας έτσι την θεωρία της πολυεστιακότητας του όγκου, με διαφορετικούς κυτταρικούς καρκινικούς κλώνους (multiclonal) (50). Τα ευρήματα αυτά έχουν σημαντική κλινική σημασία για 2 κυρίως λόγους. Κατά πρώτον, το γεγονός ότι η διάγνωση βασίζεται πρακτικά μόνο σε δείγματα ιστού από την βιοψία, είναι πιθανό να μην ανιχνευθούν άλλες ενδεχομένως παρακείμενες καρκινικές εστίες διαφορετικού γονιδιακού και μοριακού χαρακτήρα, με αποτέλεσμα η ιστολογική ταξινόμηση του όγκου η οποία θα κατευθύνει την μελλοντική θεραπεία να μην είναι πλήρης. Κατά δεύτερον,

καθώς δεν ανιχνεύονται όλες οι καρκινικές εστίες με τον δειγματοληπτικό τρόπο στον οποίο βασίζεται η διάγνωση, δεν αξιολογούνται όλοι οι καρκινικοί κυτταρικοί κλώνοι του όγκου ως προς την εξέλιξη της νόσου και την πρόγνωσή της (50).

Μελέτες γονιδιακής ανάλυσης και ανάλυσης του RNA μεταγραφήματος που έχουν γίνει σε όγκους από παρασκευάσματα ριζικής προστατεκτομής ανέδειξαν την παρουσία μεγάλου βαθμού ετερογένειας μεταξύ των διαφορετικών καρκινικών εστιών εντός του ίδιου όγκου (intertumoral), αλλά επίσης και μεταξύ των διάφορων περιοχών εντός της ίδια καρκινικής εστίας του όγκου (intratumoral) (35, 51-56).

Σύμφωνα με κάποιες μελέτες η ετερογένεια ακολουθεί σχετικά σταθερό μοτίβο ετερογένειας, το οποίο είναι συμβατό με τον μηχανισμό εξέλιξης με μορφή κλάδων (branched tumor evolution), 75% των μεταλλάξεων είναι υποκλωνικές (52).

Στην μελέτη των Su και συνεργατών (55), στην οποία χρησιμοποιήθηκε ανάλυση γονιδιώματος με την μέθοδο single-cell whole genome profiling, παρατηρήθηκε ότι κάποιοι όγκοι ακολουθούν μια σχετικά γραμμική εξέλιξη, δηλαδή όλα τα κύτταρα εμφανίζουν την ίδια TP53 μετάλλαξη, υποδηλώνοντας μια «μονοκλωνική» προέλευση, ενώ άλλοι όγκοι μόνο χαρακτηρίζονται από «πολυκλωνική» προέλευση, καθώς μόνο ένα μέρος των κυττάρων εμφάνιζαν την TP53 μετάλλαξη, ενώ άλλα κύτταρα εμφάνιζαν άλλη «οδηγό»-μετάλλαξη (driver mutation) (55). Μελέτες έχουν δείξει, ότι μέχρι και 75% των καρκινικών εστιών εντός του ίδιου όγκου δεν εμφάνιζαν ούτε μία ίδια σημειακή μετάλλαξη, ενώ είχαν μόνο λίγες ίδιες μεταλλάξεις ως ακριβή αντίγραφα (56).

Οι έρευνες και αναλύσεις σε γονιδιωματικό, ιστοπαθολογικό, μοριακό επίπεδο αναδεικνύουν την ετερογένεια του προστατικού καρκίνου ως μια καθοριστική ιδιότητα - κλειδί του συγκεκριμένου καρκίνου. Η ετερογένεια συμβάλλει σε μεγάλο βαθμό στην πολυπλοκότητα της διάγνωσης του πρωτοπαθούς όγκου, στην επιλογή της θεραπευτικής αντιμετώπισης και της πρόγνωσής του. Η ετερογένεια αποτελεί πιθανώς την αιχμή του δόρατος του προστατικού καρκίνου, καθώς όλη η επιλογή θεραπευτικής αντιμετώπισής του βασίζεται στο ιστολογικό αποτέλεσμα βιοψίας, η οποία όμως με τον δειγματοληπτικό τρόπο που διενεργείται αδυνατεί να ανιχνεύσει τις πολλαπλές καρκινικές εστίες (foci) εντός του ίδιου όγκου (35). Παρά την μεγάλη ετερογένεια που χαρακτηρίζει τον

πρωτοπαθή όγκο, η μεταστατική εστία ή οι μεταστατικές εστίες στον ίδιο ασθενή δεν εμφανίζουν συνήθως τον ίδιο υψηλό δείκτη ετερογένειας όπως στην πρωτοπαθή εστία (57). Στην πραγματικότητα υψηλή ανάλυση όλου του γονιδιώματος έδειξε ότι η πλειονότητα του μεταστατικών όγκων έχουν κοινό σημείο εκκίνησης, ακολουθούν μια μονοκλωνική εξέλιξη και φαίνεται ότι διατηρούν ένα μοναδικό διακριτό μοτίβο εξέλιξης από ίδια αντίγραφα καρκινικά κύτταρα, τα οποία όμως κατά την εξέλιξή τους συσσωρεύουν και άλλες υποκλωνικές μεταλλάξεις (subclonal mutations) (58).

Οδηγός μετάλλαξη (driver mutation)

Ο προστάτης είναι ίσως στην έναρξη της καρκινογένεσης το μέρος όπου παραγματοποιούνται πολλά ογκογενετικά συμβάντα, η πλειονότητα των οποίων οδηγεί μόνο σε κάποιον λανθάνοντα καρκίνο, ο οποίος δεν θα εξελιχθεί σε κλινικό καρκίνο. Ωστόσο παρά την πολυεστιακότητα και ετερογένεια, όταν κάποια εστία τελικά εξελιχθεί και δημιουργήσει μετάσταση, τότε ξεχωρίζουν συγκεκριμένοι κυτταρικοί κλώνοι οι οποίοι είναι πιο ισχυροί να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν. Αυτοί οι καρκινικοί κυτταρικοί κλώνοι αποτελούν στην ουσία την «οδηγό» μετάλλαξη (driver mutation), η οποία καθοδηγεί πλέον την εξέλιξη και ανάπτυξη του μεταστατικού όγκου. Έτσι μειώνεται και η ετερογένεια του όγκου.

Σε κάποιους ασθενείς, οι οποίοι απεβίωσαν από μεταστατικό καρκίνο προστάτη, κατάφεραν οι ερευνητές με αναλύσεις γονιδιώματος να εντοπίσουν τον καρκινικό μεταστατικό κλώνο που ήταν υπεύθυνος για τον θάνατο του ασθενούς. Μπόρεσαν στην συνέχεια να ιχνηλατήσουν προς τα πίσω την εξέλιξή του και βρήκαν ότι προέρχεται από κάποια χαμηλής κακοήθειας καρκινική εστία, η οποία ήταν παρούσα από την στιγμή της διάγνωσης μέσα στον όγκο και όχι από κάποια παρακείμενη υψηλής κακοήθειας εστία που επίσης υπήρχε στον όγκο την στιγμή της διάγνωσης (58).

Ανάλυση όλου του γονιδιώματος σε ασθενείς με πολλαπλούς μεταστατικούς όγκους έδειξε ότι το 40-90% των μεταστάσεων, και κυρίως των σημαντικών «οδηγών» μεταστάσεων, είναι καρκινικοί υποκλώνοι με κοινή προέλευση (59). Όταν δημιουργήσουν μια μετάσταση τα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα,

ακολουθούν μια συνεχή κλωνικού τύπου εξέλιξη, με αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μεταστατικών εστιών αλλά και μεταξύ μεταστατικής εστίας και πρωτοπαθούς εστίας (60,61). Μέσω των αλληλεπιδράσεων αυτών δημιουργείται στο μοριακό επίπεδο ανταγωνισμός μεταξύ των διαφόρων καρκινικών κυτταρικών υποκλώνων σε σχέση με το μικροπεριβάλλον τους, προκαλώντας έτσι μεγαλύτερη ετερογένεια στον όγκο. Η ετερογένεια του όγκου σταθεροποιείται και παύει, όταν ένας εξελιγμένος μεταστατικός υποκλώνος αποκτήσει ισχυρό δυναμικό να δημιουργήσει τοπική και απομακρυσμένη μετάσταση και να μπορέσει να επιβιώσει από την αντικαρκινική θεραπεία (60,61).

Η φυλογενετική ανάλυση της εξελικτικής πορείας της μετάστασης αναδεικνύει 3 τρόπους εξέλιξης: την γραμμική εξέλιξη (linear evolution), την κλαδική ή μέσω δημιουργίας κλάδων εξέλιξη (branched evolution) και την ανεξάρτητη εξέλιξη (independent evolution) (60,61). Στην πρόσφατη μελέτη τους (62) οι Knorrers και συνεργάτες παρατήρησαν ότι 23% των πυελικών λεμφαδενικών μεταστάσεων δεν συνδέονται σε μοριακό επίπεδο με την κυρίαρχη ή βασική πρωτοπαθή εστία (index primary lesion) (62).

Συμπερασματικά οι μελέτες σε μεταστατικές εστίες δείχνουν ότι οι μεταστατικές εστίες δεν προέρχονται αποκλειστικά ή απαραίτητα από την κυρίαρχη βασική πρωτοπαθή εστία (index primary lesion), αλλά ενδέχεται να προέρχονται από μικρότερες, δευτερεύουσες εστίες (non-index lesions) του πρωτοπαθούς όγκου. Τα ευρήματα αυτά έχουν σημαντικό κλινικό ενδιαφέρον ιδιαίτερα για την διενέργεια των εστιασμένων θεραπευτικών μεθόδων για τον προστατικό καρκίνο.

Επίσης κατά την θεραπεία με ανδρογονικό αποκλεισμό, μικροί πληθυσμοί καρκινικών κυττάρων του πρωτοπαθούς όγκου επανενεργοποιούν τον ανδρογονικό υποδοχέα μέσω μεταλλάξεων και ποικίλων μοριακών μηχανισμών, ώστε πολλαπλά αντίγραφα ενεργών πλέον ανδρογονικών υποδοχέων αποφεύγουν την δράση των αντιανδρογόνων. Άλλα καρκινικά κύτταρα του πρωτοπαθούς όγκου, μέσω μεταλλάξεων των MYC και CTNNB1, αποκτούν την δυνατότητα να πολλαπλασιάζονται και να δημιουργούν νέες μεταστατικές εστίες (60-63). Αρκετοί ερευνητές θεωρούν ίσως κλινικά χρήσιμη την μοριακή ανάλυση πολλαπλών μεταστατικών εστιών, ώστε να αναγνωρίζεται το ολοκληρωμένο μοριακό προφίλ του όγκου και των

μεταστάσεών του, ώστε να ακολουθούνται και οι κατάλληλες θεραπευτικές μέθοδοι (35).

Φαίνεται από όλα τα παραπάνω ότι, ενώ ιστολογικά ο καρκίνος προστάτη είναι σχετικά ομοιογενής, καθώς αφορά στην πλειονότητα αδενοκαρκινώματα, σε μοριακό επίπεδο αντίθετα, χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια με ποικίλες μοριακές υποκατηγορίες (35).

ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Υπάρχουν 3 βασικές κατηγορίες χρωμοσωμικών μεταβολών που οδηγούν στην έναρξη και πρόοδο του καρκίνου προστάτη. Γονιδιακή γενετική προδιάθεση και σωματικές μεταλλάξεις που ενισχύουν την δράση των ογκογονιδίων, καθώς και μεταλλάξεις που απενεργοποιούν ή προκαλούν απώλεια της δράσης των ογκοκατασταλτικών γονιδίων (64).

Νεότερα δεδομένα από πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι οι γαμετικές γενετικές μεταλλάξεις και σωματικές μεταλλάξεις ενδέχεται να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους κατά την καρκινογένεση (65).

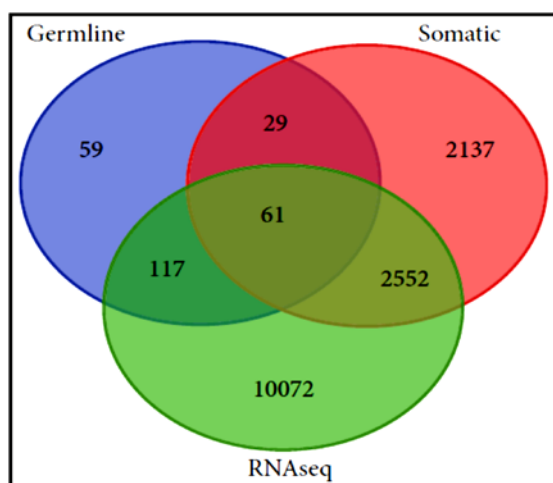
Σε έρευνες ανάλυσης μεταγραφήματος παρατηρήθηκε η έκφραση 61 γονιδίων τα οποία εμφανίζουν γαμετικές και σωματικές μεταλλάξεις (65). Φαίνεται ότι υπάρχει σε μοριακό επίπεδο αλληλεπίδραση γονιδιακής έκφρασης και μοριακών μονοπατιών, συμπεριλαμβάνοντας μονοπάτια σηματοδότησης των P53, STAT3, NKX3-1, KLK3 και του ανδρογονικού υποδοχέα (AR), όπου συνυπάρχουν γαμετικές γενετικές και σωματικές μεταλλάξεις (65).

Η αλληλεπίδραση και ο συνδυασμός γαμετικών και σωματικών μεταλλάξεων σε ορισμένες περιπτώσεις φαίνεται να ενισχύει την καρκινογένεση, προάγοντας επιθετικές μορφές του προστατικού καρκίνου (65) Εικόνα 6.

Η ανάλυση γονιδιακής έκφρασης έδειξε ότι οι προστατικοί καρκίνοι ταξινομούνται σε 3 κυρίως υποκατηγορίες: PCS1, PCS2, PCS3. Οι κατηγορίες PCS1, PCS2, αποτελούν εκκριτικούς τύπους (luminal subtype), ενώ ο PCS3 αποτελεί βασικό τύπο (basal subtype) (66). Αξίζει να σημειωθεί, ότι οι PCS1 όγκοι εξελίσσονται πιο γρήγορα σε μεταστατικούς από ότι οι PCS2 και οι PCS3 όγκοι (67). Επίσης οι PCS1 και PCS2 όγκοι χαρακτηρίζονται από την έκφραση γονιδίων, όπως EZH2, AR, MK167, NKX3.1, KLK2/3, και ERG (luminal genes), ενώ οι PCS3 εμφανίζουν έκφραση γονιδίων, όπως ACTA2, GSTP1, IL6, KRT5, και TP63 (basal genes) (67). Στους PCS1 όγκους παρατηρείται αυξημένη δράση των EZH2, PTEN, αυξημένος κυτταρικός πολλαπλασιασμός, ενεργοποίηση βλαστοκυττάρων, νευροενδοκρινική διαφοροποίηση και μηχανισμός ενεργοποίησης του ανδρογονικού υποδοχέα. Οι PCS2 όγκοι χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα έκφρασης των ERG, AR, FOXA1, και SPOP1 μονοπατιών. Οι PCS3 όγκοι χαρακτηρίζονται κυρίως από την δράση

του RAS μονοπατιού καθώς και από την αυξημένη επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάβαση (66,67).

Εικόνα 6



Εικόνα 6: Το γράφημα Venn από την μελέτη των Mamidi και συνεργατών (65)

Παρουσιάζονται διαφοροποιημένη και μη διαφοροποιημένη έκφραση γαμετικών και σωματικών γονιδιακών μεταλλάξεων, καθώς και γονιδίων χωρίς μεταλλάξεις.

61 γονίδια εμφανίζουν γαμετικές αλλά και σωματικές μεταλλάξεις.

RNA-seq αναφέρεται σε έκφραση γονιδίων από την βάση δεδομένων της TCGA.

TCGA: The Cancer Genome Atlas, GWAS: μελέτη συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος (Genome-Wide Association Study – GWAS) (65).

Χρωμοσωμικές μεταβολές

Στις έρευνες για την μοριακή βιολογία και τις γενετικές μεταβολές που σχετίζονται με τον καρκίνο προστάτη έχουν αναδειχθεί πλήθος γενετικών μεταβολών φανερώνοντας την μεγάλη ετερογένεια που χαρακτηρίζει τον συγκεκριμένο καρκίνο. Αυτή η έντονη γενετική ετερογένεια αποτελεί εν μέρει και την δυσκολία στην θεραπεία του προστατικού καρκίνου (64). Χρωμοσωμικές ελλείψεις (deletions) ή διπλασιασμοί (duplications) έχουν σταθερά παρατηρηθεί σε πολλαπλές έρευνες, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 4 (64). Ελλείψεις τμημάτων χρωμοσωμάτων συμβαίνουν συνήθως σε αρχικά στάδια της ογκογένεσης και οδηγούν συνήθως σε απώλεια της δράσης συγκεκριμένων γονιδίων που βρίσκονται στα τμήματα αυτά. Αντίθετα διπλασιασμοί τμημάτων χρωμοσωμάτων συμβαίνουν συνήθως σε μεταγενέστερα στάδια της

ογκογένεσης και συμβάλλουν στην ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου, ενώ οδηγούν συνήθως σε ενίσχυση της δράσης των συγκεκριμένων γονιδίων που βρίσκονται στα τμήματα αυτά. Υπάρχουν ωστόσο και περιπτώσεις που συγκεκριμένα τμήματα χρωμοσωμάτων εμφανίζουν περιοχές με ελλείψεις αλλά και περιοχές με διπλασιασμούς (64). Χρωμοσωμικές μεταβολές που σχετίζονται με τον καρκίνο προστάτη παρατηρούνται συχνότερα στα χρωμοσώματα 8, 13, 7, 10, 16, 6 και 17 (68). Το χρωμόσωμα 8 είναι αυτό στο οποίο παρατηρούνται οι γενετικές μεταβολές σταθερά στις έρευνες, με κυριότερες μεταβολές την απώλεια στην θέση 8p και διπλασιασμό στην θέση 8q. 13q είναι επίσης μια άλλη θέση που εμφανίζει μεταβολές σε πολλές μελέτες, στην οποία θέση βρίσκονται και δύο γνωστά ογκοκατασταλτικά γονίδια το RB και BRCA2 (64).

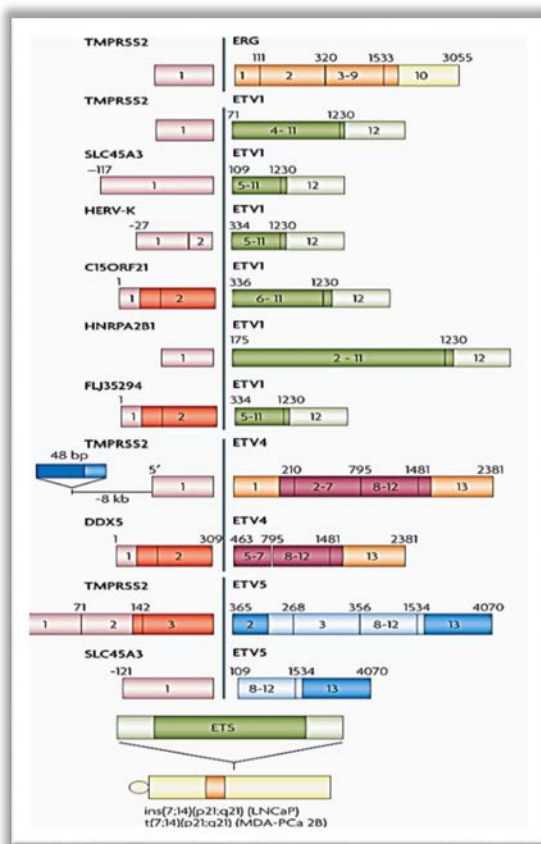
Πίνακας 4. Χρωμοσωμικές Μεταβολές		
Διπλασιασμός	Έλλειψη	Μικτή
8q	8p	7p
Xq	1q	7q
	10q	
	13q	
	16q	
	5q	
	6q	
	17p	

Πίνακας 4: Χρωμοσωμικές μεταβολές στον καρκίνο προστάτη

Σύντηξη γονιδίων – χιμαιρικά γονίδια

Μια από τις συχνότερες γενετικές μεταβολές στον καρκίνο προστάτη είναι η σύντηξη γονιδίων και η δημιουργία χιμαιρικών γονιδίων (fusion genes). Τα

χιμαιρικά γονίδια οφείλονται σε γενετικές ανακατατάξεις (rearrangements), οι οποίες τις περισσότερες φορές κυτταρογενετικά είναι ισοζυγισμένες μεταθέσεις (balanced translocations) (69,70,71) Εικόνα 7.



Εικόνα 7: Σύντηξη γονιδίων – Χιμαιρικά γονίδια στον καρκίνο προστάτη. Στην αριστερή πλευρά φαίνεται το γονίδιο στο 5' άκρο του χιμαιρικού γονιδίου και στην δεξιά πλευρά το γονίδιο στο 3' άκρο του χιμαιρικού γονιδίου (71).

Τα περισσότερα γονίδια σύντηξης στον καρκίνο προστάτη δημιουργούνται από ανδρογόνο-ρυθμιζόμενα γονίδια, όπως τα *TMPRSS2* (transmembrane protease, serine 2), *SLC45A3* (solute carrier family 45, member 3) και *NDRG1* (N-myc downstream regulated 1), στην περιοχή 5' και από μεταγραφικούς παράγοντες της οικογένειας ETS, όπως *ERG* (v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog), *ETV1* (ets variant 1) στην περιοχή 3' (71, 72, 73). Το πιο συχνό γονίδιο σύντηξης στον καρκίνο προστάτη δημιουργείται μέσω χρωσωμικών μεταθέσεων ή ελλείψεων μεταξύ της 5'-αμετάφραστης περιοχής του *TMPRSS2* γονιδίου και μίας κωδικοποιούσας περιοχής του *ERG* γονιδίου (72) και έχει ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση του *ERG*.

Το γονίδιο *TMPRSS2* κωδικοποιεί μία ανδρογόνο-εξαρτώμενη διαμεμβρανική πρωτεάση σερίνης, η οποία εκφράζεται σε φυσιολογικά κύτταρα προστατικού αδένου (74), ενώ υπερεκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα.

Το γονίδιο *ERG* κωδικοποιεί τον ειδικό μεταγραφικό παράγοντα *ERG* (75), ο οποίος υπερεκφράζεται στον προστατικό καρκίνο. Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης *ERG* έχει επανειλημμένα παρατηρηθεί σε υψηλό ποσοστό στον καρκίνο προστάτη (76,77), αποτελεί καθοριστικό γεγονός στην κακοήγη εξαλλαγή και εξέλιξη της PIN σε καρκίνο (78), ενώ σχετίζεται με προχωρημένο στάδιο και υψηλό Gleason score της νόσου, μετάσταση και μειωμένο χρόνο επιβίωσης (79). Το γονίδιο σύντηξης *TMPRSS2-ERG* έχει συσχετιστεί με υποτροπή της νόσου μετά την ριζική προστατεκτομή, ενώ η υπερέκφρασή του αποτελεί έναν ισχυρό θεραπευτικό στόχο, εξαιτίας της ειδικότητάς του στον καρκίνο προστάτη και της υπερέκφρασής του σε διάφορα στάδια ανάπτυξης του καρκίνου (80).

Εκτός από τα χιμαιρικά γονίδια *TMPRSS2-ERG* και *SLC45A3-ERG* που συναντώνται συχνότερα στον καρκίνο προστάτη, υπάρχουν άλλα πιο σπάνια χιμαιρικά γονίδια που παρατηρούνται σε όγκους αρνητικούς για το *TMPRSS2-ERG*. Τέτοια σπανιότερα γονίδια σύντηξης είναι για παράδειγμα το *KLK2-ETV1* (kallikrein-related peptidase 2 και ets variant 1) και *FKBP5-ERG* (FK506 binding protein 5, v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog) (70). Και τα δύο τελευταία γονίδια βρίσκονται στην 5' περιοχή και ρυθμίζονται από τα ανδρογόνα (81).

Γενετικές Μεταλλάξεις - Κληρονομικότητα

Υπάρχουν αρκετές περιοχές του γονιδιώματος που περιέχουν αυτοσωμικά επικρατή κληρονομικά γονίδια που συνδέονται με τον προστατικό καρκίνο, όπως είναι 1q24-25 (*HPC1*), 1q42-43 (*PCAP*), Xq27-8 (*HPCX*), 1p36 (*CAPB*), 20q13 (*HPC20*), 17p11 (*ELAC2*), and 16q23 (68,82-84).

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζονται τα γονίδια που έχουν περισσότερο μελετηθεί και συνδεθεί με την κληρονομικότητα του καρκίνου προστάτη (64).

Πίνακας 5: Κληρονομικά γονίδια στον καρκίνο προστάτη		
Γονίδιο	θέση	Είδος μεταβολής/μετάλλαξη
AR	Xq11	Polymorphic polyglutamate (CAG) repeats
RNASEL (HPC1)	1q24	Point mutations: Met1Ile, Glu265X, Arg462Gln
		Truncation: four-base deletion at codon 157
MTHFR	1p36	C677T and A1298C
SRD5A2	2p23	Point mutations: Val89Leu, Ala49Thr
MSR1	8p22	Point mutations: Arg293X, Pro36Ala, Ser41Tyr, Val113Ala, Asp174Tyr, Gly369Ser, His441Arg
CYP17	10q24	Point mutation in promoter site
BRCA1	17q21	Deletion
BRCA2	13q13	Deletion, promoter hypermethylation, protein truncation
ELAC2	17p11	Point mutations: Arg781His, Ser217Leu, Ala541Thr
		Base insertion: premature termination after codon 157

Πίνακας 5: Κληρονομικά γονίδια στον καρκίνο προστάτη (64)

Ανδρογονικός Υποδοχέας (AR, Androgen Receptor)

Το γονίδιο του υποδοχέα των ανδρογόνων (AR) βρίσκεται στην θέση Xq11-12 στο μακρό σκέλος του X χρωμοσώματος, αποτελείται από ένα μόνο αλληλόμορφο (85) και κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη με 910-919 αμινοξέα και μοριακό βάρος περίπου 110 kDa. Η απομόνωση και ο χαρακτηρισμός του cDNA της πλήρους μορφής του υποδοχέα των ανδρογόνων επέτρεψε την αναγνώριση της αλληλουχίας των αμινοξέων που τον αποτελούν (86).

Ο ανθρώπινος ανδρογονικός υποδοχέας είναι ένα πολυπεπτίδιο, αποτελούμενο από τέσσερα διακριτά λειτουργικά τμήματα (87): το αμινοτελικό άκρο, το τμήμα σύνδεσης με το DNA (DBD-DNA Binding Domain), την περιοχή άρθρωσης (hinge domain) και την περιοχή πρόσδεσης του συνδέτη (LBD-Ligand Binding Domain). Η δραστική μορφή του ανδρογονικού υποδοχέα είναι ένα ομοδιμερές που σχηματίζεται σαν αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης περιοχών στο αμινοτελικό άκρο και στο καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης. Το ομοδιμερές με τη σειρά του αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες, για να σχηματίσει ένα ενεργό μεταγραφικό ρυθμιστικό σύμπλοκο (87). Σε περιπτώσεις απουσίας σηματοδότησης από ανδρογόνα, ο υποδοχέας δεσμεύεται από τις πρωτεΐνες θερμικού shock HSP-70 και HSP-90 στο κυτταρόπλασμα του προστατικού κυττάρου, ώστε να αποφεύγεται η αποδόμησή του (88).

Το αμινοτελικό άκρο (TAD, the amino terminal domain or transactivation domain) είναι η περιοχή του AR που επιτελεί έναν αποφασιστικό ρόλο στη ρύθμιση της μεταγραφής του γονιδίου στο οποίο προσδένεται ο AR. Το 1ο εξώνιο, το οποίο κωδικοποιεί την TAD, χαρακτηρίζεται από έναν μεγάλο αριθμό διαδοχικών επαναλήψεων του κωδικονίου GGN, όπου N οποιοδήποτε νουκλεοτίδιο και από έναν μεγάλο αριθμό διαδοχικών επαναλήψεων του κωδικονίου CAG. Τα επαναλαμβανόμενα κωδικόνια GGN κωδικοποιούν τη σύνθεση 10-30 διαδοχικών αμινοξέων γλυκίνης, ενώ οι διαδοχικές επαναλήψεις κωδικονίων CAG κωδικοποιούν τη σύνθεση 11-31 διαδοχικών αμινοξέων γλουταμίνης. Η περιοχή TAD μπορεί είτε να αυξάνει το ρυθμό της μεταγραφής ευαίσθητων στα ανδρογόνα γονιδίων, είτε να αναστέλλει την έκφραση των γονιδίων αυτών. Μόνο μεγάλες διαγραφές και/ή πολλαπλές αντικαταστάσεις αμινοξέων μέσα στο αμινοτελικό άκρο του ανδρογονικού υποδοχέα μπορούν να επηρεάσουν τη μεταγραφική δραστηριότητα. Καθώς εισέρχεται η τεστοστερόνη στα επιθηλιακά προστατικά κύτταρα μετατρέπεται με την δράση της 5α-αναγωγάσης σε διυδροτεστοστερόνη (DHT), η οποία στην συνέχεια συνδέεται με τον ανδρογονικό υποδοχέα AR (88). Ο δεσμός σύνδεσης της DHT είναι 10 φορές ισχυρότερος από τον αντίστοιχο δεσμό σύνδεσης της τεστοστερόνης (88). Η σύνδεση της διυδροτεστοστερόνης με τον AR οδηγεί σε αποδέσμευσή του από τις πρωτεΐνες HSP-70, HSP-90 και στην συνέχεια σε διμερισμό και φωσφορυλίωσή του. Με την φωσφορυλίωση επιτρέπεται η μεταφορά του συμπλόκου AR-ανδρογόνου στον πυρήνα του

προστατικού κυττάρου και ενεργοποιείται η μεταγραφική του δραστηριότητα (85,88).

Η συνεχής δράση του ανδρογονικού υποδοχέα είναι υπεύθυνη για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την κυτταρική ανάπτυξη και αναστολή της απόπτωσης του προστατικού επιθηλίου προκαλώντας την καρκινογένεση του προστάτη (72). Το μήκος των AR πρωτεϊνών ποικίλλει ανάλογα με τις επαναλήψεις πολύ-γλουταμίνης, πολύ-γλυκίνης και πολύ-προλίνης (88). Ο αριθμός και το μήκος των επαναλήψεων πολύ-γλουταμίνης CAG επηρεάζει την δραστικότητα του υποδοχέα (85).

Σε αρκετές επιδημιολογικές μελέτες έχει παρατηρηθεί θετική συσχέτιση μεταξύ του μικρού μήκους επαναλήψεων πολύ-γλουταμίνης και καρκίνου προστάτη. Σε αфро-αμερικανικούς πληθυσμούς όπου ο επιπολασμός προστατικού καρκίνου είναι υψηλός, έχουν παρατηρηθεί AR πρωτεΐνες με μικρό αριθμό CAG επαναλήψεων (89), ενώ σε ασιατικούς πληθυσμούς με χαμηλό επιπολασμό της νόσου, οι AR-πρωτεΐνες εμφανίζουν μεγαλύτερο αριθμό CAG επαναλήψεων (89).

Αυτός ο γενετικός πολυμορφισμός των πρωτεϊνών του AR υποδοχέα θεωρείται παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση κληρονομικού προστατικού καρκίνου (85,89).

Επιπλέον έχουν παρατηρηθεί στον AR υποδοχέα και πολλές σωματικές μεταλλάξεις, οι οποίες προάγουν την καρκινογένεση, αυξάνουν την επιθετικότητα του προστατικού καρκίνου και συμβάλλουν σε μηχανισμούς ευνουχοαντοχής (72).

Ανδρογόνο-αντοχή (Ευνουχοαντοχή)

Η ανάπτυξη ευνουχοαντοχής στον καρκίνο προστάτη βασίζεται σε διάφορες σωματικές αλλαγές, οι οποίες περιλαμβάνουν την υπερέκφραση του υποδοχέα AR, πολλαπλασιασμό και σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου AR, αυξημένη μετατροπή ανδρογόνων σε διυδροτεστοστερόνη, de-νονο σύνθεση και προς τα πάνω ρύθμιση του CYP17A1, που οδηγεί σε αύξηση σύνθεσης ανδρογόνων καθώς και splice variants του υποδοχέα AR (72).

Ο πολλαπλασιασμός του γονιδίου AR παρατηρείται στο 30% των ασθενών με ευνουχοάντοχο καρκίνο προστάτη (88). Το γεγονός αυτό οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα υποδοχέα AR στα καρκινικά κύτταρα, ενισχύοντας την ευαισθησία τους και την ενεργοποίησή τους ακόμα και σε χαμηλότερα επίπεδα ανδρογόνων (85,90). Η προς τα άνω ρύθμιση και αύξηση έκφρασης του AR ρυθμίζει και αυξάνει την έκφραση των ενζύμων SRD5α1, 3βHSD και AKR1C3 στο μονοπάτι των ανδρογόνων. Υπερέκφραση των συγκεκριμένων γονιδίων φαίνεται ότι σχετίζεται με την ανάπτυξη ευνουχοαντοχής στο αδενοκαρκινώμα προστάτη (91-93).

Σημειακές σωματικές μεταλλάξεις του γονιδίου AR αυξάνουν την ευαισθησία του υποδοχέα AR σε χαμηλά επίπεδα ανδρογόνων, σε μη ανδρογονικά μόρια ακόμα και σε συνθετικά αντιανδρογόνα που χρησιμοποιούνται σε θεραπευτικά σχήματα (72,85).

Ο υποδοχέας AR που έχει υποστεί μετάλλαξη ενεργοποιείται μεταξύ άλλων από γλυκοκορτικοειδή, προγεστερόνη, οιστρογόνα καθώς και διυδροεπιανδροστερόνη (72). Σημειακές μεταλλάξεις T877, W741C, W741L (88) καθώς επίσης μεταλλάξεις ματίσματος που οδηγούν σε αύξηση της έκφρασης του AR (όπως για παράδειγμα variant V7 AR) έχουν παρατηρηθεί σε ευνουχοάντοχο καρκίνο προστάτη (85, 88-90).

Μερικές μελέτες αναφέρουν αποσιώπηση του γονιδίου AR (AR gene silencing) με συνοδό πλήρη έλλειψη του υποδοχέα AR, γεγονός στο οποίο ενδεχομένως συμβάλει η υπερμεθυλίωση του υποκινητή (promoter hypermethylation) (72, 85, 89).

Εκτός από τους παραπάνω πιθανούς «ανδρογονο-εξαρτώμενους» μηχανισμούς, φαίνεται ότι υπάρχει και έτερος μηχανισμός ευνουχοαντοχής, ο οποίος δεν εξαρτάται από το μονοπάτι των ανδρογόνων («ανδρογονο-ανεξάρτητος»).

Ο «ανδρογονο-ανεξάρτητος» αυτός μηχανισμός είναι πιθανός, καθώς πολλοί ασθενείς με ευνουχοάντοχο καρκίνο προστάτη δεν εμφανίζουν κάποια μετάλλαξη του γονιδίου του υποδοχέα AR. Στους ασθενείς αυτούς θεωρείται ότι κάποιοι άλλοι επίκτητοι παράγοντες προκαλούν ενδεχομένως δευτερογενείς μηχανισμούς αντοχής του υποδοχέα στα ανδρογόνα (88). Συγκεκριμένα υπάρχουν ενδείξεις ότι η υπερέκφραση διαφόρων αυξητικών παραγόντων, όπως του ομοιάζοντα με ινσουλίνη αυξητικού παράγοντα (IGF), του αυξητικού

παράγοντα των κερατινοκυττάρων (keratinocyte growth factor), του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor, EGF), του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού-β (TGF-β) σε συνδυασμό με την υπερέκφραση των αντίστοιχων υποδοχέων τους, καθώς και οι ενεργοποιητές της πρωτεϊνικής κινάσης A, οδηγούν σε αυτόνομη ενεργοποίηση του ανδρογονικού υποδοχέα AR απουσία του τμήματος που συνδέεται με το ανδρογόνο, με αποτέλεσμα την εξέλιξη και ευνουχοαντοχή του καρκίνου (88). Είναι επίσης αξιοσημείωτο ότι η ενισχυμένη έκφραση των παραπάνω παραγόντων του ορού σχετίζεται με υψηλού βαθμού κακοήθειας προστατικό καρκίνο με υψηλό μεταστατικό δυναμικό (88).

Οι ερευνητές Bonci και συνεργάτες (94) παρατήρησαν ότι η απώλεια έκφρασης του γονιδιακού συμπλόκου MiR-16/MiR-16 και η προς τα άνω ρύθμιση του MiR-21 είναι κρίσιμα γεγονότα στην δημιουργία μετάστασης από τον καρκίνο προστάτη (94). Επίσης υπερέκφραση με αυξημένη μεταγραφική δραστηριότητα του AR ανεξάρτητα από την παρουσία ανδρογόνων, συνδέεται με αυξημένα επίπεδα STAT-3 και κυτοκινών, IL-6 και IL-6R στον ορό ασθενών με ευνουχοάντοχο καρκίνο προστάτη (64, 66, 95).

RNASEL, HPC1

Το γονίδιο *RNASEL* (ribonucleaseL) που βρίσκεται στη χρωμοσωμική θέση 1q24-25 (θέση HPC1), έχει επίσης συσχετιστεί με την ανάπτυξη του καρκίνου προστάτη. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ενδοριβονουκλεάση L (RNaseL), η έκφραση της οποίας επάγεται από ιντερφερόνες, έχει αντιική καθώς και προ-αποπτωτική δράση με αποτέλεσμα να δρα ογκοκατασταλτικά. Το γονίδιο *RNASEL* θεωρείται πιθανό αλληλίο του γονιδίου HPC1 (Human Prostate Cancer 1).

Μεταλλάξεις του γονιδίου *RNASEL* συμμετέχουν στην δημιουργία προστατικού καρκίνου (64).

Macrophage scavenger receptor 1 (MSR1)

Το γονίδιο *MSR1* βρίσκεται στην θέση 8p22 και θεωρείται επίσης κληρονομικό γονίδιο του καρκίνου προστάτη (96). Το συγκεκριμένο γονίδιο κωδικοποιεί υπομονάδες ενός ετεροτριμερούς υποδοχέα των μακροφάγων (subunits of class-A macrophage scavenger receptor) και συνδέεται με οξειδωμένες

λιποπρωτεΐνες του ορού, λιποπολυσακχαρίτες και λιποτοιχοϊκό οξύ του τοιχώματος βακτηρίων (97), προάγοντας έτσι την απεκκριτική λειτουργία παθογόνων και άλλων άχρηστων ουσιών. Μελέτες έχουν δείξει μεταλλάξεις του γονιδίου *MSR1* σε μικρό ποσοστό ασθενών με καρκίνο προστάτη, δείχνοντας ίσως και μια ενδεχόμενη συσχέτιση του καρκίνου με βακτηριακή λοίμωξη (89, 98).

MTHFR

Επιπλέον σε ορισμένες μελέτες έχει παρατηρηθεί ενδεχόμενη συσχέτιση του προστατικού καρκίνου με μετάλλαξη του γονιδίου *MTHFR* (αναγωγάσης του μέθυλο-τετραϋδροφυλλικού οξέος), το οποίο κωδικοποιεί σημαντικό ένζυμο για την σύνθεση των νουκλεοτιδίων (99).

SRD5α2

Το γονίδιο *SRD5α2* κωδικοποιεί την κυρίαρχη ισομορφή του ενζύμου 5-α-αναγωγάση στον φυσιολογικό προστάτη, μετατρέποντας την τεστοστερόνη σε διυδροτεστεστερόνη στα προστατικά κύτταρα.

Το κληρονομούμενο πολυμορφικό αλληλόμορφο Ala49Thr ενισχύει την δράση του ενζύμου *SRD5α2* και φαίνεται σε έρευνες ότι αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης επιθετικών μορφών καρκίνου προστάτη (68).

CYP17

Το γονίδιο *CYP17* με το αντίστοιχο ένζυμο-κλειδί που κωδικοποιεί, αποτελεί σημαντικό μέρος στο μονοπάτι της βιοσύνθεσης των ανδρογόνων και το οποίο καταλύει στους όρχεις την μετατροπή της πρεγνενολόνης σε DHEA ενώ στα επινεφρίδια, τη μετατροπή της προγεστερόνης σε ανδροστενδιόνη. Κληρονομικές γενετικές μεταλλάξεις του *CYP17* οδηγούν σε de-νovo σύνθεση ανδρογόνων που συνδέονται με τον υποδοχέα AR στα προστατικά καρκινικά κύτταρα (72).

BRCA1 – BRCA2

Το γονίδιο *BRCA1* (Breast Cancer Type 1) συμβάλλει στην αποτροπή εμφάνισης όγκων του μαστού σε υγιή άτομα. Διαδραματίζει ένα καθοριστικό ρόλο στην επιδιόρθωση του DNA, στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και στην

διατήρηση της σταθερότητας του γονιδιώματος. Επίσης, το γονίδιο *BRCA1* αποτελείται από 22 εξώνια που εκτείνονται σε περίπου 110 kb του DNA στη χρωμοσωμική περιοχή 17q21. Υπάρχουν περισσότερες από 600 γνωστές μεταλλάξεις του *BRCA1*, η πλειοψηφία των οποίων αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.

Το γονίδιο *BRCA2* (Breast Cancer Type 2) περιέχει 27 εξώνια και εδράζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 13q12.3. Τόσο το γονίδιο *BRCA1* όσο και το γονίδιο *BRCA2* έχουν ένα μεγάλο εξώνιο, το εξώνιο 11, μεταφραστικές περιοχές εκκίνησης στο εξώνιο 2 και κωδικοποιούσες περιοχές πλούσιες σε βάσεις A-T. Τέλος, σε πειράματα απώλειας ετεροζυγωτίας του αλληλίου αγρίου τύπου έχει αποδειχτεί πως το γονίδιο *BRCA2* είναι ογκοκαταστολέας (64, 72). Τα γονίδια *BRCA1*, *BRCA2* ανήκουν στην κατηγορία των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, γονίδια δηλαδή των οποίων η φυσιολογική λειτουργία παρεμποδίζει την ογκογένεση. Και τα δύο γονίδια εμπλέκονται στη διατήρηση της σταθερότητας του γονιδιώματος και συγκεκριμένα, στο μονοπάτι του ομόλογου ανασυνδυασμού για την επιδιόρθωση της διπλής έλικας του DNA. Μεταλλάξεις σε αυτά έχουν συσχετιστεί με τον κληρονομικό καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών. Το 1-2 % των ασθενών με καρκίνο προστάτη σε νεαρή ηλικία έχουν γαμετική μετάλλαξη *BRCA2* (72). *BRCA2* μεταλλάξεις συνοδεύονται με 5-7 φορές υψηλότερο κίνδυνο για κληρονομικό καρκίνο προστάτη, ενώ *BRCA1* μεταλλάξεις έχουν 3-8 μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης του προστατικού καρκίνου (72).

Διάφορες ελλείψεις στο γονίδιο *BRCA2* έχουν ταυτοποιηθεί και ενοχοποιηθεί για εκδηλώσεις διαφορετικών τύπων καρκίνου. Μερικοί από αυτούς είναι: ο παγκρεατικός καρκίνος τύπου 2 (PNCA2), ο καρκίνος μαστού και ωοθηκών τύπου 2 (BROVCA2), η αναιμία Fanconi, το γλοίωμα τύπου 3 (GLM3). Στον γυναικείο πληθυσμό, ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού ή/και των ωοθηκών αυξάνει σε μεγάλο βαθμό αν έχει κληρονομηθεί μετάλλαξη έλλειψης (επιβλαβής) στα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2*. Επιπλέον, οι ίδιες μεταλλάξεις στον ανδρικό πληθυσμό προκαλούν καρκίνο του μαστού (72). Τα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* ήταν τα πρώτα γονίδια που εντοπίστηκαν, ενοχοποιήθηκαν και συσχετίστηκαν με τον κληρονομικό καρκίνο του μαστού, των ωοθηκών, του προστάτη και του εντέρου (72).

Σωματικές Μεταλλάξεις

Κατά την διάρκεια του χρόνου συμβαίνουν στα προστατικά καρκινικά κύτταρα σωματικές σημειακές μεταλλάξεις, γονιδιακές μεταβολές, όπως ελλείψεις ή πολλαπλασιασμοί, χρωμοσωμικές αναδιατάξεις και μεταβολές στο DNA στις περιοχές μεθυλίωσης. Αυτές οι αλλαγές συσσωρεύονται αργά με τον χρόνο και συχνά δρουν συνεργιστικά με κληρονομούμενες γενετικές μεταλλάξεις ενισχύοντας τις τελευταίες. Σύμφωνα με ένα ευρέως αποδεκτό μοντέλο καρκινογένεσης στον καρκίνο προστάτη, οι κληρονομούμενες γενετικές μεταλλάξεις ευθύνονται για την έναρξη της καρκινογένεσης, ενώ οι σωματικές μεταλλάξεις ενισχύουν και προάγουν την εξέλιξή της. Υπάρχει ετερογένεια στις σωματικές χρωμοσωμικές μεταβολές, με διαφορετικού τύπου βλάβες γενετικού υλικού να παρατηρούνται στις ίδιες χρωμοσωμικές περιοχές σε διαφορετικούς ασθενείς (64).

GSTP1

Η υπερμεθυλίωση του γονιδίου *GSTP1* αποτελεί μια από τις συχνότερες και πιο χαρακτηριστικές σωματικές μεταλλάξεις που παρατηρείται στο αδενοκαρκίνωμα προστάτη και φαίνεται να αποτελεί ένα κρίσιμο γεγονός στα αρχικά στάδια δημιουργίας του προστατικού καρκίνου (98-100). Το γονίδιο γλουταθειόνη-S-τρανσφεράση της τάξης π-(Pi-class glutathione- S-transferase, *GSTP1*), βρίσκεται στην χρωμοσωμική θέση 11q13. Το *GSTP1* διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία του κυττάρου από καρκινογόνους, κυτταροτοξικούς, φλεγμονώδεις και οξειδωτικούς παράγοντες. Το *GSTP1* φυσιολογικά εκφράζεται μόνο στα βασικά κύτταρα του προστατικού επιθηλίου και όχι από τα εκκριτικά αδενικά κύτταρα.

Η έκφραση του *GSTP1* αυξάνεται αξιοπρόσεκτα σε περιπτώσεις φλεγμονής στον προστάτη και αποτελεί ένδειξη κυτταρικού οξειδωτικού στρες, ενώ αντίθετα στην προκαρκινική κατάσταση PIN και στον καρκίνο προστάτη παρατηρείται απώλεια της έκφρασής του (98-100).

Αυξημένα επίπεδα υπερμεθυλιωμένης *GSTP1* έχουν ανευρεθεί σε δείγμα ιστών με ατυπία, ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (PIN), αδενοκαρκίνωμα προστάτη, ενώ επιπλέον έχουν ανευρεθεί σε δείγματα σπέρματος, ούρων και πλάσματος

ασθενών με καρκίνο προστάτη (101). Υπερμεθυλίωση του DNA του γονιδίου *GSTP1*, στις νησίδες CpG του 5' υποκινητή του γονιδίου (98,100-103), οδηγεί σε απώλεια έκφρασης του αντιοξειδωτικού ενζύμου γλουταθειόνης-S-τρανσφεράσης, γεγονός το οποίο συμβάλει στην καρκινογένεση του προστάτη, καθιστώντας τα κύτταρα του προστάτη ευάλωτα σε επιπλέον γονιδιωματικές μεταβολές που οφείλονται σε ηλεκτρονιόφιλα ή οξειδωτικά καρκινογόνα (98,100-103).

NKX3.1

Το γονίδιο *NKX3.1* βρίσκεται στην περιοχή 8p21 και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη NKX3.1, η οποία έχει ογκοκατασταλτικές ιδιότητες. Έλλειψη στην συγκεκριμένη χρωμοσωμική περιοχή παρατηρείται σε περιπτώσεις καρκίνου και οδηγεί σε απώλεια ετεροζυγωτίας (loss of heterozygosity, LOH). Η απενεργοποίηση του συγκεκριμένου γονιδίου με μείωση της έκφρασης της NKX3.1 είναι βασικό γεγονός και συμβαίνει στα αρχικά στάδια ανάπτυξης του καρκίνου (104,105)

HOXB13

Το γονίδιο *HOXB13* και ειδικά ο τύπος του G84E έχει συσχετισθεί με σημαντικά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης κληρονομικού προστατικού καρκίνου (106).

PTEN

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο *PTEN* βρίσκεται στην χρωμοσωμική θέση 10q23 και κωδικοποιεί μια λιπιδική φωσφατάση, η οποία καταστέλλει τις δράσεις της κινάσης της 3-φωσφοϊνοσιτόλης (PI3K), ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την απόπτωση. Επιπλέον το γονίδιο PTEN αναστέλλει το PI3K/AKT/mTOR μονοπάτι, το οποίο συμμετέχει στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και απόπτωση. ενισχύοντας έτσι την κυτταρική επιβίωση και αναστέλλοντας την απόπτωση. Έχει παρατηρηθεί στον καρκίνο προστάτη έλλειψη του ενός αλληλόμορφου με συνέπεια την μείωση της έκφρασης του PTEN, μειωμένη ογκοκατασταλτική δράση, ενώ σε ορισμένες περιοχές του όγκου απουσιάζει παντελώς η έκφρασή του (95,107).

Η σωματική μετάλλαξη του *PTEN* και η απώλεια έκφρασής του έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του PI3K/AKT μονοπατιού με συνέπεια τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αποφυγή της απόπτωσης,

ενισχύοντας έτσι την καρκινογένεση. Φαίνεται ότι η απώλεια της λειτουργίας του PTEN είναι μεταγενέστερο γεγονός που συμβάλλει στην ανάπτυξη του όγκου παρά στην έναρξή του (89), ενώ σχετίζεται με αδιαφοροποίητο ιστολογικά νεόπλασμα, υψηλού βαθμού κακοήθειας (high grade) (108). Επιπλέον η μετάλλαξη του PTEN συνδέεται με την μετάσταση και ανδρογονοαντοχή του προστατικού καρκίνου, καθώς έχει παρατηρηθεί απώλεια του PTEN και της θέσης 10q περισσότερο σε μεταστατικούς παρά σε εντοπισμένους όγκους (72, 89,108).

SPOP

Το γονίδιο *SPOP* (*Speckle-type POZ*) κωδικοποιεί το στοιχείο υποστρώματος της Cullin 3-based E3-ubiquitin λιγάσης. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου SPOP έχουν παρατηρηθεί πολύ συχνά στον καρκίνο του προστάτη και αφορούν συνηθέστερα στην δομή του ενεργού κέντρου της πρωτεΐνης SPOP, εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης SPOP με το ειδικό υπόστρωμα με τελικό αποτέλεσμα την απενεργοποίηση του γονιδίου(109). Αξίζει να σημειωθεί ότι μεταλλάξεις SPOP συμβαίνουν σε όγκους οι οποίοι δεν φέρουν αναδιατάξεις του *ERG*.

CDKN1B

Ο αναστολέας της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης 1B (CDKN1B) είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο που κωδικοποιεί τον p27, έναν αναστολέα της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης 4 (CDK4). Ο p27 αναστέλλει τον κυτταρικό κύκλο στην φάση G1. Μαζί με το PTEN ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ το μονοπάτι PI3K/AKT μειώνει την δράση του p27. Αναστολή του PI3K/AKT από το PTEN , ενισχύει την δράση του p27, σταματώντας τον κυτταρικό κύκλο και μειώνοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Επομένως απώλεια του PTEN συνδέεται με απώλεια της δράσης του p27 (110). Μελέτες έχουν δείξει ότι σωματική μετάλλαξη με απώλεια της θέσης 12p12-13, προκαλεί απώλεια έκφρασης του αναστολέα CDKN1B και συσχέτισή του με προχωρημένου σταδίου και περισσότερο με μεταστατικό καρκίνο προστάτη και πτωχή πρόγνωση (89,110).

Ογκοκατασταλτικά γονίδια

Όπως ισχύει γενικά για διάφορους καρκίνους, έτσι και για τον καρκίνο προστάτη, η εμφάνιση και ανάπτυξη του όγκου εξαρτάται μεταξύ άλλων και από μεταλλάξεις των λεγόμενων ογκοκατασταλτικών γονιδίων.

Οι φυσιολογικές λειτουργίες των ογκοκατασταλτικών γονιδίων είναι η αναστολή της προόδου του κυτταρικού κύκλου, η ενεργοποίηση της απόπτωσης και η διατήρηση της σταθερότητας του γονιδιώματος μέσω μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA. Μεταλλάξεις σε ογκοκατασταλτικά γονίδια οδηγούν στην άρση του περιοριστικού ρόλου της παραγόμενης πρωτεΐνης και κατά συνέπεια στην απώλεια ελέγχου της κυτταρικής αύξησης προάγοντας έτσι την ογκογένεση. Η απενεργοποίηση ή έλλειψη της λειτουργικότητας (loss of function) ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου απαιτεί συχνά την απενεργοποίηση και των δύο αλληλομόρφων του γονιδίου. Επιπλέον υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί που προκαλούν απώλεια της ετεροζυγωτίας (LOH, Loss Of Heterozygosity), η οποία προδιαθέτει σε ογκογένεση και παρατηρείται σε μεταλλαγμένα ογκοκατασταλτικά γονίδια (111). Υπάρχουν τόσο κληρονομικές γενετικές μεταλλάξεις, όσο και σωματικές μεταλλάξεις των ογκοκατασταλτικών γονιδίων που συμβαίνουν κατά την διάρκεια ανάπτυξης του όγκου. Η αδρανοποίηση ή απώλεια ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου μπορεί να οφείλεται σε απώλεια τμήματος του χρωμοσώματος όπου μεταξύ άλλων βρίσκεται το γονίδιο, απώλεια του συγκεκριμένου γονιδίου, απώλεια έκφρασής του λόγω υπερμεθυλίωσης ή άλλης σημειακής μετάλλαξης (64).

Τα γονίδια PTEN, GSTP1, CDKN1B, και NKX3.1 αδρανοποιούνται από σωματικές μεταλλάξεις ενισχύοντας έτσι την ανάπτυξη και εξέλιξη της ογκογένεσης (64,66,72).

Retinoblastoma (Rb)

Το γονίδιο *Retinoblastoma (Rb)* αποτελεί ένα σημαντικό ογκοκατασταλτικό γονίδιο, το οποίο σε πολλά είδη καρκίνου φαίνεται να είναι είτε μεταλλαγμένο είτε να λείπει εντελώς. Ο ρόλος του σχετίζεται με την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου κατά την G0/G1 φάση και η δράση του εξαρτάται από το επίπεδο

φωσφορυλίωσής του. Μετάλλαξη του γονιδίου *Rb* επιτρέπει την ανεξέλεγκτη πρόοδο του κυτταρικού κύκλου (112).

Υπάρχουν μέχρι σήμερα αντικρουόμενα δεδομένα εάν η απώλεια του Rb/p16 μονοπατιού συμβαίνει σε αρχικό ή μεταγενέστερο στάδιο (72,112).

TET2

Οι ερευνητές Nickerson και συνεργάτες παρουσίασαν ότι η 10-11 μετατόπιση 2 (ten–eleven translocation 2 , TET2) έχει ογκοκατασταλτική δράση στον προστατικό καρκίνο και επηρεάζεται από ποικίλους μηχανισμούς όπως απλούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (113) και μειωμένη έκφραση mRNA στον όγκο (114).

MXI-1

Το γονίδιο *MXI-1* είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο της οικογένειας helix-loop-helix Leuzipper και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη MAX interacting protein, (MXI-1), η οποία δρα ως μεταγραφικός παράγοντας καταστέλλοντας την έκφραση του c-MYC (115). Έλλειψη της περιοχής 10q οδηγεί σε απώλεια της πρωτεΐνης MXI-1 με αποτέλεσμα την επαγωγή της ανάπτυξης και εξέλιξης του όγκου (116).

p53 - φύλακας του γονιδιώματος

Το γονίδιο p53 είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο το οποίο έχει χαρακτηριστεί ως «φύλακας του γονιδιώματος» και λειτουργεί ως ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου, εμποδίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό όταν υπάρχει βλάβη του DNA. Μεταλλάξεις του γονιδίου p53 έχουν συσχετιστεί με προχωρημένου σταδίου καρκίνο, μετάσταση και ανδρογono-αντοχή, καθώς στην πλειονότητα των μεταστατικών καρκίνων έχει παρατηρηθεί έλλειψη του p53 (117).

TGF-β1

Ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β1 (TGF-β1) φυσιολογικά λειτουργεί καταστέλλοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγοντας την απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων του προστάτη. Τα προστατικά κύτταρα ωστόσο δεν εκφράζουν υποδοχείς TGFβ1, γεγονός που συνοδεύεται από υπερέκφραση του παράγοντα TGFβ1 (118,119), απώλεια της ογκοκατασταλτικής δράσης του

TGFβ1, με αποτέλεσμα την εμφάνιση προχωρημένου σταδίου καρκίνου με υψηλό μεταστατικό δυναμικό (118,119).

KLF6

Ο παράγοντας Kruppel-like 6 (*KLF6*) είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας με ογκοκατασταλτική δράση, ο οποίος αδρανοποιείται στον προστατικό καρκίνο (120).

ATBF1* και *EPHB2

Άλλα γονίδια που εμφανίζουν ογκοκατασταλτική δράση και παρουσιάζουν μετάλλαξη σχετική με τον καρκίνο προστάτη είναι τα *ATBF1* και *EPHB2* (64).

Μικροδορυφορικό DNA

Οι έρευνες σχετικές με την ανάλυση του ανθρώπινου γονιδιώματος έχουν δείξει, ότι οι αλληλουχίες οι οποίες κωδικοποιούν πρωτεΐνες, ειδικότερα κωδικοποιητικά εξωνίων, αποτελούν λιγότερο από το 1,5% του ανθρώπινου γονιδιώματος (121). Επίσης, περίπου το 26% του ανθρωπίνου γονιδιώματος είναι εσώνια (122). Εκτός από γονίδια (εξώνια και εσώνια) και γνωστές ρυθμιστικές αλληλουχίες (8–20%), το ανθρώπινο γονιδίωμα περιέχει περιοχές που δεν κωδικοποιούν DNA. Αυτό το μη κωδικοποιητικό DNA (ncDNA) περιέχει αλληλουχίες που δεν βρίσκονται σε εξώνια κωδικοποιητικών πρωτεϊνών και αποτελεί το 98% του ανθρωπίνου γονιδιώματος. Οι αλληλουχίες του μη κωδικοποιητικού DNA συνδυάζονται με μόρια μη κωδικοποιητικού RNA, ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA, μακριές διάσπαρτες αλληλουχίες (LINEs), κοντά διάσπαρτα πυρηνικά στοιχεία (SINEs), εσώνια, και αλληλουχίες για τις οποίες μέχρι τώρα δεν έχει καθοριστεί καμία λειτουργία (121). Η εξερεύνηση των λειτουργιών και της εξελικτικής προέλευσης του μη κωδικοποιητικού DNA βρίσκεται στο κέντρο του σύγχρονου ερευνητικού ενδιαφέροντος ανάλυσης του γονιδιώματος, το οποίο περιλαμβάνει το έργο ENCODE (Εγκυκλοπαίδεια των στοιχείων του DNA, Encyclopedia of DNA Elements) (123,124).

Το 50% του γονιδιώματος περιλαμβάνει τις λεγόμενες «επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες» (126), ενώ το 8% περίπου του γονιδιώματος περιλαμβάνει τις

λεγόμενες «διαδοχικές αλληλουχίες επανάληψης», διαδοχικές σε σειρά συστοιχίες DNA χαμηλής πολυπλοκότητας που έχουν πολλαπλά γειτονικά αντίγραφα (π.χ. "CAGCAGCAG...") (127). Αυτές οι διαδοχικές αλληλουχίες είναι πολύ μεταβλητές και μπορεί να έχουν διαφορετικό κάθε φορά μήκος, από δύο έως δεκάδες νουκλεοτίδια (128).

Οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες με λιγότερα από δέκα νουκλεοτίδια ονομάζονται «μικροδορυφορικές αλληλουχίες», από τις οποίες οι επαναλήψεις τρινουκλεοτιδίων είναι ιδιαίτερης σπουδαιότητας, καθώς μερικές φορές συμβαίνουν στις κωδικοποιητικές περιοχές των γονιδίων για πρωτεΐνες και μπορεί να οδηγήσουν σε γενετικές διαταραχές. Οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες μήκους 10–60 νουκλεοτιδίων ονομάζονται μικροδορυφόροι (minisatellites). Οι μικροδορυφόροι του DNA είναι μοναδικοί για κάθε άτομο και ταυτόσημοι σε κύτταρα από διαφορετικούς ιστούς του ίδιου ατόμου (129-131). Οι μικροδορυφόροι είναι διάσπαρτοι σε όλο το γονιδίωμα και συνήθως εντοπίζονται εκτός, αλλά και μερικές φορές εντός, των κωδικοποιητικών αλληλουχιών. Διπλασιάζονται πιστά στα υγιή κύτταρα διασφαλίζοντας ότι οι κωδικοποιητικές αλληλουχίες παραμένουν εντός του κατάλληλου πλαισίου ανάγνωσης (129-131). Προσθήκη ή απαλοίφι ενός ή περισσότερων μονάδων επανάληψης (βάσεων) μπορούν να προκαλέσουν μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου στα παρακείμενα γονίδια.

Το μικροδορυφορικό DNA έχει χρησιμεύσει ως άριστος πολυμορφικός δείκτης στην χαρτογράφηση του γονιδιώματος πολλών οργανισμών, μεταξύ αυτών και του ανθρώπου (129-131). Με τη χρήση διαφόρων μικροδορυφορικών τύπων, μπορεί να παραχθεί ένα μοναδικό γονοτυπικό πρότυπο για κάθε άτομο, επιτρέποντας την ατομική ταυτοποίηση.

Μικροδορυφορική Αστάθεια (MSI)

Οι μικροδορυφορικές περιοχές σε ένα συγκεκριμένο άτομο είναι φυσιολογικά σταθερές. Ωστόσο στην περίπτωση εμφάνισης ορισμένων καρκίνων ενδέχεται να παρατηρηθεί μεταβολή του αριθμού των νουκλεοτιδικών επαναλήψεων στο DNA του καρκινικού ιστού σε σύγκριση με το αντίστοιχο φυσιολογικό DNA,

φαινόμενο που χαρακτηρίζεται ως μικροδορυφορική αστάθεια (MSI, Microsatellite Instability) (132-134).

Η ανεύρεση αστάθειας του Μικροδορυφορικού DNA (MSI) σε δείγματα ιστών αποτελεί αξιόπιστο μέσο για τη μελέτη των σωματικών μεταλλάξεων. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση κατάλληλων μικροδορυφορικών δεικτών που στοχεύουν συγκεκριμένους χρωμοσωμικούς τόπους κοντά ή μέσα σε γονίδια που είναι γνωστό ή πιθανόν εμπλέκονται στην παθογένεια διαφόρων νοσημάτων (132-134).

Mismatch Repair Genes – Γονίδια επιδιόρθωσης λαθών DNA

Οι σωματικές μεταλλάξεις μπορεί να προκαλούνται από ποικίλους εξωτερικούς, περιβαλλοντικούς, καρκινογόνους παράγοντες ή μπορεί να συμβούν εάν γίνει ένα λάθος κατά τη διάρκεια του διπλασιασμού ή στα αντίγραφα του DNA κατά την κυτταρική διαίρεση. Επιθετικές μορφές καρκίνου προστάτη και μεταστατικός προστατικός καρκίνος παρουσιάζουν συχνά πολυμορφικές μεταλλάξεις της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας, αστάθεια μικροδορυφορικού DNA, ως αποτέλεσμα της διαταραχής ή ανεπάρκειας του μηχανισμού επιδιόρθωσης λαθών του DNA. (64, 135,136). Το σύστημα επιδιόρθωσης των λαθών του DNA (MMR Machinery), είναι κρίσιμο για τη διατήρηση της σταθερότητας των μικροδορυφόρων. Είναι σχεδιασμένο να διορθώνει αναντιστοιχίες κατά τη διάρκεια της αντιγραφής του DNA μέσω συνδυασμένης δράσης καλά διατηρημένων πρωτεϊνών (135-138).

Τα γονίδια ***MLH1***, ***PMS1***, ***PMS2***, ***MSH2***, ***MSH3***, και ***MSH6*** έχουν ειδικότερα συσχετισθεί με την ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου προστάτη (64,139). Μεταλλάξεις με συνοδό απώλεια έκφρασης των παραπάνω γονιδίων συνοδεύονται από ανεπάρκεια του μηχανισμού επιδιόρθωσης λαθών DNA (Mismatch Repair Machinery) στα κύτταρα του προστατικού επιθηλίου (64,140). Μεταξύ αυτών τα δύο γονίδια MSH2 και MSH6 έχουν κερδίσει το ενδιαφέρον μελετών, καθώς αυτά τα γονίδια τείνουν να εμφανίζουν διμερισμό βάσεων δημιουργώντας σύμπλοκο.

Οι ερευνητές Prichard και συνεργάτες (141) παρατήρησαν ότι μετάλλαξη του γονιδιακού συμπλόκου MSH2-MSH6 οδηγεί σε αδρανοποίηση των

συγκεκριμένων γονιδίων και σχετίζεται με μεταστατικό προστατικό καρκίνο (141).

Επιπλέον έρευνες με σειρές CWR22-ανδρογονοεξαρτώμενων προστατικών καρκινικών κυττάρων έδειξαν ομοζυγωτική απαλοιφή των γονιδίων MSH2 και MSH6, φανερώνοντας ενδεχομένως μια συσχέτιση μεταξύ της σηματοδότησης του υποδοχέα ανδρογόνων (AR) με το μονοπάτι επιδιόρθωσης λαθών DNA στην δημιουργία του προστατικού καρκίνου. Ο ακριβής ρόλος του συμπλέγματος γονιδίων MSH2-MSH6 στον καρκίνο προστάτη δεν έχει ακόμη πλήρως διευκρινιστεί. Ωστόσο πρόσφατες έρευνες (142) δείχνουν ότι μετάλλαξη του συμπλόκου MSH2-MSH6 με απώλεια της λειτουργίας του, μέσω αντίδρασης με την DNA πολυμεράση-α, δρα ανασταλτικά με προς τα κάτω ρύθμιση του μηχανισμού επιδιόρθωσης DNA (MMR processes) (141,142).

Ογκογονίδια

Τα ογκογονίδια είναι ακριβώς τα ίδια με φυσιολογικά γονίδια του κυττάρου, τα οποία ονομάζονται πρωτο-ογκογονίδια ή κυτταρικά ογκογονίδια. Τα πρωτο-ογκογονίδια δρουν επιταχύνοντας την κυτταρική ανάπτυξη κατά τη G1 φάση του κυτταρικού κύκλου, επάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η δράση των ογκογονιδίων διαφέρει εκείνης των πρωτο-ογκογονιδίων, δεδομένου ότι τα ογκογονίδια μετά την ενεργοποίησή τους με ποικίλους τρόπους έχουν την ικανότητα να μεταμορφώνουν κύτταρα σε καρκινικά, ενώ τα πρωτο-ογκογονίδια δεν έχουν τέτοια δράση. Οι σημειακές μεταλλάξεις, μετατοπίσεις, μεταλλάξεις παρεμβολής και γονιδιακή επέκταση είναι οι τρόποι που μέχρι τώρα ενοχοποιούνται για την μετατροπή των πρωτοογκογονιδίων σε ογκογονίδια (υπερενεργές μορφές), ενισχύοντας την ενεργότητά τους (gain of function) (35, 64)

c-MYC

Το γονίδιο *c-MYC* βρίσκεται στην χρωμοσωμική θέση 8q24 και κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα, ο οποίος ρυθμίζει πολλά γονίδια στόχους που εμπλέκονται σε πολλαπλές διεργασίες. Συγκεκριμένα το γονίδιο *c-MYC* με την πρωτεΐνη *c-MYC* που εκφράζει ρυθμίζει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου,

προάγοντας την κυτταρική ανάπτυξη και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (145), ρυθμίζει ένα δίκτυο miRNAs (146,147) διεγείρει την γλυκόλυση, διεγείρει την διαδικασία της μιτοχονδριακής βιογένεσης, αναστέλλει τη διαφοροποίηση και προάγει τον πολλαπλασιασμό των βλαστικών κυττάρων. Θεωρείται ότι τα επίπεδα έκφρασης του *c-myc* ελέγχουν την λεπτή ισορροπία μεταξύ της αυτοανανέωσης και της διαφοροποίησης των βλαστοκυττάρων. Επιπλέον κρίσιμη λειτουργία του *c-MYC* είναι η επαγωγή της απόπτωσης (148). Η πρωτεΐνη MYC επάγει την μεταγραφή προαποπτωτικών γονιδίων, όπως το *bax*, ικανών να προκαλέσουν διαπερατότητα στην μεμβράνη των μιτοχονδρίων, απελευθέρωση του κυτοχρώματος c στο κυτταρόπλασμα και να ενεργοποιήσουν την διαδικασία της απόπτωσης. Μελέτες έχουν δείξει ότι η γονιδιακή ενίσχυση του *c-MYC* σχετίζεται με υψηλής κακοήθειας καρκίνο, δημιουργία μεταστάσεων καθώς και εμφάνιση ανδρογono-αντοχής στον καρκίνο του προστάτη (145-149).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους αυξάνεται η έκφραση του *c-MYC* στον καρκίνο προστάτη δεν έχουν ακόμη πλήρως διευκρινιστεί. Οι μηχανισμοί που έχουν προταθεί όπως η ενίσχυση και η αναδιαμόρφωση του γονιδίου και η απενεργοποίηση του γονιδίου *APC* και *FOXP3*, δεν εξηγεί πλήρως σε μοριακό επίπεδο την υπερέκφραση του *c-MYC* στον καρκίνο προστάτη (150).

MAP kinase phosphatase-1 (MKP-1)

Η φωσφατάση MKP-1 έχει αντι-αποπτωτική δράση, προστατεύοντας από τον κυτταρικό θάνατο αναστέλλοντας το MKP-1 μονοπάτι. Η υπερέκφραση της MKP-1 οδηγεί σε ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό (151).

BCL-2

Το γονίδιο *BCL-2* (B cell-leukemia/lymphoma-2) κωδικοποιεί μια προ-αποπτωτική πρωτεΐνη. Η υπερέκφραση του *BCL-2* συνδέεται με αντίσταση στην απόπτωση και προχωρημένο καρκίνο προστάτη (66, 152)

Τελομεράσες

Οι τελομεράσες είναι ένζυμα που έχουν την λειτουργία να προστατεύουν το μήκος των τελομερών συμπληρώνοντας το μήκος αυτών. Έχει παρατηρηθεί υπερέκφραση της τελομεράσης στην πλειονότητα των προστατικών κυττάρων

και μάλιστα υψηλότερη έκφραση εμφανίζεται σε υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνο προστάτη (66).

RAS

Το γονίδιο *RAS* κωδικοποιεί τα ένζυμα RasGTPases. Ενίσχυση του γονιδίου *RAS* σχετίζεται με διάφορους τύπους κακοήθειας και ιδιαίτερα με αυτήν του προστάτη. Μελέτες έχουν δείξει αδρανοποίηση του γονιδίου RASSF1A σε καρκίνο προστάτη πιθανώς μέσω μηχανισμού υπερμεθυλίωσης του υποκινητή (153)

Το γονίδιο *DAB2IP* κωδικοποιεί έναν ρυθμιστή για την προς τα κάτω ρύθμιση/αναστολή του RAS μονοπατιού.

Πολυμορφισμός του *DAB2IP* σχετίζεται με υψηλής κακοήθειας καρκίνο προστάτη σε μελέτες GWAS (154).

HER2

Το γονίδιο *HER2* κωδικοποιεί την πρωτεΐνη c-erbB-2, έναν υποδοχέα τυροσινικής κινάσης της οικογένειας EGFR. Υπερέκφραση του *HER2* έχει παρατηρηθεί σε πολλούς καρκίνους, ενώ γονιδιακή ενίσχυση του *HER2* έχει συσχετισθεί με καρκίνο προστάτη, κυρίως ευνοηχοάντοχο και μεταστατικό προστατικό καρκίνο (155).

FASN

Το γονίδιο *FASN* κωδικοποιεί ένα ένζυμο κλειδί στην σύνθεση των λιπαρών οξέων. Πολλά είδη καρκίνων σχετίζονται με αυξημένη σύνθεση μακράς αλύσου λιπαρών οξέων.

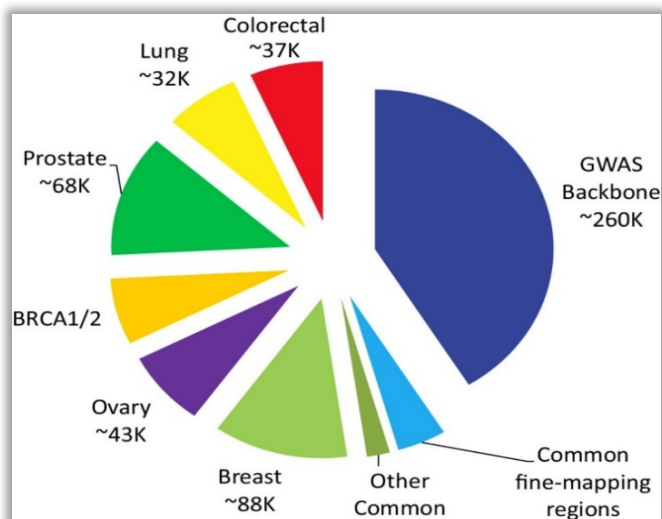
Η υπερέκφραση του γονιδίου *FASN* με ενίσχυση του ενζύμου που κωδικοποιεί, ευνοεί τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, αποτρέπει τα κύτταρα από την απόπτωση και έχει παρατηρηθεί στους περισσότερους τύπους καρκίνου προστάτη (64, 156).

Πολυμορφισμός

Γενετικός πολυμορφισμός αναφέρεται στην παρουσία πολλαπλών αλληλομόρφων μιάς γενετικής περιοχής. Κάθε γενετική περιοχή για την οποία υπάρχουν πολλαπλά αλληλόμορφα σε σταθερές συχνότητες μέσα στον πληθυσμό είναι πολυμορφική. Συνήθως ένα αλληλόμορφο θεωρείται πολυμορφικό αν απαντάται στον πληθυσμό σε συχνότητα $>1\%$.

Μονονουκλεοτιδικός ή απλός πολυμορφισμός (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) χαρακτηρίζεται όταν τα αλληλόμορφα διαφέρουν μόνο σε ένα νουκλεοτίδιο. Κάθε άνθρωπος χαρακτηρίζεται από ένα μοναδικό πρότυπο SNP. Τα SNPs μπορεί να βρίσκονται είτε σε κωδικοποιούσες είτε σε μη κωδικοποιούσες περιοχές του γονιδιώματος (157).

Σύγχρονες έρευνες μελέτης του ολικού γονιδιώματος, οι λεγόμενες GWAS (Genome Wide Association Studies), χρησιμοποιώντας υψηλού ρυθμού ανάλυση δεδομένων με την μορφή μικροσυστοιχιών (microarrays) επιτρέπουν τον ταυτόχρονο υπολογισμό και την σύγκριση μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών, μεταγραφικής δραστηριότητας ή γονιδιακής έκφρασης σε ιστούς στόχους (157) Εικόνα 8

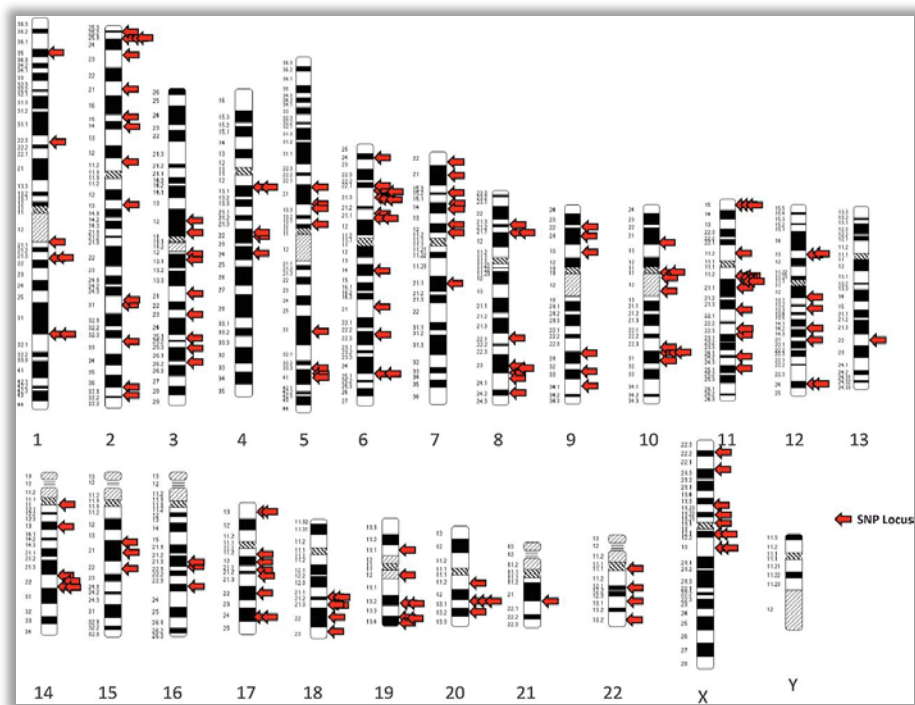


Εικόνα 8: Ποσοστιαία κατανομή των πολυμορφισμών SNPs αναλόγως με τον τύπο κακοήθειας με την οποία έχουν συσχετισθεί, μέσω του Onco Array Bead Chip. (157)

Μια σημαντική γονιδιακή περιοχή που φέρει πολυμορφισμούς που σχετίζονται με την εμφάνιση καρκίνου προστάτη είναι η περιοχή 8q24 (157-162).

Στην περιοχή 8q24 πρώτοι οι ερευνητές Amundadottir (158) και Freedman (159) εντόπισαν πολυμορφισμούς που συσχετίστηκαν με αυξημένο κίνδυνο

εμφάνισης καρκίνου προστάτη. Ακολούθησαν περισσότερες έρευνες που παρουσίασαν σχέση μεταξύ πολυμορφισμών της περιοχής 8q24 και οικογενούς καρκίνου (160), καρκίνου σε ασθενείς αфро-αμερικανικής φυλής και καρκίνου σε ασθενείς καυκάσιας ή ασιατικής καταγωγής με προστατικό καρκίνο (161). Σήμερα έρευνες GWAS αναφέρουν περισσότερους από 50 SNPs που σχετίζονται με τον προστατικό καρκίνο (157-162) Εικόνα 9.



Εικόνα 9: Κατανομή γονιδιακών περιοχών που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη με βάση τις μελέτες GWAS (κάθε βέλος αντιπροσωπεύει και έναν μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό-SNP). (157)

Αν και ο κίνδυνος από κάθε έναν μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό ξεχωριστά είναι σχετικά χαμηλός, φαίνεται ωστόσο ότι η παρουσία περισσότερων πολυμορφισμών λειτουργεί συνδυαστικά και σωρευτικά, με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά ο βαθμός συσχέτισης και επομένως ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου προστάτη καθώς αυξάνεται και ο αριθμός των πολυμορφισμών (163) Η έρευνα των Zheng και συνεργατών (163) μελετώντας τον ανδρικό πληθυσμό της Σουηδίας, ανέδειξε τρεις χρωμοσωμικές περιοχές, στις οποίες βρέθηκαν πέντε SNPs που είχαν σημαντική συσχέτιση με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη. Τρεις SNP πολυμορφισμοί βρίσκονταν στην περιοχή 8q24, ένας στην περιοχή 17q12 και ένας στην περιοχή 17q24 (163).

Όπως αναφέρεται στην μελέτη της Amundadottir (158) στην περιοχή 1 της θέσης 8q24 βρίσκεται μεταξύ άλλων ο μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός rs1447295 καθώς και ο μικροδορυφόρος DG8S737. Συγκεκριμένο αλληλόμορφο του τελευταίου συσχετίζεται με υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνο προστάτη. Ο μικροδορυφόρος DG8S737 είναι δινουκλεοτιδικός αδενίνης-κυτοσίνης (AC) με 13 αλληλόμορφα στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν στην μελέτη. Το αλληλόμορφο με τις 22 επαναλήψεις παρατηρήθηκε ότι σχετίζεται με καρκίνο προστάτη στον ισλανδικό, σκανδιναβικό και αμερικανικό πληθυσμό. Το κοντινότερο γονίδιο είναι το *c-Myc* το οποίο βρίσκεται 200kb τελομερικά του μικροδορυφόρου (164)

Μεταλλάξεις στον μεταστατικό καρκίνο

KAI-1/CD82

Το γονίδιο *KAI-1/CD82* κωδικοποιεί μια γλυκοπρωτεΐνη στην μεμβράνη και σε πολλές μελέτες έχει παρατηρηθεί επανειλημμένα η μείωση έκφρασής του στον μεταστατικό καρκίνο προστάτη (165).

CDH-1

Το γονίδιο *CDH-1* βρίσκεται στην γονιδιακή περιοχή 16q και κωδικοποιεί την διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη καντχερίνη (E-cadherin), η οποία λειτουργεί ως παράγοντας πρόσφυσης, για την διακυτταρική σύνδεση. Απώλεια έκφρασης ή μετάλλαξη της E-cadherin έχει παρατηρηθεί σε προχωρημένους καρκίνους (66).

Επίσης σε ασθενείς με προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο παρατηρείται συχνά έλλειψη της χρωμοσωμικής περιοχής 16q, στην οποία βρίσκεται το γονίδιο CDH-1. Η χρωμοσωμική περιοχή 16q θεωρείται ότι σχετίζεται με καταστολή της μετάστασης (165).

Γονίδια επιδιόρθωσης DNA (DNA Repair Genes)

Στην πολυκεντρική μελέτη των Pritchard και συνεργατών (166), σε 692 ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο προστάτη παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς αυτοί

είχαν υψηλότερο ποσοστό εμφάνισης γαμετικής γενετικής μετάλλαξης (germline mutation) σε γονίδιο επιδιόρθωσης του DNA σε σύγκριση με ασθενείς που είχαν μόνο εντοπισμένο καρκίνο προστάτη (166). Συγκεκριμένα το συνολικό ποσοστό εμφάνισης γαμετικής μετάλλαξης σε γονίδια επιδιόρθωσης DNA στους ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο προστάτη ήταν 11.8%, το οποίο είναι αρκετά υψηλότερο από το 1.2 - 1.8% ποσοστό εμφάνισης μετάλλαξης μόνο του *BRCA2* σε εντοπισμένο καρκίνο προστάτη ή από το 7.3% που ήταν η συχνότητα μεταλλάξεων σε 22 ογκοκατασταλτικά γονίδια σε οικογενή καρκίνο προστάτη (166).

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 6 από την παραπάνω μελέτη, στους 692 ασθενείς με μεταστατικό προστατικό καρκίνο ελέγχθηκαν 20 γονίδια επιδιόρθωσης DNA, εκ των οποίων τα 16 εμφάνιζαν γαμετική γενετική μετάλλαξη (germline mutation) (166).

Μεταξύ των συγκεκριμένων γονιδίων, τα γονίδια *BRCA2*, *ATM*, *CHEK2*, και *BRCA1* παρουσίασαν υψηλότερη συχνότητα μετάλλαξης (166).

Τα παραπάνω ευρήματα πιθανώς αναδεικνύουν μια ενδεχόμενη συσχέτιση μεταξύ της γαμετικής γενετικής μετάλλαξης (germline mutation) στα γονίδια επιδιόρθωσης DNA και της πιθανότητας δημιουργίας μετάστασης στον καρκίνο προστάτη (166).

Πίνακας 6. Γαμετικές Μεταλλάξεις (Germline Mutation) σε μεταστατικό καρκίνο προστάτη (N=692)		
Γονίδιο	N ασθενών με γαμετική μετάλλαξη	Ποσοστό ασθενών
<i>ATM</i>	11	1.59
<i>ATR</i>	2	0.29
<i>BAP1</i>	0	0
<i>BARD1</i>	0	0
<i>BRCA1</i>	6	0.87
<i>BRCA2</i>	37	5.35
<i>BRIP1</i>	1	0.18
<i>CHEK2</i>	10	1.17

<i>FAM175A</i>	1	0.18
<i>GEN1</i>	2	0.46
<i>MLH1</i>	0	0
<i>MRE11A</i>	1	0.14
<i>MSH2</i>	1	0.14
<i>MSH6</i>	1	0.14
<i>NBN</i>	2	0.29
<i>PALB2</i>	3	0.43
<i>PMS2</i>	2	0.29
<i>RAD51C</i>	1	0.14
<i>RAD51D</i>	3	0.43
<i>XRCC2</i>	0	0

Πίνακας 6: Γαμετικές Μεταλλάξεις (*Germline Mutation*) σε μεταστατικό καρκίνο προστάτη (N=692). (166)

Ιστολογική Ταξινόμηση

Τα καρκινώματα του προστάτη διακρίνονται σε επιθηλιακής προέλευσης, στρωματικής προέλευσης, νευροενδοκρινή καρκινώματα, λεμφώματα, καθώς και στα μεταστατικά (δευτεροπαθή) νεοπλάσματα. Η συντριπτική πλειοψηφία (~95%) των καρκινωμάτων προστάτη είναι αδενοκαρκινώματα, ενώ μόνο 1-4% είναι καρκινώματα από μεταβατικό επιθήλιο και μπορεί να προέρχεται από την προστατική ουρήθρα ή τους πόρους του προστάτη. Ακόμα πιο σπάνιο είναι το νευροενδοκρινικό καρκίνωμα προστάτη, το οποίο αποτελεί το 0,5% περίπου όλων των προστατικών καρκίνων. Από το στρώμα προέρχονται τα σαρκώματα προστάτη που είναι εξαιρετικά σπάνια (0,1-0,2%). Δευτεροπαθή νεοπλάσματα στον προστάτη προέρχονται είτε από διήθηση γειτονικών οργάνων είτε από μετάσταση από πρωτοπαθή καρκίνο πνεύμονα, δέρμα, λεμφώματα. Το πρωτοπαθές προστατικό λέμφωμα χωρίς συμμετοχή των λεμφαδένων φαίνεται να είναι πολύ πιο συχνό σε σχέση με την δευτεροπαθή διήθηση του προστάτη (167).

Στο προστατικό επιθήλιο υπάρχουν επίσης πολλαπλές μονάδες βλαστικών κυττάρων, οι οποίες έχουν ικανότητα ανανέωσης, σπάνια όμως πολλαπλασιάζονται για να δημιουργήσουν νέα κύτταρα, τα οποία είτε θα πολλαπλασιαστούν παροδικά είτε θα διαφοροποιηθούν σε νευροενδοκρινικά. Τα βλαστοκύτταρα υπάρχουν στο προστατικό καρκίνωμα σαν ένας μικρός ευδιάκριτος πληθυσμός κυττάρων, ο οποίος σύμφωνα με νεότερες μελέτες φαίνεται να έχει πιθανό ρόλο στην έναρξη της καρκινογένεσης, στην αναπαραγωγή και εξέλιξη καρκινικών κυττάρων, καθώς και στην αντίσταση του καρκίνου στην χημειοθεραπεία (168,169).

Σε επόμενο κεφάλαιο θα γίνει αναφορά στον ρόλο των προστατικών βλαστικών κυττάρων στον προστατικό καρκίνο.

Στον Πίνακα 7 παρουσιάζεται η ιστολογική ταξινόμηση του καρκίνου προστάτη κατά τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ, WHO).

Ιστολογική Ταξινόμηση (WHO 2016)
Αδενικά Νεοπλάσματα
• Αδενοκαρκίνωμα (κλασικό)
• Ενδοπορογενές καρκίνωμα
• Πορογενές καρκίνωμα
Ουροθηλιακό καρκίνωμα
Νεοπλάσματα πλακώδους επιθηλίου
• Αδενοπλακώδες καρκίνωμα
• Πλακώδες καρκίνωμα
Βασικοκυτταρικό καρκίνωμα
Νευροενδοκρινή Νεοπλάσματα
• Αδενοκαρκίνωμα με νευροενδοκρινική διαφοροποίηση
• Μικροκυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα
• Μεγακυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα

Πίνακας 7: Ιστολογική ταξινόμηση καρκίνου προστάτη, σύμφωνα με τον ΠΟΥ (WHO) 2016.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) το 2016 αναπροσάρμοσε την ιστολογική ταξινόμηση του καρκίνου προστάτη. Στον Πίνακα 8 φαίνονται συνοπτικά οι αλλαγές του 2016 στην ιστολογική ταξινόμηση του προστατικού καρκίνου, σε σύγκριση με την αντίστοιχη προηγούμενη από το 2004.

The 2016 and 2004 WHO classifications of prostatic carcinoma	
2016 WHO classification	2004 WHO classification
Glandular neoplasms	Glandular neoplasms
• Acinar adenocarcinoma	• Acinar adenocarcinoma
• Intraductal carcinoma	• Ductal adenocarcinoma

•Ductal adenocarcinoma	
Urothelial carcinoma	Urothelial carcinoma
Squamous neoplasms	Squamous neoplasms
•Adenosquamous carcinoma	•Adenosquamous carcinoma
•Squamous cell carcinoma	•Squamous cell carcinoma
Basal cell carcinoma	Basal cell carcinoma
Neuroendocrine tumors	Neuroendocrine tumors
•Adenocarcinoma with neuroendocrine differentiation	•Endocrine differentiation within adenocarcinoma
•Small cell neuroendocrine carcinoma	•Small cell carcinoma
•Large cell neuroendocrine carcinoma	

Πίνακας 8: Ιστολογική ταξινόμηση Καρκίνου προστάτη, σύμφωνα με τον ΠΟΥ 2016, και οι αλλαγές από την προηγούμενη ταξινόμηση του 2004. (170)

Σύστημα Βαθμονόμησης κατά Gleason (Gleason pattern– Gleason score)

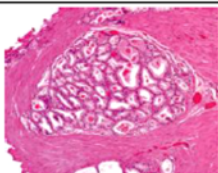
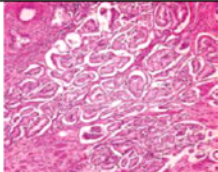
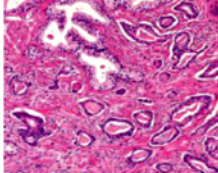
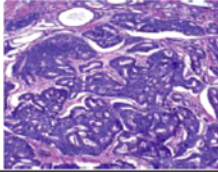
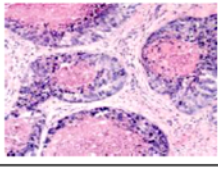
Η ανάπτυξη των προστατικών αδενοκαρκινωμάτων είναι συνήθως πολυεστιακή, εντοπίζεται κατά 75% περίπου κυρίως στην περιφερική ζώνη του προστάτη, ενώ το 15-20% εντοπίζεται στην κεντρική και το 10-15% στην μεταβατική ζώνη. Το αδενοκαρκίνωμα του προστάτη χαρακτηρίζεται από τη διάσπαση της βασικής μεμβράνης και αλλαγές της αρχιτεκτονικής των προστατικών λοβίων και πόρων. Με βάση αυτές τις αλλαγές διακρίνονται διαφορετικοί βαθμοί διαφοροποίησης (pattern) του καρκίνου προστάτη.

Το καλύτερο και πιο ευρέως σύστημα που χρησιμοποιείται είναι το σύστημα ταξινόμησης κατά Gleason, από το οποίο προκύπτει ο συνολικός βαθμός κακοήθειας του καρκίνου (Gleason score).

Σε ιστοτεμάχια βιοψίας προστάτη, το Gleason score υπολογίζεται αθροίζοντας τους βαθμούς διαφοροποίησης του κυρίαρχου-πρωτεύοντος προτύπου ανάπτυξης και αυτού με την χαμηλότερη διαφοροποίηση, δηλαδή το υψηλότερο Grade, ανεξαρτήτως της έκτασης που αυτό καταλαμβάνει.

Σε χειρουργικό παρασκεύασμα ριζικής προστατεκτομής το Gleason score υπολογίζεται από το άθροισμα των βαθμών διαφοροποίησης του κυρίαρχου-πρωτεύοντος και του δευτερεύοντος προτύπου ανάπτυξης, ενώ θα πρέπει να αναφέρεται και το τριτεύον πρότυπο ανάπτυξης όταν αυτό υπάρχει.

Το Gleason score μπορεί να πάρει τιμές από 2 έως 10, οπότε ο προστατικός καρκίνος ταξινομείται σε χαμηλού (2-5), μετρίου (6-7) και υψηλού βαθμού κακοήθειας (8-10). Το Gleason score έχει την υψηλότερη προγνωστική αξία για τον καρκίνο προστάτη και αν χρησιμοποιηθεί μαζί με το στάδιο της νόσου η προγνωστική του αξία αυξάνεται (171). Εικόνα 10.

Grade 1	Καλά περιγεγραμμένο οζίδιο από διακριτούς, ομοιόμορφους, στρογγυλούς και μεσαίου μεγέθους αδένες	
Grade 2	Σχετικά καλά περιγεγραμμένο οζίδιο με ελάχιστη διήθηση στο όριο του όγκου, με όχι τόσο ομοιόμορφους και πιο χαλαρά διατεταγμένους αδένες συγκριτικά με το προηγούμενο σχέδιο ανάπτυξης	
Grade 3	Διακριτοί αδένες, μικρότερου μεγέθους συγκριτικά με τα προηγούμενα 2 σχέδια ανάπτυξης και παρουσία διηθήσεων μεταξύ των μη νεοπλασματικών προστατικών αδενίων	
Grade 4	Μεγάλοι ανώμαλοι ηθμοειδείς αδένες, με κακά διαφοροποιημένο αυλό	
Grade 5	Απουσία αδενικής διαφοροποίησης, παρουσία καρκινώματος τύπου comedo με κεντρική νέκρωση περιβαλλόμενο από ηθμοειδείς, συμπαγείς ή θηλώδεις μάζες.	

Εικόνα 10: Βαθμοί διαφοροποίησης – κακοήθειας του προστατικού καρκίνου κατά Gleason.

Αναπροσαρμοσμένο σύστημα Gleason κατά ISUP 2014

Σε μια προσπάθεια βελτιστοποίησης του συστήματος ταξινόμησης του προστατικού καρκίνου κατά Gleason, η Διεθνής Κοινότητα Ουρολογικής Παθολογοανατομίας (International Society of Urological Pathology, ISUP) πρότεινε το 2014 την αναπροσαρμογή αυτού του συστήματος προς ένα νέο σύστημα βαθμονόμησης 5 σημείων με αντίστοιχη προγνωστική διαστρωμάτωση των ασθενών.

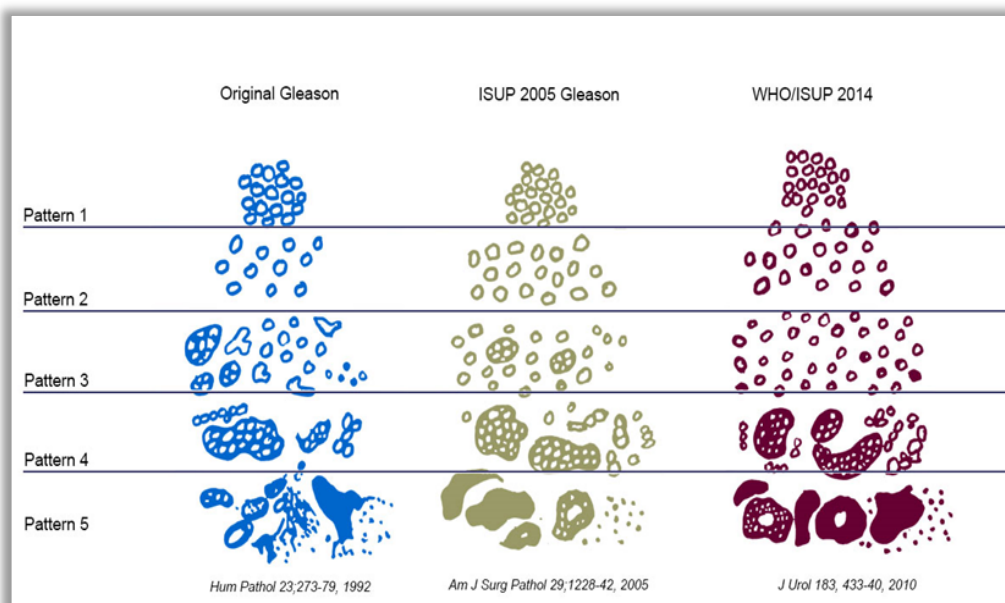
Έτσι σύμφωνα και με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας από το 2016, ασθενείς με καρκίνο προστάτη: Gleason score ≤ 6 (συμπεριλαμβάνοντας και $<5\%$ Gleason grade 4) αποτελούν την προγνωστική ομάδα βαθμού 1 (Gleason Group 1), με Gleason score $3+4=7$ αποτελούν την προγνωστική ομάδα βαθμού 2 (Gleason Group 2), αποτέλεσμα Gleason score $4+3=7$ την προγνωστική ομάδα βαθμού 3 (Gleason Group 3), με Gleason score 8 ($4+4$, $5+3$, $3+5$) την προγνωστική ομάδα βαθμού 4 (Gleason Group 4), και με Gleason score 9-10 την προγνωστική ομάδα βαθμού 5 (Gleason Group 5). Οι ασθενείς στην ομάδα Gleason Group 1 έχουν καλύτερη πρόγνωση από τους αντίστοιχους της ομάδας Gleason Group 5 (35,172) Πίνακας 9, Εικόνα 11.

Το αναπροσαρμοσμένο κατά ISUP 2014, σύστημα βαθμονόμησης κακοήθειας κατά Gleason είναι ο ισχυρότερος προγνωστικός παράγοντας για την κλινική συμπεριφορά του όγκου και της ανταπόκρισης στην θεραπεία (172), ενώ επίσης συμπεριλαμβάνεται σε νομογράμματα πρόβλεψης της ελεύθερης νόσου επιβίωσης (Disease-Specific Survival, DSS) μετά από ριζική προστατεκτομή (9). Το αναπροσαρμοσμένο κατά ISUP 2014 Gleason παραμένει το καλύτερο σύστημα διαβάθμισης των όγκων, διότι αποδέχεται την ετερογένεια, μορφολογική και γονιδιακή, μέσα στο ίδιο καρκίνωμα.

Πίνακας 9.

Gleason score	Gleason Group κατά ISUP 2014	5-ετής επιβίωση ελεύθερη βιοχημικής υποτροπής
3 + 3 = 6	1	97.5%
3 + 4 = 7	2	93.1%
4 + 3 = 7	3	78.3%
4 + 4 = 8 3 + 5 = 8 5 + 3 = 8	4	63.6%
4 + 5 = 9 5 + 4 = 9	5	48.9%
5 + 5 = 10		

Πίνακας 9: αναπροσαρμοσμένο κατά ISUP 2014 σύστημα Gleason και η 5ετής επιβίωση, ελεύθερη βιοχημικής υποτροπής. (35)



Εικόνα 11: Οι βαθμοί διαφοροποίησης του καρκίνου προστάτη κατά Gleason και οι αναπροσαρμογές τους. (172,173)

ΠΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΕΝΔΟΕΠΙΘΗΛΙΑΚΗ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑ (PIN)

Υψηλόβαθμη PIN (High Grade PIN, HGPIN)

Προστατική Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία (PIN) ορίζεται η νεοπλασματική μετατροπή του καλυπτικού επιθηλίου προστατικών πόρων και αδενίων, η οποία περιορίζεται εντός του επιθηλίου (ενδοεπιθηλιακή) και χαρακτηρίζεται από προστατικά λόβια ή πόρους με καλοήγη αρχιτεκτονική, αλλά με κυτταρολογική ατυπία, χωρίς όμως διάσπαση της βασικής μεμβράνης. Ανάλογα με την έκταση των κυτταρολογικών ανωμαλιών και τον βαθμό της αρχιτεκτονικής πολυπλοκότητας, διακρίνονται η χαμηλόβαθμη (low grade PIN, LGPIN) και υψηλόβαθμη (high grade PIN, HGPIN). Οι ιστολογικές διαφοροποιήσεις της υψηλόβαθμης PIN διακρίνονται σε τύπο σφραγιστήρων δακτυλίου (signet ring cell), βλεννώδη, μικροκυτταρικό νευροενδοκρινικό, αφρώδη, ανεστραμμένο και PIN με πλακώδη διαφοροποίηση. Η χαμηλόβαθμη LGPIN είναι άνευ κλινικής σημασίας και δεν θα πρέπει πλέον να αναγράφεται στην ιστολογική έκθεση της βιοψίας, καθώς δεν φαίνεται να εμφανίζει κακοήγη εξαλλαγή. Η επίπτωση της υψηλόβαθμης PIN σε βιοψίες προστάτη είναι περίπου 5-8% (174, 175), με τον κίνδυνο διάγνωσης καρκίνου του προστάτη σε επόμενη βιοψία να κυμαίνεται από 16% έως 44,6% (174). Σε υλικό διουρηθρικής εξαίρεσης προστάτη (TURP), η συχνότητα της HGPIN κυμαίνεται μεταξύ 2,3 - 2,8%, αντίθετα σε υλικό ριζικής προστατεκτομής ή κυστεοπροστατεκτομής συναντάται σε ποσοστό 85 – 100%. Όπως το αδενοκαρκίνωμα, έτσι και η HGPIN απαντάται κυρίως στην περιφερική ζώνη του προστάτη (75 – 80%), σπάνια στη μεταβατική ζώνη (10 – 15%) και πιο σπάνια στην κεντρική ζώνη (<5%).

Με την μέθοδο ανοσοϊστοχημείας η HGPIN χαρακτηρίζεται από έντονα θετική χρώση του κυτταροπλάσματος με το αντίσωμα έναντι της α-μεθυλακυλ-CoA ρακεμάσης (AMACR) και P504S (φυσιολογικά προστατικά αδένια: P504S αρνητικά). Η βασική στιβάδα εμφανίζει θετική χρώση με αντισώματα έναντι του πυρηνικού p63 καθώς και της κυτταροπλασματικής υψηλού μοριακού βάρους κυτοκερατίνης 34βE12 (CK903) και είναι συνήθως ανέπαφη, ωστόσο σπάνια διακόπτεται σε LGPIN ή και HGPIN. Ο δείκτης κυτταρικού πολλαπλασιασμού

Ki-67 (MIB-1) απαντά στα βασικά κύτταρα του καλοήθους επιθηλίου, στην HGPIN εντοπίζεται στο αυλικό άκρο πόρων και αδένων (174-176).

Το γενετικό προφίλ της HGPIN παρουσιάζει αρκετές ομοιότητες με αυτό του προστατικού καρκινώματος. Συνήθεις χρωμοσωμικές μεταβολές στην HGPIN αποτελούν προσθήκες και απώλειες στην περιοχή του κεντρομεριδίου του χρωμοσώματος 8, συχνά με ταυτόχρονη απώλεια περιοχών του 8p και προσθήκη του 8q. Άλλες κοινές μεταλλάξεις μεταξύ PIN και προστατικού καρκίνου αφορούν στα χρωμοσώματα 10, 7, 12 και Y, με απώλειες στα χρωμοσώματα 10q, 16q και 18q. Η δραστηριότητα της τελομεράσης, η οποία επίσης αναδεικνύει χρωμοσωμική αστάθεια, παρατηρείται στο 16% της HGPIN και στο 85% του διηθητικού προστατικού καρκινώματος, ενώ έχει προταθεί από ερευνητές η χρήση της ως βιοδείκτη για τον καρκίνο προστάτη. Άλλες γενετικές μεταβολές που παρατηρούνται στην HGPIN αλλά και στον προστατικό καρκίνο, είναι η υπερέκφραση γονιδίων όπως NKX3.1, p27, TP53, C-MYC, GSTP-1, FAS και bcl-2 (174, 175, 176). Η υψηλόβαθμη PIN φαίνεται ότι αποτελεί μια πρόδρομη αλλοίωση σε πολλές περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων του προστάτη και στο 1/3 των ασθενών διαπιστώνεται συσχέτιση της HGPIN με διηθητικό καρκίνωμα προστάτη. Έτσι η HGPIN θεωρείται προκαρκινική κατάσταση και σημαντική προβλεπτική παράμετρος για τον προστατικό καρκίνο. Τονίζεται ωστόσο ότι η παρουσία της δεν είναι απαραίτητη για την έναρξη της καρκινογένεσης (174-176). Στην ιστολογική έκθεση πρέπει να αναφέρεται η παρουσία της HGPIN. Η κλινική σημασία του ιστολογικού ευρήματος της υψηλόβαθμης PIN καθορίζει την ανάγκη για άμεση επαναληπτική βιοψία ή καταρχήν μεσοδιάστημα με παρακολούθηση του ασθενούς. Για την αξιολόγηση της κλινικής σημασίας της HGPIN απαιτείται η συνεκτίμηση και άλλων παραμέτρων, όπως ο τρόπος της βιοψίας, ο αριθμός των ιστοτεμαχίων που ελήφθησαν, άλλες κλινικές παράμετροι όπως η τιμή PSA, η ηλικία, η γενική κατάσταση και το προσδόκιμο επιβίωσης του ασθενούς. Η αναφορά στην ιστολογική έκθεση πολυεστιακής HGPIN ενισχύει το ενδεχόμενο επαναληπτικής βιοψίας, καθώς υπάρχει ελαφρά αυξημένη πιθανότητα διάγνωσης προστατικού καρκινώματος στην επαναληπτική βιοψία (174-176).

ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Για την σταδιοποίηση του καρκίνου του προστάτη χρησιμοποιείται το σύστημα TNM (Tumor-Node-Metastasis) του 2009. Πίνακας 10.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Ουρολογική Εταιρεία (EAU) οι ασθενείς με εντοπισμένο ή τοπικά προχωρημένο προστατικό καρκίνο διακρίνονται σε χαμηλού, μετρίου και υψηλού κινδύνου να εμφανίσουν βιοχημική υποτροπή μετά από ριζική θεραπεία (ριζική προστατεκτομή ή ακτινοθεραπεία). Η κατηγοριοποίηση αυτή βασίζεται κατ' ουσίαν στην αρχική, κατά D' Amico ταξινόμηση ομάδων ασθενών με καρκίνο προστάτη.

Πίνακας 11, EAU Guidelines 2020.

TNM Σύστημα Σταδιοποίησης (2009)	
T - Πρωτοπαθής Όγκος	
Tx	Ο πρωτοπαθής όγκος δεν είναι δυνατόν να εκτιμηθεί
T0	Χωρίς ενδείξεις πρωτοπαθούς όγκου
T1	Κλινικά μη εμφανής όγκος, μη ψηλαφητός ή ορατός με απεικονιστικές μεθόδους T1a Τυχαίο ιστολογικό εύρημα σε λιγότερο από το 5% του ιστού εκτομής T1b Τυχαίο ιστολογικό εύρημα σε περισσότερο από το 5% του ιστού εκτομής T1c Όγκος που ανευρέθηκε σε βιοψία προστάτη (π.χ. λόγω αυξημένου PSA)
T2	Όγκος εντοπισμένος στον προστάτη ¹ T2a Όγκος καταλαμβάνει το μισό ή λιγότερο τους ενός λοβού T2b Όγκος καταλαμβάνει περισσότερο από το μισό του ενός λοβού, όχι όμως τους δύο λοβούς T2c Όγκος καταλαμβάνει και τους δύο λοβούς
T3	Όγκος που επεκτείνεται πέραν της προστατικής κάψας ² T3a Εξωκαψική επέκταση (ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη) που περιλαμβάνει και την μικροσκοπική συμμετοχή του αυχένα της κύστης T3b Ο όγκος επεκτείνεται στην σπερματοδόχο κύστη(εις)

T4	Ο όγκος είναι καθηλωμένος ή διηθεί παρακείμενες δομές εκτός των σπερματοδόχων κύστεων:έξω σφιγκτήρα, ορθό, ανελκτήρα του πρωκτού και/ή πυελικό τοίχωμα
N – Επιχώριοι Λεμφαδένες ^{3,4}	
Nx	Επιχώριοι λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν
N0	Απουσία επιχώριων λεμφαδενικών μεταστάσεων
N1	Μετάσταση σε επιχώριους λεμφαδένες
M - Απομακρυσμένες Μεταστάσεις ⁵	
Mx	Η ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων δεν μπορεί να εκτιμηθεί
M0	Χωρίς απομακρυσμένες μεταστάσεις
M1	Απομακρυσμένες μεταστάσεις M1a Σε μη επιχώριο λεμφαδένα(ες) M1b Οστική(ες) M1c Άλλη εντόπιση(εις)
1 Όγκος που ανευρίσκεται και στους δύο λοβούς στη βιοψία, αλλά είναι αψηλάφητος ή δεν απεικονίζεται ταξινομείται ως T1c. 2 Επέκταση στην κορυφή του προστάτη ή εντός (αλλά όχι πέραν) της προστατικής κάψας δεν ταξινομείται ως T3, αλλά T2. 3 Επιχώριοι είναι οι λεμφαδένες κάτω από τον διχασμό της κοινής λαγονίου αρτηρίας. 4 Η εντόπιση δεν μεταβάλλει την ταξινόμηση των λεμφαδένων. 5 Όταν εντοπίζονται περισσότερες από μια μεταστατικές εστίες, χρησιμοποιείται αυτή με το μεγαλύτερο καρκινικό φορτίο.	

Πίνακας 10: Σταδιοποίηση καρκίνου του προστάτη κατά το σύστημα TNM 2009 (9).

Πίνακας 11. Ορισμός – ομάδες κινδύνου βιοχημικής υποτροπής			
Χαμηλού Κινδύνου	Ενδιάμεσου Κινδύνου	Υψηλού Κινδύνου	
PSA<10ng/ml και GS<7 (ISUP Grade1) και cT1 – cT2a	PSA 10-20 ng/ml ή GS7 (ISUP Grade 2,3) ή cT2b	PSA> 20ng/ml ή GS>7 (ISUP Grade 4,5) ή cT2c	κάθεPSA κάθε GS (κάθε ISUP Grade) cT3-T4 ή cN+
Εντοπισμένος			Τοπικά προχωρημένος

Πίνακας 11: Κίνδυνος βιοχημικής υποτροπής σε εντοπισμένο και τοπικά προχωρημένο καρκίνο προστάτη, κατά Ευρωπαϊκή Ουρολογική Εταιρεία, EAU Guidelines 2020 (9)

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Προσυμπτωματικός Έλεγχος - Screening

Η ανακάλυψη του PSA έφερε επανάσταση στην διάγνωση και αντιμετώπιση παθήσεων του προστάτη. Από την ανακάλυψή του στην δεκαετία του '70 πέρασε περίπου μια δεκαετία ώσπου το PSA να καθιερωθεί στην κλινική πράξη. Το 1986 εγκρίθηκε καταρχήν από τον Αμερικανικό οργανισμό τροφίμων και φαρμάκων των Η.Π.Α. (U.S. FDA) η μέτρηση των επιπέδων PSA στον ορό για την παρακολούθηση ασθενών με διαγνωσμένο καρκίνο του προστάτη, ενώ το 1994 εγκρίθηκε η μέτρησή του ως δείκτη στον προληπτικό έλεγχο του αντρικού πληθυσμού ηλικίας >50 ετών.

Η ευρεία χρήση του PSA ως εργαλείο μαζικού προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) του ανδρικού πληθυσμού μέσης ηλικίας οδήγησε αρχικά σε εντυπωσιακή αύξηση ασθενών με πρώιμη διάγνωση καρκίνου προστάτη. Αυτό όμως επέφερε και «υπερδιάγνωση» μη κλινικά σημαντικών καρκίνων, καθώς και υπερθεραπεία με τις πιθανές συνοδούς επιπλοκές. Η χρήση του PSA ως δείκτη προσυμπτωματικού ελέγχου μαζικού πληθυσμού αποτελεί ακόμα και σήμερα ένα θέμα διχογνωμίας στην διεθνή βιβλιογραφία (177,178).

Το 2012 η αμερικανική επιτροπή US Preventive Services Task Force (USPSTF) συνέστησε την διακοπή του συστηματικού μαζικού προσυμπτωματικού ελέγχου με την μέτρηση του PSA και η σύσταση αυτή υιοθετήθηκε το 2013 στις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής ουρολογικής εταιρείας (AUA). Το γεγονός αυτό οδήγησε σε μείωση της χρήσης του PSA για την πρώιμη διάγνωση της νόσου. Ενώ η θνητότητα από τον προστατικό καρκίνο είχε μειωθεί τις προηγούμενες δύο δεκαετίες από την εισαγωγή του PSA στην κλινική πράξη, ο επιπολασμός προχωρημένου καρκίνου και πιθανώς η σχετική με τη νόσο θνητότητα άρχισε να αυξάνει από το 2012 (177,178). Ομοίως η μείωση της χρήσης του PSA συνοδεύτηκε με αυξημένο στάδιο καρκίνου προστάτη κατά την διάγνωση της νόσου, για παράδειγμα μια αύξηση κατά 6 % στον αριθμό των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο (179). Επιπλέον ευρήματα σε μελέτες φανερώνουν μακροχρόνιο όφελος στην ειδική από τη νόσο θνητότητα από την χρήση του PSA (179,180).

Το 2017 η αμερικανική επιτροπή USPSTF διαφοροποίησε την προηγούμενη σύστασή της, αναφέροντας ότι ο προσυμπτωματικός έλεγχος με PSA ενδείκνυται επιλεκτικά σε άνδρες ηλικίας 55-69 ετών, αφού όμως αυτοί θα πρέπει να ενημερώνονται αναλυτικά για τα πιθανά οφέλη και τις πιθανές επιπτώσεις από τον προσυμπτωματικό έλεγχο PSA, καθώς αυτός ενδέχεται να έχει ένα μικρό μόνο όφελος στην επιβίωσή τους. Η αναθεώρηση του 2017 της σύστασης της Αμερικανικής επιτροπής πρακτικά πρότεινε τον επιλεκτικό και εξατομικευμένο κατά ασθενή προσυμπτωματικό έλεγχο με PSA έναντι του αρχικού μαζικού ελέγχου του ανδρικού πληθυσμού αναβαθμίζοντας και τον βαθμό σύστασής της (grade of recommendation C) από τον προηγούμενο αντίστοιχο βαθμό που ήταν D (177-180). Η συγκριτική μελέτη από το Göteborg Σουηδίας, βασιζόμενη στα αποτελέσματα 18 ετών συνέκρινε τον επιλεκτικό ή τυχαίο (opportunistic) προσυμπτωματικό έλεγχο με PSA έναντι του μαζικού συστηματικού ελέγχου. Η μελέτη παρατήρησε ότι ο τυχαίος έλεγχος οδήγησε σε μείωση της θνητότητας από προστατικό καρκίνο, αύξησε όμως το ποσοστό «υπερδιάγνωσης» της νόσου με οριακό στην καλύτερη περίπτωση όφελος στην επιβίωση (181).

Μελέτες ανασκόπησης της βιβλιογραφίας (Cochrane review) (180) για τον προσυμπτωματικό έλεγχο – screening, παρουσίασαν το 2013 και 2014 τα σχετικά δεδομένα, τα οποία ήταν παραπλήσια με τα αντίστοιχα δεδομένα ανασκόπησης του 2009.

Συνοπτικά αναφέρονται τα παρακάτω αποτελέσματα:

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος – screening σχετίζεται με αυξημένη διάγνωση καρκίνου προστάτη (RR: 1.3; 95% CI: 1.02-1.65) και μάλιστα περισσότερο εντοπισμένου καρκίνου (RR: 1.79; 95% CI: 1.19-2.70) και λιγότερο προχωρημένου καρκίνου (T3-4, N1, M1) (RR: 0.80, 95% CI: 0.73-0.87).

Από τα αποτελέσματα 5 προοπτικών τυχαιοποιημένων μελετών με συμμετέχοντες περισσότερους από 341.000 άνδρες, δεν παρατηρήθηκε όφελος στην ειδική για τον προστατικό καρκίνο επιβίωση (RR: 1.00, 95% CI: 0.86-1.17). Αυτός ήταν και ο τελικός στόχος των παραπάνω μελετών.

Από τα αποτελέσματα 4 προοπτικών τυχαιοποιημένων μελετών δεν παρατηρήθηκε όφελος στην συνολική επιβίωση (RR: 1.00, 95% CI: 0.96-1.03). Επιπλέον ο προσυμπτωματικός έλεγχος συσχετίστηκε με την «υπερδιάγνωση» και «υπερθεραπεία» μη κλινικά σημαντικών καρκίνων.

Η επίδραση του προσυμπτωματικού ελέγχου στην ποιότητα ζωής των ασθενών δεν έχει λεπτομερώς και αξιόπιστα μελετηθεί. Ωστόσο τα παραπάνω αποτελέσματα οδήγησαν σε παγκόσμιο επίπεδο στην σύσταση μη διενέργειας μαζικού συστηματικού προσυμπτωματικού ελέγχου.

Η ευρωπαϊκή μελέτη European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) από το 2013 και μετά από 16 έτη παρακολούθησης, συμπεραίνει ότι ο ρυθμός μείωσης της θνητότητας παραμένει σταθερός (21% ή 29% συνυπολογίζοντας το ποσοστό μη συμμόρφωσης των ασθενών) (177). Ωστόσο μετά από μακροχρόνια παρακολούθηση η ίδια μελέτη ERSPC δείχνει ότι μειώνονται οι σημαντικοί επιδημιολογικοί στατιστικοί δείκτες NNS και NNT, δηλαδή ο αριθμός των ατόμων που πρέπει να ελεγχθούν (Number Needed to Screen, NNS) και ο αριθμός των ατόμων που πρέπει να λάβουν θεραπεία (Number Needed to Treat, NNT). Μάλιστα ο δείκτης NNS που αφορά τον καρκίνο προστάτη είναι τώρα χαμηλότερος από τον αντίστοιχο δείκτη στις μελέτες για τον καρκίνο μαστού (9,177-181). Πίνακας 12.

Έτη παρακολούθησης (Follow up)	αριθμός των ατόμων που πρέπει να ελεγχθούν NNS = Number Needed to Screen	αριθμός των ατόμων που πρέπει να λάβουν θεραπεία NNT = Number Needed to Treat
9	1,410	48
11	979	35
13	781	27
16	570	18

Πίνακας 12: Δεδομένα παρακολούθησης ασθενών από την μελέτη ERSPC, EAU guidelines 2020 (9)

Η πρώιμη διάγνωση καρκίνου προστάτη με την διενέργεια προσυμπτωματικού ελέγχου έχει σίγουρα οφέλη για ασθενείς με κλινικά σημαντικό καρκίνο. Αποτελεί ακόμα και σήμερα στην ουρολογία πρόκληση ο τρόπος να αναγνωριστούν οι ασθενείς με προστατικό καρκίνο που θα ωφεληθούν από το

screening, αποφεύγοντας παράλληλα την υπερανίχνευση και κατ' επέκταση την υπερθεραπεία κλινικά ασήμαντων όγκων. Η σύγχρονη προσέγγιση στο συγκεκριμένο θέμα προτείνει την εξατομικευμένη και προσαρμοσμένη κατά ασθενή αντιμετώπιση, σύμφωνα με την οποία ο προσυμπτωματικός έλεγχος συστήνεται γενικά για ασθενείς με προσδόκιμο επιβίωσης μεγαλύτερο των 10 ετών, αφού πρώτα έχουν ενημερωθεί αναλυτικά σχετικά με τα οφέλη και τους πιθανούς κινδύνους του ελέγχου αυτού.

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος περιλαμβάνει την μέτρηση της τιμής του PSA στον ορό αλλά και την δακτυλική εξέταση. Η δακτυλική εξέταση αποτελούσε στην προ-PSA εποχή την βασική εξέταση διάγνωσης καρκίνου προστάτη. Ωστόσο από μόνη της η δακτυλική εξέταση, ιδιαίτερα στα πλαίσια πρωτοβάθμιας φροντίδας υγείας, έχει χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα (μικρότερη του 60%) και έτσι δεν συστήνεται από μόνη της ως εξέταση για να αποκλείσει τον καρκίνο προστάτη. Μεγάλη προοπτική τυχαιοποιημένη έρευνα στα πλαίσια πρωτοβάθμια φροντίδας, έδειξε ότι μια τυχαία μέτρηση PSA ορού σε άνδρες ηλικίας 50-69 ετών δεν βελτιώνει το ποσοστό δεκαετούς επιβίωσης σχετιζόμενης ειδικά με τον καρκίνο προστάτη (181,182).

Ο εξατομικευμένος και προσαρμοσμένος κατά ασθενή προσυμπτωματικός έλεγχος βασίζεται στην αρχική τιμή PSA ορού, ενώ το χρονικό διάστημα της επανεξέτασης διαφέρει και εξαρτάται από τον κίνδυνο που έχει ο κάθε ασθενής να εμφανίσει καρκίνο. Έτσι μπορεί να είναι από 2 έτη μετά την αρχική μέτρηση PSA σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο ή να φτάσει τα 8 έτη σε ασθενείς χωρίς ιδιαίτερο κίνδυνο που έχουν αρχική τιμή PSA < 1 ng/mL στην ηλικία των 40 ετών ή PSA < 2 ng/mL στην ηλικία των 60 ετών και δεν έχουν οικογενειακό ιστορικό εμφάνισης καρκίνου προστάτη (181,182).

Στην συνέχεια, στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται οι κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας, σχετικά με τον προσυμπτωματικό ή προληπτικό έλεγχο με την μέτρηση PSA ορού (9). Πίνακας 13

Οδηγίες για τον προληπτικό έλεγχο (screening) και την πρώιμη διάγνωση	LE	GR
Να μην υποβάλλονται άνδρες σε έλεγχο PSA χωρίς να έχουν πρώτα ενημερωθεί για τα πιθανά οφέλη καθώς και τους κινδύνους της επιλογής στους	3	B
Να προσφέρεται εξατομικευμένη στρατηγική προσαρμοσμένη στον κίνδυνο για την πρώιμη διάγνωση σε καλά ενημερωμένους άνδρες με καλό performance status και προσδόκιμο επιβίωσης τουλάχιστον 10-15 έτη	3	B
Πρώιμος έλεγχος με PSA προσφέρεται σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη: - Άνδρες ηλικίας άνω των 50 - Άνδρες ηλικίας άνω των 45 με οικογενειακό ιστορικό Pca - Αφροαμερικανούς ηλικίας άνω των 45 - Άνδρες με PSA>1 ng/dl στα 40 έτη ηλικίας - Άνδρες με PSA>2 ng/dl στα 60 έτη ηλικίας	2b	A
Στρατηγική προσαρμοσμένη στον κίνδυνο (σε σχέση με αρχικές τιμές PSA) προσφέρεται με μεσοδιαστήματα παρακολούθησης τα 2 έτη στους άνδρες που αρχικά βρίσκονται σε κίνδυνο: - Άνδρες με PSA>1 ng/dl σε ηλικία 40 ετών - Άνδρες με PSA>2 ng/dl σε ηλικία 60 ετών Η παρακολούθηση αναβάλλεται για 8 έτη στους άνδρες που δεν διατρέχουν κίνδυνο	3	C
Η απόφαση σε ποια ηλικία θα διακοπεί η προσπάθεια πρώιμης διάγνωσης καρκίνου προστάτη βασίζεται στο προσδόκιμο επιβίωσης και το performance status, άνδρες με προσδόκιμο επιβίωσης <15 έτη είναι απίθανο να ωφεληθούν	3	A

Πίνακας 13: Κατευθυντήριες οδηγίες προσυμπτωματικού / προληπτικού ελέγχου με PSA , EAU Guidelines 2020 (9)

Στα πλαίσια του προσυμπτωματικού ελέγχου, στην προσπάθεια να αναγνωριστούν οι ασθενείς που θα ωφεληθούν από την διενέργεια βιοψίας προστάτη με στόχο την πρώιμη διάγνωση, αλλά και να αποφευχθούν μη αναγκαίες βιοψίες, σημαντική βοήθεια προσφέρουν νεότερες τεχνικές

απεικονιστικού ελέγχου όπως η πολυπαραμετρική μαγνητική τομογραφία ή νεότεροι βιοδείκτες, συμπληρωματικοί του PSA, όπως είναι ο έλεγχος σύντηξης TMPRSS2-ERG, το PCA3 τεστ, ο προσδιορισμός του Phi ή 4Kscore tests και άλλα. Τα αποτελέσματα από την χρήση των παραπάνω νεότερων βιοδεικτών είναι ελπιδοφόρα. Ωστόσο χρειάζονται περισσότερες έρευνες και πιο επαρκή δεδομένα, ώστε οι νεότεροι βιοδείκτες να συμπεριληφθούν στις επίσημες κατευθυντήριες οδηγίες της διεθνούς ουρολογικής κοινότητας για ευρεία χρήση τους στην καθημερινή κλινική πράξη (183,184).

Επιπλέον έχουν αναπτυχθεί νεότερες εφαρμογές, οι λεγόμενοι «υπολογιστές κινδύνου» (risk calculators), οι οποίοι υπολογίζουν εξατομικευμένα για κάθε ασθενή, τον ενδεχόμενο κίνδυνο που έχει να εμφανίσει καρκίνο προστάτη, συμβάλλοντας έτσι στην αξιολόγηση και λήψη αποφάσεων όπως η αναγκαιότητα διενέργειας βιοψίας προστάτη (9).

Δακτυλική Εξέταση

Η δακτυλική εξέταση μπορεί να διαγνώσει καρκίνο προστάτη στην περιφερική ζώνη όταν το μέγεθος του όγκου είναι μεγαλύτερο από 0,2 ml. Σε περίπου 18 % των περιπτώσεων καρκίνος προστάτη διαγιγνώσκεται μόνο με δακτυλική εξέταση ανεξάρτητα από την τιμή του PSA. Υποψία καρκίνου προστάτη στην δακτυλική εξέταση σε ασθενείς με PSA < 2 mg/mL έχει θετική προγνωστική αξία (PPV) 5-30%. Εύρημα στην δακτυλική εξέταση συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο υψηλότερου βαθμού κακοήθειας κατά ISUP και αποτελεί ένδειξη για βιοψία προστάτη (9)

Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο (PSA)

PSA

Το Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο (PSA) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη 33 kD, η οποία αποτελείται από 240 αμινοξέα και ανήκει στην οικογένεια των καλλικρεϊνών (καλλικρεΐνη-3, KLK3). Το γονίδιο που κωδικοποιεί το PSA (hKLK3) ανήκει στην οικογένεια γονιδίων της ανθρώπινης καλλικρεΐνης, βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 και έχει μέγεθος 6 χιλιοβάσεις, ενώ αποτελείται από 5 εσώνια και 6 εξώνια.

Σήμερα έχουν αναγνωριστεί 15 γονίδια της οικογένειας καλλικρεϊνών, 8 από τα οποία εκφράζονται στον προστατικό ιστό (183,185).

Το PSA παράγεται κυρίως από τα προστατικά επιθηλιακά κύτταρα από τα οποία εκκρίνεται για να αποτελέσει ένα από τα συστατικά του σπέρματος. Εκτός του προστάτη, παραγωγή PSA έχει διαπιστωθεί σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις από τον φυσιολογικό μαζικό αδένα, τους ανδρικούς και γυναικείους περιουρηθρικούς αδένες (Skene), τους περιπρωκτικούς αδένες και το ενδομήτριο. Επιπλέον παρουσία PSA έχει ανιχνευθεί στο μητρικό γάλα, στο έκκριμα θηλής του μαστού, σε υγρό κύστης μαστού, στο αμνιακό υγρό, στον καρκίνο του μαστού καθώς και σε όγκους νεφρού, επινεφριδίων, πνεύμονα, παρωτίδας, παχέως εντέρου και ωοθηκών (183-185). Η παρουσία PSA στον ορό οφείλεται σε διαφυγή από τον «αιματο-προστατικό φραγμό». Ο φραγμός αυτός αποτελείται από τα προστατικά επιθηλιακά κύτταρα, τα βασικά κύτταρα, την βασική μεμβράνη, το προστατικό στρώμα, τα επιθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών αγγείων και λεμφαγγείων. Μάλιστα, μετά το σπερματικό υγρό, στο οποίο εμφανίζεται με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση (1.000.000 μg/L), το έκκριμα από τη θηλή του γυναικείου μαστού (5.000 μg/L) και το μητρικό γάλα (300 μg/L) είναι τα δυο βιολογικά υγρά με τις αμέσως επόμενες μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (183-185)

Παρά την ανίχνευση PSA και σε άλλους ιστούς εκτός του προστάτη, ωστόσο για κλινικούς λόγους η μέτρηση τιμής του PSA στον ορό, θεωρείται ειδική για τον προστάτη.

Το PSA δρα ως πρωτεάση της σερίνης και συμβάλλει στην υδροποίηση του σπερματικού υγρού μέσω της πρωτεολυτικής δράσης της στις πρωτεΐνες του σπέρματος, σπερμογελίνη και φιμπρονεκτίνη.

Ανώτατο όριο φυσιολογικής τιμής PSA στον ορό θεωρήθηκε αρχικά η τιμή 4ng/ml. Η τιμή αυτή τέθηκε σχετικά αυθαίρετα και βασίστηκε κυρίως σε μελέτες υγιών αντρών κατά τις οποίες το 97% των αντρών ηλικίας 40 ετών και άνω, είχαν PSA μικρότερο ή ίσο του 4ng/ml. Χρησιμοποιώντας το όριο των 4 ng/ml, η ευαισθησία του PSA είναι ~20% για την εντόπιση οποιουδήποτε καρκίνου προστάτη και η ειδικότητά του είναι ~94%. Επιπλέον η θετική προγνωστική αξία για τιμές άνω των 4 ng/ml είναι μόνο 25-30%, ενώ η αρνητική προγνωστική αξία για τιμές PSA μικρότερες των 4 ng/ml είναι 85-90% (186). Από τα παραπάνω δεδομένα πρακτικά προκύπτει ότι λιγότερο από ένας στους τρεις ασθενείς με

PSA πάνω από 4 ng/dl που οδηγείται σε βιοψία του προστάτη επειδή είχε τιμή PSA πάνω από 4 ng/ml τελικά θα διαγνωσθεί με καρκίνο του προστάτη ή διαφορετικά με βάση μόνο την αυξημένη τιμή PSA υποβάλλονται 2 στους 3 ασθενείς χωρίς τελικό όφελος. Επίσης φαίνεται ότι υπάρχει 25% πιθανότητα ένας άντρας να έχει καρκίνο στην ζώνη των τιμών του PSA των 4-10 ng/ml (186).

Το PSA είναι δείκτης ειδικός για τον προστάτη ως όργανο, δεν είναι όμως ειδικός καρκινικός δείκτης για τη πρώιμη διάγνωση του καρκίνου προστάτη, αφού εκτός του καρκίνου αυξάνεται και σε μια σειρά άλλες παθολογικές καταστάσεις του προστάτη. Τέτοιες είναι η καλοήθης υπερπλασία προστάτη, οξεία ή χρόνια φλεγμονή (προστατίτιδα), η επίσχεση ούρων, οι χειρισμοί που αφορούν τον προστάτη όπως η βιοψία, ο καθετηριασμός κύστεως και η προστατική μάλαξη (180-187).

Αντίθετα με την χρήση του στην πρώιμη διάγνωση, το PSA αποτελεί ειδικό καρκινικό δείκτη σε ασθενείς με διαγνωσμένο καρκίνο προστάτη για την εφαρμογή θεραπείας και την παρακολούθηση εξέλιξης της νόσου.

Καθώς το PSA παράγεται από τα επιθηλιακά προστατικά κύτταρα γίνεται εύκολα κατανοητό, ότι τα επίπεδα PSA στον ορό έχουν άμεση σχέση με τον όγκο του επιθηλίου, το οποίο εξαρτάται από την αναλογία κυτταρικού πολλαπλασιασμού και κυτταρικού θανάτου των προστατικών επιθηλιακών κυττάρων (180-187).

Η αυξημένη τιμή PSA στον ορό ασθενών με καρκίνο προστάτη δεν οφείλεται σε αυξημένη παραγωγή του από τα καρκινικά κύτταρα, αλλά οφείλεται στην διαταραχή της κυτταρικής αρχιτεκτονικής του προστάτη και την απώλεια του φραγμού που σχηματίζεται μεταξύ των αγγείων και της βασικής μεμβράνης των προστατικών αδένων, επιτρέποντας έτσι την είσοδο μεγαλύτερων ποσοτήτων PSA στην αιματική κυκλοφορία. Σε αδιαφοροποίητους όγκους έχει παρατηρηθεί μειωμένη παραγωγή PSA με αποτέλεσμα οι ασθενείς αυτοί να μην εμφανίζουν αυξημένες τιμές PSA στον ορό (180-187). Επίσης η ίδια διαταραχή κυτταρικής δομής παρατηρείται και σε άλλες μη ογκολογικές καταστάσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω και συνοδεύονται από αυξημένα επίπεδα PSA στον ορό, όπως η καλοήθης υπερπλασία, η προστατίτιδα, η βιοψία προστάτη κλπ. (180-187).

Δεν υπάρχουν σαφώς καθορισμένα φυσιολογικά όρια του PSA στον ορό. Είναι μια συνεχής παράμετρος και όσο αυξάνεται η τιμή PSA, τόσο αυξάνεται και η πιθανότητα παρουσίας προστατικού καρκίνου. Πολλοί άνδρες ενδέχεται να έχουν κλινικά σημαντικό καρκίνο προστάτη έχοντας χαμηλή τιμή PSA στον ορό (180-188).

Στην μελέτη των Thompson και συνεργατών (188) όπως αυτή παρουσιάζεται και στις κατευθυντήριες οδηγίες της ευρωπαϊκής ουρολογικής εταιρείας, σε 18.882 άνδρες συνολικά, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε προσυμπτωματικό έλεγχο, φάνηκε ότι καρκίνος προστάτη υπήρχε ακόμα και με χαμηλές τιμές PSA. Η ύπαρξη κλινικά σημαντικού καρκίνου με Gleason score > 7 (ή ISUP grade > 2) παρατηρήθηκε ακόμα και σε εξαιρετικά χαμηλή τιμή PSA. Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης όπου μεταξύ άλλων φαίνεται το ποσοστό κλινικά σημαντικού καρκίνου με Gleason score > 7 (ή ISUP grade > 2) σε χαμηλά επίπεδα PSA (188).

Πίνακας 14

PSA level (ng/mL)	Risk of PCa (%)	Risk of ISUP grade > 2 PCa (%)
0.0-0.5	6.6	0.8
0.6-1.0	10.1	1.0
1.1-2.0	17.0	2.0
2.1-3.0	23.9	4.6
3.1-4.0	26.9	6.7

Πίνακας 14: Κίνδυνος καρκίνου προστάτη σε σχέση με χαμηλές τιμές PSA (188)

Η χρησιμοποίηση νομογραμμάτων στην καθημερινή κλινική πράξη ενδέχεται να προβλέψει την πιθανότητα παρουσίας μη κλινικά σημαντικού προστατικού καρκίνου (9,188)

ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ ΑΞΙΑΣ ΤΟΥ PSA

Η προσπάθεια βελτίωσης της διαγνωστικής αξίας του PSA τόσο κατά τον προσυμπτωματικό έλεγχο και την επιλογή ασθενών που χρήζουν βιοψίας προστάτη, όσο και στην αξιολόγηση του κινδύνου εξέλιξης του καρκίνου και την επιλογή περαιτέρω θεραπείας, αποτέλεσε το επίκεντρο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος. Αναπτύχθηκαν έτσι διάφορες εξετάσεις σχετικές με τα κλάσματα του PSA και τις μοριακές ισομορφές του.

Παρουσιάζονται στην συνέχεια η μέτρηση της πυκνότητας PSA (PSAD), η ταχύτητα αύξησης PSA (PSAV), ο χρόνος διπλασιασμού PSA (PSADT), ο λόγος ελεύθερου / ολικό PSA (ratio free/total PSA, %fPSA) και ο δείκτης PHI (Prostate Health Index).

Πυκνότητα PSA - PSA Density (PSAD)

PSAD καλείται το πηλίκο της τιμής του PSA στον ορό προς τον όγκο του προστάτη, μετρούμενου δια του διορθικού υπερηχογραφήματος (189,190). Αρκετές μελέτες, βασιζόμενες στα ευρήματα ότι ο φυσιολογικός προστατικός ιστός απελευθερώνει στο αίμα μικρότερες ποσότητες PSA ανά γραμμάριο ιστού (0,3/ng/ml/gr) σε σχέση με τον καρκίνο προστάτη (3,5/ng/ml/gr) πρότειναν την μέτρηση της πυκνότητας PSA σε μια προσπάθεια να βελτιώσουν την ειδικότητα του PSA ως χρήσιμου διαγνωστικού δείκτη. Η τιμή 0,15 καθορίστηκε ως το ανώτερο φυσιολογικό της όριο, πέρα από την οποία συστήνεται η διενέργεια βιοψίας προστάτη, σε άνδρες με φυσιολογική δακτυλική εξέταση και τιμές PSA στον ορό στην γκρίζα ζώνη, δηλαδή μεταξύ 4 και 10 ng/ml (189,190). Το κύριο πλεονέκτημα της PSAD διαπιστώθηκε αρχικά σε επίπεδα PSA>10 ng/ml (189). Η διαγνωστική αξία της PSAD αμφισβητήθηκε έντονα εξαιτίας των μειονεκτημάτων που προκύπτουν κατά τον υπολογισμό της, όπως για παράδειγμα το διαφορετικό ποσοστό προστατικού επιθηλίου σε προστάτες παρόμοιου μεγέθους, η ανακρίβης και εξαρτώμενη από τον χειριστή

μέτρηση του όγκου προστάτη με τον διορθικό υπέρηχο, καθώς και η αδυναμία αναπαραγωγής των δεδομένων της μέτρησής του (189,190).

Προσπαθώντας να αυξήσουν την διαγνωστική αξία της PSAD οι Kalish και συνεργάτες πρότειναν το 1994 την μέτρηση της πυκνότητας της μεταβατικής ζώνης (PSA Density Transition Zone, PSAD-TZ), αφού στην μεταβατική ζώνη παράγεται περισσότερη ποσότητα PSA στην καλοήγη υπερπλασία προστάτη (189,190). Έτσι σε ασθενείς με τιμές PSA μεταξύ 4-10 ng/ml, η τροποποίηση αυτή έδειξε μεγαλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα από την PSAD. Τόσο η PSAD όσο και η PSAD-TZ δύσκολα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ευρέως στην καθημερινή κλινική πράξη (189,190)

Κινητική PSA

Χρόνος Διπλασιασμού PSA - PSA Doubling Time (PSADT)

Ταχύτητα Αύξησης PSA - PSA Velocity (PSAV)

Ο χρόνος διπλασιασμού του PSA (PSADT) είναι η εκθετική αύξηση του PSA του πλάσματος με την πάροδο του χρόνου. Η περισσότερο κλινικά σημαντική χρήση του PSADT είναι κυρίως για τον έλεγχο της προόδου της νόσου μετά από ριζική θεραπεία ή ως κριτήριο κατά το οποίο οι ασθενείς που αντιμετωπίζονται με ενεργή παρακολούθηση πρέπει ενδεχομένως να υποβληθούν σε ριζική θεραπεία. Το PSADT δεν έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμο στην διάγνωση του προστατικού καρκίνου (191).

Ταχύτητα αύξησης PSA (PSAV) ορίζεται ο απόλυτος ετήσιος ρυθμός αύξησης του PSA (ng/ml/έτος). Αρχικά οι Carter και συνεργάτες (192) πρότειναν το 1992 την μέτρηση της ταχύτητας αύξησης του PSA, καθώς παρατήρησαν ότι ο ρυθμός αύξησης του PSA σε σχέση με τον χρόνο ήταν υψηλότερος σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη, σε σύγκριση με ασθενείς με καλοήγη υπερπλασία προστάτη και τους μάρτυρες. Προσδιόρισαν δε την τιμή των 0,75 ng/ml/έτος ως το ανώτερο όριο μεταβολής του PSA και ως ένα χρήσιμο δείκτη στη διάγνωση του καρκίνου προστάτη σε άνδρες με τιμές PSA μεταξύ 4-10 ng/ml κατά την διάκριση ασθενών με καρκίνο από αυτούς με καλοήγη νόσο. Έτσι αν ο ετήσιος ρυθμός αύξησης του PSA υπολογιζόμενος με τρεις διαδοχικές μετρήσεις PSA σε χρονικό διάστημα 2 ετών είναι μεγαλύτερος από 0,75 ng/ml/έτος είναι

περισσότερο πιθανή η παρουσία καρκίνου προστάτη (192). Η προγνωστική αξία της PSAV φαίνεται ότι εξαρτάται από την αρχική τιμή PSA και την ηλικία του ασθενούς.

Σε μια μελέτη από τους ερευνητές Loeb και συνεργάτες (193), στην οποία συμμετείχαν 11.792 άνδρες με τουλάχιστον δύο τιμές PSA <4 ng/ml, παρατηρήθηκε ότι η PSAV συσχετίζεται ισχυρά με την παρουσία καρκίνου του προστάτη σε αυτούς τους ασθενείς και ήταν ένας σημαντικός ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας, ακόμα και προσαρμοσμένος με την ηλικία, τη φυλή, την ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού και την τιμή του ολικού PSA. Προσδιόρισαν δε την τιμή των 0,4 ng/ml ανά έτος, ως το χαμηλότερο όριο πέρα από το οποίο, αυξάνεται η πιθανότητα διάγνωσης καρκίνου σε αυτούς τους ασθενείς (193). Ανάλογα συμπεράσματα είχε η έρευνα των Moul και συνεργατών, η οποία έδειξε ότι η τιμή 0,4 ng/ml/έτος της PSAV ήταν καλύτερη σε άνδρες ηλικίας 50-59 ετών, συγκριτικά με την τιμή των 0,75 ng/ml/έτος για την διάκριση ασθενών με καρκίνο προστάτη (194).

Η προγνωστική αξία της PSAV αποτέλεσε σημείο ενδιαφέροντος για αρκετές μελέτες με σκοπό την ανίχνευση επιθετικών μορφών προστατικού καρκίνου, αλλά και την πρόγνωση μετά την εφαρμογή θεραπείας. Παρατηρήθηκε για παράδειγμα σε μελέτη ότι PSAV μεγαλύτερη από 0,35 ng/ml/έτος συσχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα βιοχημικής υποτροπής μετά από ριζική προστατεκτομή, ενώ με PSAV 2 ng/ml/έτος υπάρχει επιπλέον μεγαλύτερη πιθανότητα εξωπροστατικής νόσου, θετικών χειρουργικών ορίων, χαμηλής διαφοροποίησης καρκίνου (Gleason 4/5) και μεγαλύτερου καρκινικού όγκου, όπως φάνηκε σε μελέτη ασθενών μετά από ριζική προστατεκτομή (195). Ακόμα τιμή PSAV μεγαλύτερη των 2 ng/ml/έτος το χρόνο πριν τη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη αυξάνει την ειδική για τον καρκίνο του προστάτη θνησιμότητα μετά από ακτινοθεραπεία ή ριζική προστατεκτομή. Υπήρξαν ωστόσο και κάποιες έρευνες που αμφισβήτησαν την προγνωστική σημασία της PSAV (196,197).

Το Αμερικανικό ογκολογικό δίκτυο National Comprehensive Cancer Network (NCCN), αναφέρει ότι μια PSAV $\geq 0,35$ ng/ml/έτος σε άνδρες με PSA < 4 ng/ml, είναι ύποπτη για την πιθανή παρουσία επιθετικού καρκίνου του προστάτη και το ενδεχόμενο διενέργειας βιοψίας θα πρέπει να διερευνάται. Σε άνδρες με τιμή PSA μεταξύ των 4 και 10 ng/ml, μια PSAV $\geq 0,75$ ng/ml/έτος, θεωρείται ύποπτη

για καρκίνο του προστάτη, ενώ σε άνδρες με τιμή PSA μεγαλύτερη των 10 ng/ml, η PSAV δεν πρέπει να χρησιμοποιείται. Ο υπολογισμός δε της PSAV θα πρέπει να γίνεται με τουλάχιστον 3 διαδοχικές μετρήσεις PSA σε χρονικό διάστημα 18-24 μηνών.

Παρόμοια δεδομένα παρουσιάζει και η Αμερικάνικη Ουρολογική Εταιρεία (AUA) αναφέροντας επίσης ότι απαιτούνται 3 διαδοχικές μετρήσεις PSA με την ίδια μέθοδο σε χρονικό διάστημα 18-24 μηνών για το σωστό υπολογισμό της PSAV. Η Ευρωπαϊκή Ουρολογική Εταιρεία (EAU) στις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες αναφέρει ότι με τα μέχρι σήμερα γνωστά δεδομένα, η κινητική του PSA, PSADT και PSAV, έχουν πιθανώς προγνωστική αξία κατά την εφαρμογή θεραπείας του καρκίνου προστάτη, αλλά αντιθέτως έχουν περιορισμένη διαγνωστική αξία και δεν προσφέρουν περισσότερες πληροφορίες για την διάγνωση από την απλή μέτρηση του PSA στον ορό (9)

Προσαρμοσμένο στην ηλικία PSA

Σε μια προσπάθεια βελτίωσης της ειδικότητας του PSA, αρκετοί ερευνητές πρότειναν συγκεκριμένα όρια τιμών PSA προσαρμοσμένα κατά ηλικία για την διενέργεια βιοψίας με στόχο την ανίχνευση κλινικά σημαντικών καρκίνων σε πρωιμότερο στάδιο και την αποφυγή υπερδιάγνωσης σε μεγαλύτερους ηλικιακά άνδρες. Προτάθηκε έτσι η αντικατάσταση του ορίου των 4 ng/ml ως ενιαία τιμή για την διενέργεια βιοψίας με φυσιολογικές τιμές PSA ανάλογα με την ηλικία του ασθενούς. Το 1993 οι Oesterling και συνεγάτες (198) πρότειναν τα όρια PSA ανά ηλικία, όπως παρουσιάζονται στον παρακάτω Πίνακα 15, ενώ υπήρξαν και άλλες μεταγενέστερες μελέτες με παρόμοια αποτελέσματα (9). Στην πορεία εμφανίστηκαν όμως και άλλες έρευνες με αντικρουόμενα συμπεράσματα σχετικά με την χρησιμότητα των προσαρμοσμένων στην ηλικία ορίων της τιμής του PSA στην καθημερινή κλινική πράξη. Τα προσαρμοσμένα για την ηλικία όρια των τιμών του PSA μπορεί να οδηγήσουν σε διενέργεια έως 45% περισσότερων βιοψιών σε νεότερους άνδρες (<60 ετών), με αύξηση κατά 8 - 15% των διαγιγνωσκόμενων καρκίνων του προστάτη, από την άλλη όμως σε αποφυγή περιττών βιοψιών κατά 21 - 44% σε άνδρες μεγαλύτερης ηλικίας (>70 ετών) με κόστος πιθανώς την μη έγκαιρη διάγνωση 4-47% εντοπισμένων

καρκίνων. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και σε άλλες μεταγενέστερες μελέτες με μικρές διαφορές μεταξύ των ανώτερων τιμών ανά ηλικιακή δεκαετία, σε σχέση με τη μελέτη των Oesterling και συνεργατών (198).

Πίνακας 15.

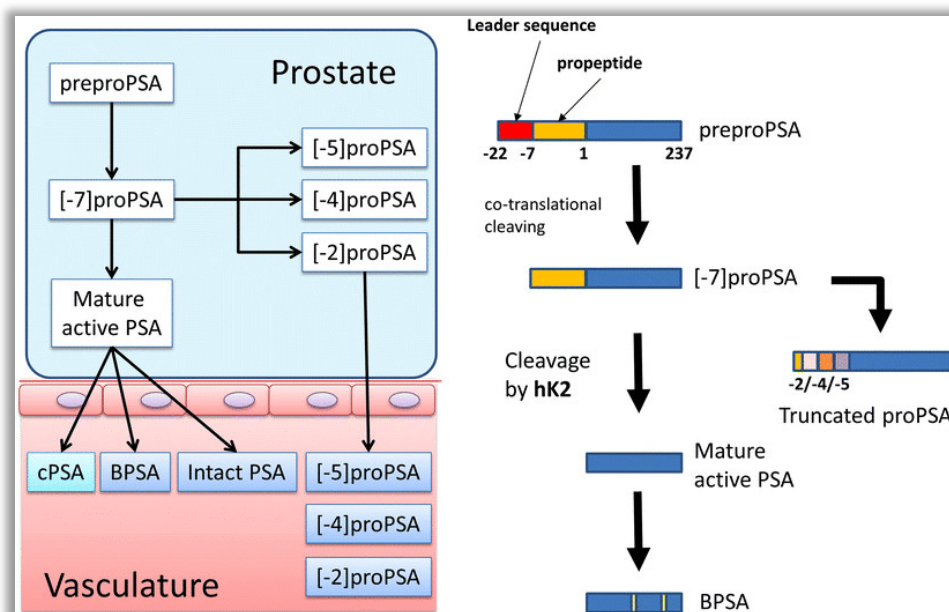
Ηλικία (έτη)	Φυσιολογικά όρια PSA (ng/ml)
40 – 49	0,0 – 2,5
50 – 59	0,0 – 3,5
60 – 69	0,0 – 4,5
70 – 79	0,0 – 6,5

Πίνακας 15: PSA ανα ηλικία (198)

Λόγος ελεύθερου / ολικό PSA (ratio free/total PSA, %fPSA)

Ισομορφές του PSA

Με την έκφραση του γονιδίου *hKLK3* παράγεται η πρόδρομη μορφή του PSA (pre-proPSA) και στην συνέχεια το επταπεπτίδιο (-7)proPSA. Το επταπεπτίδιο στο αρχικό αμινικό άκρο εμποδίζει το ενεργό κέντρο του ενζύμου. Το προπεπτίδιο αφαιρείται σταδιακά με την δράση της καλλικρεΐνης-2 ώστε να σχηματιστεί τελικά η ενεργή η μορφή του PSA. Το -2proPSA δεν μπορεί να μετατραπεί σε ενεργό PSA οπότε και συσσωρεύεται μετρούμενο ως κλάσμα του ελεύθερου PSA (free PSA). Εικόνα12



Εικόνα 12:: Πορεία σχηματισμού του ενεργού PSA και των ισομορφών του

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω το PSA «διαφεύγει» από τον προστάτη στην αιματική κυκλοφορία και αρχικά βρίσκεται στην ελεύθερη ή ενεργή μορφή του. Αμέσως μετά την απελευθέρωσή του στον ορό, το PSA δεσμεύεται από πρωτεϊνικούς αναστολείς πρωτεασών, την α1-αντιχυμοθρυψίνη (PSA-ACT), την α2-μακροσφαιρίνη (PSA-A2M) και σε πολύ μικρότερο ποσοστό από τον α1-αναστολέα πρωτεάσης (PSA-API). Αυτές οι δεσμευμένες μορφές PSA είναι σταθερά συμπλέγματα και είναι γνωστές συνολικά ως complexed PSA (cPSA). Έτσι μόνο το 5-35% του PSA παραμένει ελεύθερο ή ενεργό μισή ώρα μετά την είσοδό του στην κυκλοφορία και ανιχνεύεται ως η ελεύθερη μορφή (free PSA) (199,200). Η κύρια δεσμευμένη μορφή PSA είναι η PSA-ACT, η οποία αποτελεί πρακτικά σχεδόν μέχρι και το 95% του ολικού κυκλοφορούντος PSA στον ορό και είναι αυτή που κυρίως μετράται στην καθημερινή κλινική πρακτική. Οι άλλες δύο μορφές cPSA, η PSA-A2M και PSA-API δεν μπορούν να μετρηθούν με τις κοινές ανοσοχημικές μεθόδους. Η εμπορικά διαθέσιμη δοκιμασία Bayer complexed PSA assay ανιχνεύει το σύμπλεγμα PSA-ACT και PSA-API και αρχικά προτάθηκε ως εναλλακτική στην μέτρηση ολικού και ελεύθερου PSA. Ωστόσο αποδείχθηκε τελικά ότι μόνο το κλάσμα complex προς ολικό PSA είχε συγκρίσιμα αποτελέσματα με το κλάσμα ελεύθερο προς ολικό PSA. (199,200). Στην προσπάθεια διαφοροδιάγνωσης μεταξύ καρκίνου και καλοήθους υπερπλασίας προστάτη, οι μορφές PSA και η αναλογία τους στον ορό

αποτελέσσε θέμα έρευνας πολλών μελετών. Ήδη από τις αρχές της δεκαετίας '90 αλλά και αρκετές μελέτες μεταγενέστερα έδειξαν, ότι η PSA-ACT αποτελεί την κυρίαρχη μορφή PSA στον ορό, ενώ το ελεύθερο PSA αποτελούσε ένα μικρό μόνο κλάσμα του συνολικού PSA. Επιπλέον το ποσοστό του ελεύθερου PSA ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη συγκριτικά με ασθενείς με καλοήγη υπερπλασία προστάτη ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης του ολικού PSA (201) Έτσι η αναλογία του ελεύθερου σε σχέση με το ολικό PSA προστέθηκε στην προσπάθεια αύξησης της ευαισθησίας του PSA και προτάθηκε έτσι ως ένα ακόμα διαγνωστικό εργαλείο στην διάκριση ασθενών με πιθανό καρκίνο προστάτη και την επιλογή τους για την διενέργεια βιοψίας. Από τις μέχρι τώρα μελέτες δεν προκύπτει ομοφωνία και ακριβής καθορισμός για τα φυσιολογικά όρια ελεύθερου PSA.

Σήμερα γίνεται ευρέως αποδεκτό ότι ελεύθερο PSA < 12 ng/ml είναι ύποπτο για κακοήθεια, ενώ τιμή >20 ng/ml σχετίζεται πιθανώς περισσότερο με καλοήγη νόσο.

Αποτελέσματα μελετών ανέδειξαν καρκίνο μετά από βιοψία σε ποσοστό 56% ασθενών με PSA μεταξύ 4-10 ng/ml και λόγο ελεύθερο/ολικό PSA < 0.10, ενώ αντίθετα καρκίνος βρέθηκε μόνο στο 8% ασθενών με PSA πάλι μεταξύ 4-10 ng/ml αλλά ελεύθερο / ολικό PSA > 0.25 ng/ml (202).

Ωστόσο, όπως άλλωστε αναφέρουν και οι κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας, ο λόγος ελεύθερο/ολικό PSA πρέπει να χρησιμοποιείται με επιφύλαξη καθώς η μέτρησή του μπορεί να επηρεαστεί σε σημαντικό βαθμό από ποικίλους προ-αναλυτικούς και κλινικούς παράγοντες, όπως η αστάθεια του ελεύθερου PSA στην θερμοκρασία δωματίου 4°C, διάφορες τεχνικές παραμέτρους κατά την μέτρηση, καθώς και συνοδό καλοήγη υπερπλασία σε μεγάλου μεγέθους προστάτες (9).

Στην σημερινή εποχή με πολλούς νέους ανερχόμενους μοριακούς δείκτες στον ορό, η κλινική αξία του κλάσματος ελεύθερο / ολικό PSA τείνει να θεωρείται τουλάχιστον περιορισμένη.

Ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζει τα τελευταία χρόνια η έρευνα σχετικά με το ελεύθερο PSA και τις επιμέρους ισομορφές του.

Το ελεύθερο PSA στον ορό αποτελείται από 3 μοριακές μορφές, το proPSA με τις διάφορες υποκατηγορίες του (-7proPSA, -5proPSA, -4proPSA, -2proPSA και -1proPSA), το «Benign» PSA (BPSA) που βρέθηκε αρχικά σε ασθενείς με

καλοήγη υπερπλασία, και τέλος το ανέπαφο ανενεργό ή «intact» PSA (fPSA-I). Το proPSA και κυρίως οι μορφές του -4 και -2 είναι οι κυρίαρχες σε ασθενείς με καρκίνο και PSA > 20ng/ml (203). Το proPSA βρίσκεται σημαντικά αυξημένο σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη συγκριτικά με ασθενείς που έχουν καλοήγη νόσο(202,203). Το ερευνητικό ενδιαφέρον εστιάζεται κυρίως στο (-2) proPSA, την πρόδρομη ισομορφή του proPSA που περιλαμβάνει μόνο δυο αμινοξέα στην αρχική ακολουθία. Το (-2) proPSA διαπιστώθηκε ότι αποτελεί το 25-95% του ελεύθερου PSA στον ορό ασθενών με επιβεβαιωμένο καρκίνο του προστάτη, σε αντίθεση με μόνο το 6-19% αυτού σε άνδρες με αρνητική βιοψία για καρκίνο του προστάτη. Η υψηλότερη συγκέντρωση του (-2)proPSA στους ασθενείς με καρκίνο προστάτη σε σχέση με αυτούς χωρίς κακοήθεια παρατηρείται ακόμα και σε ασθενείς με τιμές PSA από 2-10 ng/ml, αλλά και σε ασθενείς με %fPSA > 25% (202,203). Ο υπολογισμός του ποσοστού του (-2)proPSA επί του συνολικού ελεύθερου PSA [%(-2)proPSA], βελτιώνει τη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη, συγκρινόμενο με το ολικό PSA, άλλα και το κλάσμα ελεύθερου/ολικό PSA (%fPSA) (204,205).

Το λεγόμενο «καλόηθες» ή «Benign» PSA (BPSA) είναι απενεργοποιημένο από την επίδραση πρωτεολυτικών ενζύμων. Η μορφή αυτή δεν αντιδρά με την ACT και ίσως αυτή είναι η αιτία που το κλάσμα του ελεύθερου PSA είναι αυξημένο στην καλοήγη υπερπλασία προστάτη.

Το fPSA-I είναι επίσης απενεργοποιημένη μορφή. Παρά το γεγονός ότι το fPSA-I δεν διαφέρει σημαντικά σε ασθενείς με καρκίνο και καλοήγη νόσο, το κλάσμα fPSA-I/ fPSA είναι αρκετά υψηλότερο σε ασθενείς με καρκίνο. Ο ρόλος των επιμέρους κλασμάτων του ελεύθερου PSA δεν έχει ακόμα πλήρως διευκρινιστεί και έτσι τουλάχιστον έως σήμερα, δεν έχουν πρακτικά ευρεία εφαρμογή στην καθημερινή κλινική πράξη (202-205).

Δείκτης PHI

Τα τελευταία χρόνια αναπτύχθηκε από την Beckman Coulter σε συνεργασία με το Αμερικανικό δίκτυο NCI (Early Detection Research Network) ο δείκτης Prostate Health Index (PHI), ο οποίος προκύπτει από τον υπολογισμό της τιμής του ολικού PSA, του ελεύθερου PSA και του (-2)proPSA με τον ακόλουθο μαθηματικό τύπο : $PHI = [(-2)proPSA/freePSA] \times \sqrt{PSA}$.

Η ανακάλυψη του δείκτη PHI έγινε στην προσπάθεια να βελτιωθεί η διαγνωστική ευαισθησία για την κακοήθεια από άλλες καλοήθεις παθήσεις του προστάτη σε άνδρες ηλικίας 50 ετών και άνω με ολικό PSA ορού 4–10 ng/mL, έτσι ώστε τελικά να περιοριστεί ο αριθμός των μη απαραίτητων βιοψιών (206). Σύμφωνα με αρκετές μελέτες ο δείκτης PHI έχει βρεθεί αυξημένος σε ασθενείς με προστατικό καρκίνο, συγκριτικά με άνδρες μόνο με καλοήθεις παθήσεις του προστάτη. Φαίνεται ότι ο PHI βελτιώνει τα ποσοστά διάγνωσης υψηλής επιθετικότητας καρκίνων προστάτη συγκρινόμενος με το ολικό και το ποσοστό του ελεύθερου PSA (206,207). Ο δείκτης διπλασιάζει την ευαισθησία για την διάγνωση του προστατικού καρκίνου σε άνδρες με PSA 2-10 ng/ml και συσχετίζεται με τον βαθμό κακοήθειάς του (Grade) . Το PHI έχει μια περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under curve) 0.72 για την διάκριση υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνου από αντίστοιχο χαμηλής κακοήθειας ή με αρνητική βιοψία (208). Η τιμή 24 ως όριο για τον δείκτη PHI φαίνεται να μειώνει κατά 36% το ποσοστό των μη απαραίτητων βιοψιών, αλλά αδυνατεί να διαγνώσει 2.5% υψηλής κακοήθειας καρκίνους (208). Το 2012 η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (US Food and Drug Administration, FDA) ενέκρινε την κλινική εφαρμογή των δεικτών PHI και (-2) proPSA για τον καρκίνο του προστάτη. Η αποδοχή του δείκτη PHI διευρύνεται παγκοσμίως όλο και περισσότερο, έχοντας λάβει έγκριση σε περισσότερες από 50 χώρες. Ωστόσο μέχρι σήμερα δεν συστήνεται σαν εξέταση προσυμπτωματικού ελέγχου λόγω της έλλειψης ακόμα επαρκών δεδομένων. Χρειάζονται περισσότερες προοπτικές μελέτες και περισσότερα αποτελέσματα ώστε να μπορέσει να εδραιωθεί ο υπολογισμός του PHI ως διαγνωστική εξέταση στην καθημερινή κλινική πρακτική (206-208).

ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Διορθικό Υπερηχογράφημα

Το διορθικό υπερηχογράφημα είναι μια απεικονιστική μέθοδος με ευρεία χρήση στην καθημερινή ουρολογική πρακτική, γενικά για την απεικόνιση του προστάτη, για την διενέργεια βιοψίας προστάτη, αλλά και σε διάφορες εντοπισμένες θεραπευτικές μεθόδους του προστατικού καρκίνου. Ο καρκίνος του προστάτη στο διορθικό υπερηχογράφημα απεικονίζεται συνήθως ως υποηχογενής περιοχή (60% - 71,3%), μπορεί όμως να απεικονίζεται και ως ισοηχογενής (27,4% - 39%) αλλά και σπανιότερα ως υπερηχογενής αλλοίωση (1,3% - 7,6%) (209). Αυτή η απεικονιστική ποικιλομορφία του καρκίνου, σε συνδυασμό με την πολυεστιακότητά του, καθώς και την ικανότητα του χειριστή, έχουν ως αποτέλεσμα την μέτρια (50-60%) διαγνωστική ακρίβεια του διορθικού υπερήχου και την χαμηλή θετική προγνωστική αξία του (6%) (209). Στην προσπάθεια να αυξηθεί η διαγνωστική του ακρίβεια μελετήθηκαν νέες τεχνολογίες διορθικού υπερηχογραφήματος, όπως η ελαστογραφία, το έγχρωμο Doppler, το τρισδιάστατο έγχρωμο Doppler και το διορθικό υπερηχογράφημα μετά από ενδοφλέβια έγχυση σκιαγραφικής ουσίας για υπερήχους με τη μορφή μικροσκοπικών φυσαλίδων (209,210).

Αν και σε μελέτες οι νέες αυτές τεχνικές υπερηχογραφήματος εμφανίζονται να έχουν θετικά αποτελέσματα αυξάνοντας την ευαισθησία της εξέτασης σε σχέση με το απλό διορθικό υπερηχογράφημα, τα αποτελέσματα δεν είναι ακόμα επαρκή που να επιτρέπουν την χρήση τους στην καθημερινή κλινική διαγνωστική απεικόνιση του προστάτη. Επιπλέον η στοχευμένη με διορθικό υπερηχογράφημα βιοψία δεν μπορεί να ανατικαταστήσει την συστηματική βιοψία προστάτη (9).

Πολυπαραμετρική Μαγνητική Τομογραφία (mpMRI)

Η πολυπαραμετρική μαγνητική τομογραφία αποτελεί μια από τις νεότερες απεικονιστικές μεθόδους με θετικά αποτελέσματα σε πολλές μελέτες στην ανίχνευση εστιών προστατικού καρκίνου. Η κλινική σημασία της

πολυπαραμετρικής MRI, αλλά και η mpMRI-στοχευμένη βιοψία (“MRI pathway”) διερευνώνται τόσο στα πλαίσια της αρχικής βιοψίας (biopsy-naïve patients), όσο και για την απόφαση διενέργειας επαναληπτικής βιοψίας (repeat biopsy).

Σε πρόσφατη μεταανάλυση σύγκρισης της πολυπαραμετρικής MRI με την βιοψία προστάτη με οδηγό πλέγμα (>20 δείγματα) σε αρχική βιοψία και επαναληπτική βιοψία, η mpMRI είχε ευαισθησία 0.91 (95% CI: 0.83-0.95) και ειδικότητα 0.37 (95% CI: 0.29-0.46) για καρκίνους ISUP Grade >2 (211). Η πολυπαραμετρική MRI-κατευθυνόμενη βιοψία προστάτη βελτιώνει σημαντικά τα ποσοστά ανίχνευσης κλινικά σημαντικού καρκίνου βαθμού ISUP > 2. Το όφελός της στον εντοπισμό προστατικού καρκίνου είναι περισσότερο εμφανές στην επαναληπτική βιοψία προστάτη (repeat biopsy), έχοντας καλύτερα αποτελέσματα από την συστηματική βιοψία. Αντίθετα το όφελος της πολυπαραμετρικής MRI και της στοχευμένης με MRI βιοψίας είναι λιγότερο εμφανές κατά την αρχική βιοψία, όπου φαίνεται με τα σημερινά δεδομένα, ότι η συστηματική βιοψία έχει υψηλότερα ποσοστά ανίχνευσης τουλάχιστον για τους ISUP 2 βαθμού καρκίνους. Επιπλέον οι MRI-κατευθυνόμενες βιοψίες ανιχνεύουν λιγότερους ISUP 1 βαθμού καρκίνους από τις συστηματικές βιοψίες. Ο ρόλος της πολυπαραμετρικής MRI στην απεικόνιση του προστάτη και στην διενέργεια βιοψίας είναι ελπιδοφόρος, στην προσπάθεια να περιοριστεί ο αριθμός των βιοψιών, να περιοριστεί η διάγνωση μη κλινικά σημαντικών καρκίνων προστάτη, διατηρώντας όμως παράλληλα ή ακόμα και βελτιώνοντας τα ποσοστά ανίχνευσης κλινικά σημαντικών προστατικών καρκίνων, σε σύγκριση με την συστηματική βιοψία. Οι περιορισμοί της πολυπαραμετρικής MRI σχετίζονται κυρίως με τις τεχνικές μεθόδους λήψης των δειγμάτων της βιοψίας, τον ελάχιστο αναγκαίο αριθμό των δειγμάτων, καθώς και με την ανομοιογένεια που διακρίνει την ταξινόμηση των βλαβών που αναγνωρίζονται από τον χειριστή. Για να μπορέσουν οι περιορισμοί αυτοί να ξεπεραστούν χρειάζεται να υπάρξει ομογενοποίηση και τυποποίηση (standardization) τόσο της διάγνωσης και ταξινόμησης των βλαβών που ανιχνεύονται στον προστάτη, όσο όμως και του τρόπου διενέργειας της MRI-κατευθυνόμενης βιοψίας, όπως για παράδειγμα της θέσης και του ελάχιστου πιθανού αριθμού δειγμάτων που πρέπει να ληφθούν, σε σχέση ενδεχομένως με τον συνολικό όγκο του προστάτη. Η πολυπαραμετρική MRI και η χρήση της

στην MRI-κατευθυνόμενη βιοψία προστάτη με τα οφέλη που έχουν έως τώρα προκύψει, έχουν μέχρι τώρα αξιολογηθεί κυρίως σε ασθενείς με σχετικά ισχυρή υποψία κακοήθειας στους οποίους η βιοψία ήταν αναγκαία. Σύμφωνα με τα σημερινά τουλάχιστον δεδομένα η πολυπαραμετρική MRI δεν συστήνεται ως εξέταση προσυμπτωματικού ελέγχου ή σε άνδρες που δεν έχουν ένδειξη να υποβληθούν σε βιοψία προστάτη. Εξαιτίας της χαμηλής ειδικότητας της εξέτασης για τους χαμηλού κινδύνου ασθενείς, η πολυπαραμετρική MRI θα αυξήσει τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα, με συνέπεια την διενέργεια μη αναγκαίων βιοψιών για μη κλινικά σημαντικούς όγκους προστάτη (9,211).

Επαναληπτική βιοψία προστάτη

Οι ενδείξεις για την διενέργεια επαναληπτικής βιοψίας, μετά από μια αρχική αρνητική βιοψία προστάτη όπως αυτές παρουσιάζονται και στις κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας (9), συνοπτικά είναι οι ακόλουθες:

- αυξανόμενη τιμή και/ή συνεχής αύξηση τιμής PSA (Πίνακας 13, για τον σχετικό κίνδυνο),
- παθολογικό εύρημα στην δακτυλική εξέταση, 5-30% κίνδυνος για καρκίνο προστάτη,
- άτυπη υπερπλασία μικρών αδενίων (ASAP), 31-40% κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου προστάτη στην επαναληπτική βιοψία,
- πολυεστιακή (> 3 εστίες) HGPIN, ~30% κίνδυνος ανίχνευσης καρκίνου προστάτη.

Σύμφωνα με τις νεότερες κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας, μεμονωμένη, μία ή δύο εστίες HGPIN δεν αποτελούν ένδειξη για επαναληπτική βιοψία (9)

- μικρά άτυπα αδένια ακριβώς δίπλα σε εστίες HGPIN (PINATYP), ~50% κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου προστάτη (9)
- ενδοπορικό καρκίνωμα, ως μοναδικό παθολογικό εύρημα, > 90% πιθανότητα να συνυπάρχει υψηλού βαθμού κακοήθειας αδenoκαρκίνωμα προστάτη (9)
- θετικά ή ύποπτα για κακοήθεια ευρήματα σε πολυπαραμετρική μαγνητική τομογραφία.

Η αναγνώριση ασθενών με αυξημένη τιμή PSA ή άλλη κλινική υποψία καρκίνου προστάτη που χρήζουν επαναληπτικής βιοψίας μετά από προηγούμενη αρνητική βιοψία αποτέλεσε και συνεχίζει να αποτελεί πρόκληση στην σύγχρονη διαγνωστική προσέγγιση του καρκίνου προστάτη. Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί διάφορες εξετάσεις οι οποίες συνήθως συμπληρωματικά με το PSA, εκτιμούν την πιθανότητα – κίνδυνο παρουσίας προστατικού καρκίνου, συμβάλλοντας στην λήψη της τελικής απόφασης για την επαναληπτική βιοψία. Αυτές οι εξετάσεις είναι οι νεότεροι δείκτες, κάποιοι από τους οποίους, αν και όχι ευρέως, χρησιμοποιούνται στην κλινική πρακτική.

ΝΕΟΤΕΡΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ

Νεότεροι βιοδείκτες πλάσματος

4Kscore panel

Το 4Kscore είναι πρακτικά ένας αλγόριθμος, ο οποίος περιλαμβάνει τον υπολογισμό 4 πρωτεϊνών του ορού: το ολικό PSA (total PSA), το ελεύθερο PSA (free PSA), το intact PSA (iPSA) και την ανθρώπινη καλλικρεΐνη 2 (hK2). Τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις των παραπάνω πρωτεϊνών συνδυάζονται σε έναν αλγόριθμο μαζί με την ηλικία του ασθενούς, τα αποτελέσματα της δακτυλικής εξέτασης και την προηγούμενη ή όχι βιοψία. Έτσι προκύπτει ένα αποτέλεσμα που αντιπροσωπεύει την ποσοστιαία πιθανότητα σε μια κλίμακα από το 1% έως 95%, ο ασθενής να έχει υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνου προστάτη. Αναδρομικές μελέτες ανέφεραν υψηλότερη προβλεπτική ικανότητα του 4kscore στην διάγνωση και μάλιστα υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνου προστάτη, σε σύγκριση με την μέτρηση PSA και την ηλικία (206, 212). Στην πρόσφατη μετα-ανάλυση από τους Zappala και συνεργάτες φάνηκε ότι η περιοχή κάτω από την καμπύλη του 4k score για τους υψηλής κακοήθειας καρκίνους προστάτη ήταν >0.80 σε όλους τους πληθυσμούς ασθενών, αποτέλεσμα που παρέμενε σταθερό σε όλες τις 11 υπό εξέταση μελέτες με συμμετοχή άνω των 10.000 ασθενών (212). Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε και άλλη προηγούμενη μετα-ανάλυση από τους Russo και συνεργάτες, από την

οποία φάνηκε ότι η αποτελεσματικότητα του 4Kscore ήταν καλύτερη σε υψηλής κακοήθειας καρκίνους με Gleason score ≥ 7 , με ευαισθησία 0.87, ειδικότητα 0.61 και διαγνωστική ακρίβεια 0.81 (213). Το Αμερικανικό Εθνικό Δίκτυο για τον καρκίνο (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) έχει συμπεριλάβει από το 2015 το 4kscore στις διαγνωστικές εξετάσεις που προτείνει στον προσυμπτωματικό έλεγχο για τον καρκίνο προστάτη. Ωστόσο δεν υπάρχουν έως σήμερα επαρκή δεδομένα και έτσι το 4kscore δεν συμπεριλαμβάνεται στις κατευθυντήριες οδηγίες, ούτε της Αμερικανικής Ουρολογικής Εταιρείας, αλλά ούτε και της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας, για την χρήση του στην καθημερινή κλινική πρακτική ή σε προγράμματα προσυμπτωματικού ελέγχου (screening) (206, 212, 213).

Νεότεροι βιοδείκτες ούρων

ProgenSA PCA3 assay

Το γονίδιο *PCA3* (*Prostate Cancer Gene 3*) βρίσκεται στην γονιδιακή θέση 9q21-22 και ανήκει στην ομάδα γονιδίων που εκφράζονται μόνο στο επίπεδο RNA. Είναι ένα ειδικό για τον προστάτη μη κωδικό mRNA (non coding RNA), το οποίο εκφράζεται ισχυρά σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη. Η έκφρασή του παρατηρείται μόνο στον προστάτη, ενώ σε καρκινικούς προστατικούς ιστούς υπάρχει υπερέκφραση του PCA3. Η έκφραση του PCA3 φαίνεται να συσχετίζεται με τον βαθμό κακοήθειας (Grade) του όγκου, χωρίς να επηρεάζεται από το μέγεθος του προστάτη (214,215). Η δοκιμασία PCA3 πρακτικά ανιχνεύει την συγκέντρωση μορίων του PCA3 mRNA και μορίων του PSA mRNA στα ούρα. Το PCA3 σκόρ υπολογίζεται ως ο λόγος των μορίων PCA3 mRNA προς τα μόρια PSA mRNA σε δείγμα ούρων μετά από δακτυλική μάλαξη του προστάτη. Ένα PCA3 σκόρ μικρότερο από την τιμή 25 πιθανολογεί την ύπαρξη χαμηλής κακοήθειας καρκίνου προστάτη (206). Η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (US Food and Drug Administration, FDA) έχει εγκρίνει την δοκιμασία “ProgenSA PCA3” από το 2012 για κλινική χρήση, με σκοπό εντοπισμό ασθενών προς επαναληπτική βιοψία μετά από προηγούμενη αρνητική βιοψία προστάτη.

Μια μετα-ανάλυση από 11 κλινικές μελέτες (206,214) ανέφερε ευαισθησία της μεθόδου μεταξύ 53-69%, ενώ η ειδικότητά της κυμαινόταν μεταξύ 71-83%. (214).

Μια πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση υπολογίζει την ευαισθησία και ειδικότητα σε 72% και 53% αντίστοιχα, με όριο (cut-off) του PCA3 την τιμή 20 (214).

Τα παραπάνω δεδομένα δείχνουν ότι ο υπολογισμός του PCA3 έχει ενδεχομένως μεγαλύτερη διαγνωστική ακρίβεια σε σύγκριση με άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την πρώιμη διάγνωση του προστατικού καρκίνου (214,215) και η κλινική του αξία έγκειται στην λήψη αποφάσεων για την διενέργεια επαναληπτικής βιοψίας σε άνδρες με αυξημένο PSA και προηγηθείσα αρνητική πρώτη βιοψία και επομένως στον περιορισμό των μη αναγκαίων βιοψιών (216). Ωστόσο με τα μέχρι τώρα αποτελέσματα το PCA3 συγκριτικά με το PSA δεν προσφέρει περισσότερες πληροφορίες για το βαθμό κακοήθειας της νόσου Gleason score (216). Επιπλέον μελέτες σύγκρισης του δείκτη PHI με το PCA3 δείχνουν ότι ο δείκτης PHI έχει υψηλότερη προγνωστική ακρίβεια στην διάγνωση κλινικά σημαντικού καρκίνου κατά την αρχική βιοψία και επομένως μάλλον αποτελεί καταλληλότερη εξέταση για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του πληθυσμού (213, 216).

Η Αμερικανική Ουρολογική Εταιρεία αλλά και οι κατευθυντήριες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ουρολογικής Εταιρείας αναφέρουν την δοκιμασία του “Progenssa PCA 3” ως ένα χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο και συστήνουν την συνεκτίμησή του στην απόφαση για την διενέργεια επαναληπτικής βιοψίας.

TMPRSS2-ERG fusion gene

Η δημιουργία γονιδίων σύντηξης είναι συχνό φαινόμενο στον καρκίνο προστάτη και το συχνότερο από αυτά είναι το χιμαιρικό γονίδιο TMPRSS2-ERG. Το συγκεκριμένο γονίδιο σύντηξης υπερεκφράζεται στον καρκίνο προστάτη, έχει συσχετιστεί με υποτροπή της νόσου μετά την ριζική προστατεκτομή, ενώ η υπερέκφρασή του αποτελεί έναν ισχυρό θεραπευτικό στόχο εξαιτίας της ειδικότητάς του στον καρκίνο προστάτη, αλλά και της υπερέκφρασής του σε διάφορα στάδια ανάπτυξης του καρκίνου (216).

Έρευνες έχουν δείξει ότι το mRNA του TMPRSS2-ERG ανιχνεύεται στα ούρα ασθενών με καρκίνο προστάτη μετά από προστατική μάλαξη με ποσοστό ειδικότητας >90% για τον καρκίνο (217, 218). Η ανίχνευση του TMPRSS2-ERG

στα ούρα χρησιμοποιήθηκε επικουρικά σε συνδυασμό με τα ευρήματα του PCA3 επίσης στα ούρα, με αποτέλεσμα την βελτίωση της ευαισθησίας του PCA3 από 62% σε 73%, ενώ συνέβαλε και στην καλύτερη πρόβλεψη των όγκων με υψηλότερο Gleason score (217, 218). Το TMPRSS2-ERG score υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο: (TMPRSS2-ERG mRNA / PSA RNA copies) x 100,000. Ο υπολογισμός του TMPRSS2-ERGscore πριν την διενέργεια βιοψίας συνυπολογίζει τις μετρήσεις των TMPRSS2-ERG mRNA και PSA mRNA στα ούρα και όπως φαίνεται συσχετίζεται με το μέγεθος του όγκου και τον βαθμό κακοήθειας (Grade) στην βιοψία. Πρόσφατη πολυκεντρική προοπτική μελέτη αναφέρει ότι η τιμή του TMPRSS2-ERG mRNA στα ούρα πριν την διενέργεια βιοψίας αυξάνει την προγνωστική αξία του PCA3 και του ERSPC υπολογιστή κινδύνου εμφάνισης προστατικού καρκίνου τόσο για την διάγνωση όσο και την πρόβλεψη του Gleason score και του κλινικού σταδίου του καρκίνου (219). Επίσης πρόσφατη μετα-ανάλυση αναφέρει ότι η υπερέκφραση του TMPRSS2-ERG συσχετίζεται με το στάδιο του όγκου αλλά δεν σχετίζεται με την βιοχημική υποτροπή ή την θνητότητα της νόσου μετά από ριζική προστατεκτομή (206,216-219).

MiPS (Mi Prostate Score Urine test)

Το MiPS score αναπτύχθηκε από το πανεπιστήμιο του Michigan των ΗΠΑ και αποτελεί πρακτικά έναν υπολογιστή κινδύνου ανίχνευσης προστατικού καρκίνου σε βιοψία, συνδυάζοντας τα ευρήματα των TMPRSS2-ERG και PCA3 στα ούρα καθώς και του PSA ορού. Το MiPSscore επίσης υπολογίζει και την πιθανότητα υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνου.

Οι τιμές του MiPSscore υπολογίζονται ως ποσοστό από 0 έως 100%.

Σε πρόσφατη εξέταση αξιολόγησης του MiPSscore σε 1225 ασθενείς (217) βρέθηκε ότι το MPS score ήταν ανώτερο από το PSA ορού μόνο του, στην πρόβλεψη για την ανίχνευσης καρκίνου σε βιοψία προστάτη. Ωστόσο απαιτούνται και άλλες μελέτες με περισσότερα αποτελέσματα και μέχρι σήμερα το MPS score δεν έχει εγκριθεί από την FDA των ΗΠΑ (217).

Engrailed-2 (EN2)

Το γονίδιο *Engrailed-2 (EN-2)* της οικογένειας HOX (Homeobox) εκφράζεται αποκλειστικά στον καρκινικό προστατικό ιστό (220) και ανιχνεύεται στα ούρα

με αναφερόμενη ευαισθησία 66% και ειδικότητα 88%, ενώ τα επίπεδα ανίχνευσής του σχετίζονται με τον όγκο και το στάδιο του καρκίνου (220)

Annexin A3 (ANXA3)

Η Annexin A3 είναι μια πρωτεΐνη που δεσμεύει ασβέστιο και ανιχνεύεται στα ούρα ασθενών με καρκίνο προστάτη μετά από προστατική μάλαξη. Ορισμένες μελέτες δείχνουν ότι η ανίχνευση της Annexin στα ούρα ασθενών με PSA 2-10 ng/ml σε συνδυασμό με την τιμή PSA ορού θα μπορούσε να συμβάλει στην διάκριση ασθενών με πιθανή κακοήθεια και να περιορίσει των αριθμό των μη αναγκαίων βιοψιών (221). Τα δεδομένα των ερευνών σχετικά με την ANXA3 είναι ακόμα περιορισμένα και επομένως απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να αποδειχθεί η χρησιμότητα της ANXA3 για την καθημερινή κλινική πράξη (221).

Sarcosine

Η σαρκοσίνη (sarcosine) αποτελεί ένα N-μεθυλιωμένο παράγωγο της γλυκίνης και αποτελεί ένα φυσικό αμινοξύ που βρίσκεται στους μυς καθώς και σε άλλους ιστούς και φαίνεται πως συντελεί στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του προστάτη (222).

Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα ανίχνευσης σαρκοσίνης στα ούρα ασθενών αυξάνονταν κατά την εξέλιξη του προστατικού καρκίνου σε μεταστατικό. Παρατηρήθηκε επίσης αυξημένη σαρκοσίνη σε σειρές καρκινικών προστατικών κυττάρων ενώ σε παραπλήσιο προστατικό ιστό τα επίπεδά της ήταν σχεδόν μηδενικά. Παρά τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών, απαιτούνται περισσότερες μελέτες ώστε να αποδειχθεί η κλινική αξία και η ενδεχόμενη χρήση της ως δείκτη στον καρκίνο προστάτη (222).

Select MDX test

Το **Select MDX test** είναι μια εξέταση ανάστροφης τρανσκριπτάσης RT-PCR κατά την οποία προσδιορίζεται το mRNA των HOXC6 και DLX1 στα ούρα ασθενών μετά από προστατική μάλαξη. Η παρουσία mRNA των HOXC6 και DLX1 συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου προστάτη (223).

Oncotype DX test

Το Oncotype DX® Test (Genomic Health, CA, USA) είναι μια γονιδιωματική εξέταση, η οποία προσδιορίζει την έκφραση 12 γονιδίων σε δείγματα προστατικού ιστού μετά από βιοψία και τα οποία σχετίζονται με τον καρκίνο προστάτη και αντιπροσωπεύουν 4 διακριτές λειτουργίες: την σηματοδότηση των ανδρογόνων (*AZGP1*, *KLK2*, *SRD5A2*, *RAM13C*), τον πολλαπλασιασμό (*TPX2*), την οργάνωση του κυτταροσκελετού (*FLNC*, *GSN*, *TPM2*, *GSTM2*) και την στρωματική αντίδραση (*BGN*, *COL1A1*, *FRP4*). Τα επίπεδα έκφρασης των παραπάνω γονιδίων συνδυάζονται λογαριθμικά και έτσι υπολογίζεται το λεγόμενο «γενωμικό σκόρ προστάτη» (Genomic Prostate Score, GPS). Όπως φαίνεται από αρκετές μελέτες το Oncotype DX Test συμβάλει στην αξιολόγηση του κινδύνου να εμφανίσει ο ασθενής κλινικά σημαντικό καρκίνο προστάτη, αποτελώντας πρακτικά ένα εργαλείο στην λήψη αποφάσεων σχετικά με την περαιτέρω θεραπεία του ασθενούς (224).

Τα αρχικά αποτελέσματα των ερευνών που συνοδεύουν το Oncotype DX Test είναι ενθαρρυντικά και έτσι από το 2015 το Αμερικανικό δίκτυο για τον καρκίνο National Comprehensive Cancer Network (NCCN) το έχει συμπεριλάβει ως ενδεχόμενη εξέταση στις οδηγίες και τις συστάσεις του για την διαγνωστική προσέγγιση του ασθενούς με καρκίνο προστάτη. Αναφέρεται ωστόσο ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες και αποτελέσματα ώστε να υπάρξουν σαφή συμπεράσματα για την δυνατότητα ευρείας κλινικής εφαρμογής του (225).

Prolaris test

Το Prolaris test είναι μια γονιδιωματική εξέταση η οποία προσδιορίζει σε δείγματα προστατικού ιστού μετά από βιοψία, την έκφραση 46 γονιδίων και χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το Gleason score και την τιμή του PSA ορού. Με το συγκεκριμένο τεστ στόχος είναι η εκτίμηση της πιθανότητας προόδου του προστατικού καρκίνου. Χαμηλή έκφραση των υπό εξέταση γονιδίων συνδέεται με χαμηλό κίνδυνο εξέλιξης του καρκίνου, ενώ αντίθετα ισχυρή έκφραση των γονιδίων φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εξέλιξης του καρκίνου προστάτη (226). Το ProlarisTest συμπεριλαμβάνεται επίσης στις οδηγίες του

Αμερικανικού δικτύου για τον καρκίνο NCCN ως εγκεκριμένη εξέταση στην εκτίμηση του κινδύνου για την πρόοδο της νόσου σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη (225,226).

Decipher genomic classifier (Decipher GC)

Το Decipher® (GenomeDX Biosciences, BC, Canada) είναι γονιδιωματική εξέταση της έκφρασης 22 γονιδίων σε χειρουργικά παρασκευάσματα προστατικού καρκίνου μετά από ριζική προστατεκτομή. Το Decipher GC χρησιμοποιείται με στόχο την πρόβλεψη για την πιθανότητα εμφάνισης μεταστάσεων μετά από ριζική προστατεκτομή. Στην μελέτη κλινικής αξιολόγησης του Decipher GC, η συγκεκριμένη εξέταση είχε μεγαλύτερη ικανότητα πρόβλεψης μετάστασης μετά από την ριζική προστατεκτομή σε σύγκριση με άλλες παραμέτρους, υπολογίζοντας την περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC) σε 0.79 στην πρόγνωση κινδύνου εμφάνισης μετάστασης εντός πενταετίας από την ριζική προστατεκτομή (227). Η προγνωστική ικανότητα του Decipher GC είναι ελπιδοφόρα όσον αφορά την δυνατότητα ανίχνευσης ασθενών με υψηλό κίνδυνο να εμφανίσουν υποτροπή και εμφάνιση μεταστάσεων μετά από ριζική προστατεκτομή συμβάλλοντας σημαντικά στην λήψη αποφάσεων για την περαιτέρω αντιμετώπισή τους. Τα γονίδια που εξετάζονται καθώς και ο μαθηματικός τύπος που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του Decipher GC σκόρ δεν αναφέρονται στην βιβλιογραφία μέχρι σήμερα (206).

ProMark

Το ProMark είναι μια εξέταση που αναλύει την έκφραση 8 πρωτεϊνικών βιοδεικτών σε δείγματα προστατικού ιστού μετά από βιοψία, με σκοπό την πρόγνωση της επιθετικότητας του καρκίνου, ιδιαίτερα σε ασθενείς με Gleason score 3+3 ή 3+4. Κατά την συγκεκριμένη εξέταση, στα δείγματα προστατικού ιστού ανιχνεύονται με ανοσοϊστοχημική μέθοδο και υπολογίζονται τα επίπεδα των 8 πρωτεϊνών (DERL1, CUL2, SMAD4, PDSS2, HSPA9, FUS, φωσφορυλιωμένη S6, και YBOX1). Τα επίπεδα αυτά στην συνέχεια συνδυάζονται και προκύπτει ένας βαθμός που αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της επιθετικότητας του προστατικού καρκίνου (206), συμβάλλοντας στην διάκριση ασθενών που είναι υποψήφιοι για ενεργό

παρακολούθηση από αυτούς που χρειάζονται άμεση θεραπευτική παρέμβαση. (206).

Ποικίλες νεότερες εξετάσεις ελέγχου και δοκιμασίες βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό στάδιο με ελπιδοφόρα αποτελέσματα, με σκοπό να ανιχνεύσουν κλινικά σημαντικούς καρκίνους προστάτη, συμβάλλοντας στην αξιολόγηση ασθενών που χρήζουν περαιτέρω διαγνωστικού ελέγχου και θεραπείας. Ενδεικτικά αναφέρονται:

Η δοκιμασία ελέγχου εξωσωμίων στα ούρα (**ExoDx Prostate IntelliScore** urine exosome assay) ασθενών με καρκίνο προστάτη. Τα εξωσώμια (exosomes) είναι μικρά εξωκυττάρια κυστίδια ή φυσαλίδες που εκκρίνονται από τα καρκινικά κύτταρα.

Η υπερέκφραση του γονιδίου SChLAP1, το οποίο κωδικοποιεί μακρύ μη κωδικό RNA, (**lncRNA SChLAP1**) φαίνεται να συνδέεται με την παρουσία καρκίνου προστάτη και ενδέχεται να αποτελεί ένα νέο βιοδείκτη με προγνωστική αξία στην ανίχνευση επιθετικών μορφών προστατικού καρκίνου.

Επίσης microRNA (**miRNA**) μεταγραφήματα έχουν δείξει ελπιδοφόρα αποτελέσματα στην ανίχνευση προχωρημένου προστατικού καρκίνου και στην δημιουργία μεταστάσεων (64,35).

IIα. ΚΙΣΠΕΠΤΙΝΗ (KISS1) - ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ GPR54 (KISS1R)

IIα. ΚΙΣΠΕΠΤΙΝΗ (KISS1) - GPR54 (KISS1R) - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Κισπεπτίνη - Εισαγωγή

Οι κισπεπτίνες (kisspeptins) είναι πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια των κισπεπτινών, αποτελούν προϊόντα του γονιδίου *KISS1* και ασκούν την δράση τους μέσω της σύνδεσής τους με τον υποδοχέα GPR5 ή αλλιώς *KISS1R*.

Σύμφωνα και με την επίσημη βάση δεδομένων ονοματολογίας ανθρώπινων γονιδίων (HUGO, Human Genome Organization Gene Nomenclature Committee HGNC) το ανθρώπινο γονίδιο καλείται *KISS1*, ενώ το αντίστοιχο γονίδιο στα ζώα ονομάζεται *KiSS1*. Επίσης ο ανθρώπινος υποδοχέας GPR54 ονομάζεται και *KISS1R*, ενώ ο αντίστοιχος υποδοχέας στα ζώα αναφέρεται ως *Kiss1R*.

Ως «κισπεπτίνη» ή «*KISS1*» αναφέρεται στην παρούσα μελέτη το σύνολο των προϊόντων έκφρασης του γονιδίου *KISS1*, εκτός από τις περιπτώσεις όπου αναφέρεται συγκεκριμένη κισπεπτίνη με τον αντίστοιχο αριθμό αμινοξέων (για παράδειγμα Kr-54 ή Kr-10 κλπ).

Η κισπεπτίνη ανακαλύφθηκε από τους Lee και συνεργάτες το 1996 στις ΗΠΑ, οι οποίοι παρατήρησαν την ικανότητά της να αποτρέπει τη μετάσταση του καρκίνου σε κύτταρα μελανώματος. Ακολούθησε στην συνέχεια η μελέτη της αντιμεταστατικής δράσης της σε διάφορα είδη καρκίνου (228-234)

Ωστόσο δύο δεκαετίες αργότερα η κισπεπτίνη θα αποτελέσει το αντικείμενο μεγάλου ενθουσιασμού στον τομέα της αναπαραγωγής, μετά την ανακάλυψη της πολυεπίπεδης δράσης της σε νευροενδοκρινικούς μηχανισμούς, στην ρύθμιση του γοναδοτροπικού άξονα, αλλά και σε άλλους μεταβολικούς και ψυχολογικούς μηχανισμούς. Η σημασία της κισπεπτίνης στην λειτουργία της ήβης είναι ιδιαίτερα σημαντική, ώστε η κισπεπτίνη θα χαρακτηριστεί ως «μοριακός διακόπτης της ήβης» (228-234)

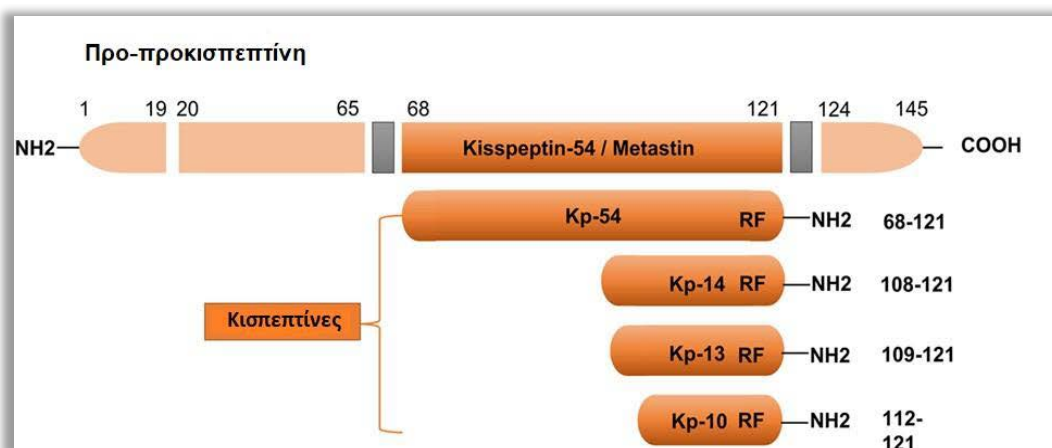
Οι τομείς στους οποίους μελετάται η λειτουργία των κισπεπτινών διευρύνονται συνεχώς με ελπιδοφόρα αποτελέσματα των ερευνών τόσο στην βιολογία του καρκίνου όσο και σε άλλα βιολογικά συστήματα (228-234).

Κισπεπτίνη (KISS1), *KISS1*

Το γονίδιο *KISS1* εδράζεται στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 1 και συγκεκριμένα στη θέση 1q32.1 (228-232). Περιλαμβάνει τέσσερα εξώνια και τρία εσώνια και παράγει μία πρόδρομη πρωτεΐνη που αποτελείται από 145 αμινοξέα και χαρακτηρίζεται ως πρωτεΐνη KISS1 ή προκισπεπτίνη (pro-kisspeptin) (228-232).

Η πρόδρομη αυτή πρωτεΐνη υφίσταται πρωτεολυτική διάσπαση σε δύο διβασικές θέσεις (R66-R και K123-R), (228-232) οπότε σχηματίζεται η πρωτεΐνη Kp-54 η οποία αποτελείται από 54 αμινοξέα. Η κισπεπτίνη Kp-54, παλαιότερα ονομάζονταν και μεταστίνη (metastin), αποτελεί το δραστικό προϊόν της έκφρασης του γονιδίου *KISS1*. Περαιτέρω διάσπαση της πρωτεΐνης Kp-54 με αφαίρεση επιπλέον μήκους τμήματος από το αμινοτελικό άκρο της, έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό άλλων τριών κισπεπτινικών πρωτεϊνικών μορίων, των Kp-14 (μήκους 14 αμινοξέων), Kp-13 (μήκους 13 αμινοξέων) και Kp-10 (μήκους 10 αμινοξέων). Οι τρεις τελευταίες κισπεπτίνες αποτελούν στην ουσία το καρβοξυτελικό άκρο της Kp-54.

Οι κισπεπτίνες παράγονται σε αρκετούς ιστούς, με τα υψηλότερα επίπεδα να απαντώνται στον πλακούντα, το πάγκρεας, το ήπαρ, το νεφρό, το λεπτό έντερο, τον όρχι και τον τοξοειδή και τον περικοιλιακό πυρήνα του υποθαλάμου (228-233) Εικόνα 13



Εικόνα 13: Βασικά δομικά στοιχεία των ανθρώπινων κισπεπτινών (233)

Υποδοχέας GPR54 (KISS1R), *KISS1R*

Ο υποδοχέας της κισπεπτίνης GPR54 (KISS1R) είναι ένα μέλος της ροδοψινικής οικογένειας των συνδεδεμένων με G-πρωτεΐνες υποδοχέων και δομικά μοιάζει με τον υποδοχέα γαλανίνης (228-233). Κατά καιρούς ο συγκεκριμένος υποδοχέας έχει αναφερθεί σε διάφορες μελέτες ως AXOR12 και hOT7T175 (228-233). Αποτελεί μία πρωτεΐνη της κυτταροπλασματικής μεμβράνης με επτά διαμεμβρανικά τμήματα συνδεδεμένη με πρωτεΐνη G, μέλος της υποοικογένειας των συνδεδεμένων με Gαq/11 υποδοχέων (228-233). Το γονίδιο του υποδοχέα εδράζεται στο βραχύ βραχίονα του χρωμοσώματος 19 και συγκεκριμένα στη θέση 19p13.3. Περιλαμβάνει πέντε εξώνια και τέσσερα εσώνια και παράγει μία πρωτεΐνη που αποτελείται από 398 αμινοξέα (228-233). Ο υποδοχέας KISS1R παράγεται σε αρκετούς ιστούς, με τα υψηλότερα επίπεδα να απαντώνται στον πλακούντα, το πάγκρεας, το ήπαρ, το νεφρό, την καρδιά, τους σκελετικούς μυς, τον όρχι, το νωτιαίο μυελό και σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου (θάλαμο, υπόφυση, στέλεχος, κέλυφος, παρεγκεφαλίδα, φλοιό (228-233). Στο ΚΝΣ η έκφραση του mRNA του KISS1R έχει ανιχνευθεί σε διάφορες περιοχές, όπως βασικά γάγγλια, αμυγδαλή, μέλαινα ουσία, ιππόκαμπος, νωτιαίο μυελό και υποθάλαμο (234).

Ρύθμιση έκφρασης KISS1, KISS1R

Όπως έχει βρεθεί από έρευνες σε καρκινικές κυτταρικές σειρές μελανώματος, η πρωτεΐνη CRSP3, η οποία αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6, αυξάνει την έκφραση της πρωτεΐνης TXNIP (thioredoxin interacting protein), η οποία με τη σειρά της αυξάνει την έκφραση της πρωτεΐνης KISS1 (228-234). Η πρωτεΐνη TXNIP (thioredoxin interacting protein ή thioredoxin binding protein) γνωστή και ως VDUP1 (vitamin D up-regulated protein 1) βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1 και όταν εισάγεται σε κυτταρικές σειρές μελανώματος, αυξάνει την έκφραση της KISS1 και αναστέλλει την μετάσταση (235).

IIβ. ΚΙΣΠΕΠΤΙΝΗ (KISS1) – ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ GPR54 (KISS1R)
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

ΙΙβ. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ KISS1/KISS1R ΣΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ

Η επίδραση στον γοναδοτροπικό άξονα (HPG)

Στα πρωτεύοντα θηλαστικά η κισπεπτίνη προκαλεί έκκριση της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH) αποτελώντας έτσι τον κύριο ρυθμιστή της έκκρισης γοναδοτροπινών.

Θετική παλίνδρομη δράση στο σύστημα κισπεπτίνης / KISS1R ασκείται μόνο από τα οιστρογόνα. Τα ανδρογόνα, η προγεστερόνη και τα οιστρογόνα, σε διαφορετική φάση του καταμήνιου κύκλου των θηλέων, ασκούν αρνητική παλίνδρομη δράση.

Σε όλα τα είδη θηλαστικών που έχουν εξεταστεί μέχρι σήμερα, υπάρχουν δύο κύριοι υποθαλαμικοί πυρήνες στους οποίους συντίθεται και εκκρίνεται η κισπεπτίνη, ένας πρόσθιος στην προοπτική περιοχή (AVPV) και ένας οπίσθιος στον τοξοειδή πυρήνα, (arcuate nucleus, ARC) του ανθρώπου και στον χοανικό πυρήνα (infundibular nucleus, ARH) των τρωκτικών (236). Στον τοξοειδή πυρήνα φαίνεται να υπάρχει ο μεγαλύτερος αριθμός κισπεπτινικών κυττάρων μεταξύ των ειδών. Εκτός από την κισπεπτίνη στους νευρώνες του τοξοειδούς πυρήνα εκφράζονται και άλλοι νευροδιαβιστές, όπως η νευροκίνη Β και η δυνορφίνη, που επίσης συμμετέχουν στην ρύθμιση του άξονα Υποθάλαμου-Υπόφυσης-Γονάδων (HPG).

Ο υποδοχέας KISS1R μεταξύ άλλων, εκφράζεται άφθονα σε νευρώνες GnRH, κατά μήκος του μέσου διαφράγματος, της διαγώνιας ζώνης του Broca και της προοπτικής περιοχής, αλλά και σε άλλες σχετικές θέσεις υποθαλάμου, όπως στην παρακοιλιακή περιοχή και στον τοξοειδή πυρήνα, αν και σε χαμηλότερα επίπεδα (236) Εικόνα 14.

Η κισπεπτίνη διεγείρει τους νευρώνες GnRH στον υποθάλαμο για να απελευθερώσει την GnRH στην υποθαλαμο-υποφυσιακή πυλαία κυκλοφορία, προκαλώντας την απελευθέρωση των γοναδοτροπινών από την πρόσθια υπόφυση (236, 237).



Εικόνα 14: Κατανομή του υποδοχέα της κισπεπτίνης στους ανθρώπινους ιστούς.

A: έκφραση του υποδοχέα κισπεπτίνης στο ανθρώπινο σώμα, B: έκφραση σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου (237).

Φυλετικός διμορφισμός νευρώνων κισπεπτίνης

Όπως ήδη αναφέρθηκε οι δύο κυριότερες θέσεις εντόπισης των νευρώνων κισπεπτίνης είναι σε δύο πυρήνες, στον ARC και στον AVPV. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι κισπεπτινικοί νευρώνες εμφανίζουν φυλετικό διμορφισμό, καθώς τα αρσενικά και τα θηλυκά έχουν ισοδύναμη ποσότητα τέτοιων νευρώνων στον ARC, αλλά τα θηλυκά έχουν πολύ περισσότερους νευρώνες στον AVPV.

Ο ρόλος αυτού του φυλετικού διμορφισμού είναι σημαντικός στον καθορισμό της θετικής, αλλά και της αρνητικής ανατροφοδότησης του υποθαλάμου και κατ' επέκταση στην ρύθμιση των επιπέδων των GnRH και LH, που είναι δύο από τις βασικότερες ορμόνες του αναπαραγωγικού συστήματος (237,238). Υπάρχουν δηλαδή πολλοί νευρώνες του ARC που αναμεταδίδουν τον έλεγχο αρνητικής ανάδρασης των φυλετικών στερεοειδών στα δύο φύλα. Ωστόσο την ίδια στιγμή, υπάρχουν πολύ λίγοι νευρώνες του AVPV στα αρσενικά που αναμεταδίδουν τον αρνητικό έλεγχο της ανατροφοδότησης των οιστρογόνων, ενώ τα θήλεα έχουν πολλούς τέτοιους νευρώνες (239). Η έκφραση κισπεπτίνης ανιχνεύεται ήδη από την εμβρυϊκή ημέρα 13,5 στον πυρήνα ARC, ενώ η ανάπτυξη του φυλετικού διμορφισμού των κισπεπτινικών νευρώνων εμφανίζεται κατά την κρίσιμη περίοδο, από το τέλος της κύησης μέχρι την αρχή της νεογνικής ζωής, όταν οι νευρώνες είναι ευαίσθητοι στα φυλετικά στερεοειδή. Μεταλλάξεις του γονιδίου KISS1 και του υποδοχέα KISS1R, με συνοδό απώλεια έκφρασής τους, προκαλούν διαταραχή στην

φυλετική διαφοροποίηση του εγκεφάλου. Γίνεται έτσι κατανοητό, ότι η σηματοδότηση της κισπεπτίνης σε εμβρυικά στάδια μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη φυλετική ανάπτυξη του εγκεφάλου. (239,240)

Νευρώνες Κισπεπτίνης - Νευρώνες KNDy

Έρευνες κυρίως των τελευταίων ετών έχουν αναδείξει ακόμα δύο νευροπεπτίδια που συνεκφράζονται με την κισπεπτίνη στους νευρώνες του τοξοειδούς πυρήνα. Οι νευροδιαβιβαστές αυτοί είναι η νευροκίνη B (NKB) και η δυνορφίνη (DYN), οι οποίοι επίσης συμμετέχουν στην ρύθμιση του υποθαλάμου και στην έκκριση της GnRH. Οι νευρώνες του τοξοειδούς πυρήνα που συνεκφράζουν τις κισπεπτίνη, NKB και DYN ονομάζονται νευρώνες KNDy και αποτελούν σημαντικό παράγοντα στη ρύθμιση των ώσεων της GnRH (240). Οι κισπεπτινικοί νευρώνες ARC θεωρούνται μέρος της γεννήτριας ώσεων GnRH. Όπως είναι γνωστό η GnRH εκκρίνεται σε ώσεις από τον υποθάλαμο, καθώς διαφορετικά μια συνεχής έκκρισή της θα προκαλούσε το φαινόμενο της προς τα κάτω ρύθμισης του αριθμού των υποδοχέων της στην υπόφυση. Η κισπεπτίνη ασκεί την δράση της στους νευρώνες GnRH με προς τα πάνω ρύθμιση (upregulation), διεγείροντας έτσι την κατά ώσεις έκκριση της GnRH. Αν και ο μηχανισμός διέγερσης και έκκρισης της GnRH δεν έχει ακόμα πλήρως διευκρινιστεί, πιθανώς προκαλείται εκπόλωση και έτσι αυξάνεται ο ρυθμός πυροδότησης των νευρικών ινών των νευρώνων παράγουν την ορμόνη GnRH (238). Ο ρυθμός έκκρισης της GnRH και στην συνέχεια των γοναδοτροπινών FSH, LH γίνεται είτε με μορφή παλμού (ώσεως), είτε με μορφή κύματος (αιχμής).

Η παλμική -με ώσεις- έκκριση της GnRH ρυθμίζεται από την αρνητική ανάδραση των στερεοειδών των γονάδων τόσο σε αρσενικά όσο και σε θηλυκά και είναι απαραίτητη για βασικά αναπαραγωγικά γεγονότα, όπως η ωρίμαση των ωοθυλακίων, η σπερματογένεση και η παραγωγή των γοναδικών ορμονών.

Η κυματοειδής -με αιχμές- έκκριση της GnRH ρυθμίζεται από την θετική ανάδραση των ωοθηκικών οιστρογόνων και είναι υπεύθυνη για τη γένεση της προ-ωορρηκτικής αιχμής των γοναδοτροπινών που οδηγεί στην ωοθυλακιωρηξία στα θηλυκά (239-241). Η επιταχυνόμενη αύξηση της LH από το κύμα GnRH απαιτείται για να προκληθεί η ωοθυλακιωρηξία, ένα κρίσιμο

γεγονός στη γυναικεία αναπαραγωγή. Καθώς τα θυλάκια των ωοθηκών μεγαλώνουν και γίνονται ώριμα, τα υψηλά επίπεδα κυκλοφορούντος οιστρογόνου ασκούν τη θετική επίδρασή τους στους νευρώνες GnRH για να προκαλέσουν αύξηση της GnRH και επομένως την αύξηση LH σε θηλυκά θηλαστικά. Η ανταπόκριση των γοναδοτροπινών στη διέγερση της κισπεπτίνης ποικίλλει στον κύκλο των ωοθηκών. Αν και η κισπεπτίνη αυξάνει σημαντικά τη μέση LH πλάσματος σε όλες τις τρεις φάσεις του εμμηνορροϊκού κύκλου, η επίδραση είναι πιο έντονη κατά τη διάρκεια της προωορρηκτικής φάσης, τόσο σε τρωκτικά όσο και σε ανθρώπους (239-241).

Ένας μεγάλος αριθμός μελετών στην βιβλιογραφία έχει ερευνήσει την δράση της κισπεπτίνης στην έκκριση των γοναδοτροπινών και κυρίως της LH τόσο σε ανθρώπινους ιστούς όσο και σε πειραματικά μοντέλα.

Μελέτες έχουν δείξει ότι ακόμα και μικρές δόσεις χορήγησης κισπεπτίνης ήταν ικανές να προκαλέσουν σημαντικά επεισόδια έκκρισης της LH στον ορό, δείχνοντας έτσι την υψηλή ευαισθησία που έχει ο γοναδοτροπικός άξονας στην διεγερτική δράση της κισπεπτίνης (241, 242).

Επιπλέον η διεγερτική δράση της κισπεπτίνης είναι πιο έντονη για την LH σε σύγκριση με την FSH, καθώς η ίδια δόση χορήγησης κισπεπτίνης προκαλεί πολλαπλάσια έκκριση LH σε σχέση με την έκκριση FSH (242). Όπως έδειξε η μελέτη των Jayasena και συνεργατών, η έκκριση της LH αυξήθηκε μετά από εξωγενή χορήγηση κισπεπτίνης Kp-54 τόσο σε υγιείς γυναίκες όσο και σε γυναίκες με υποθαλαμική αμηνόρροια (240-243). Επίσης bolus χορηγήσεις κισπεπτίνης Kp-10 προκάλεσαν ισχυρή έκκριση LH, ενώ η συνεχής έγχυση κισπεπτίνης για 22 ώρες είχε ως αποτέλεσμα υψηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης και αυξημένη συχνότητα και πλάτος παλμού LH σε υγιείς άνδρες (240-243).

Κισπεπτίνη στην διαδικασία της ήβης

Η επίδραση στην έναρξη της ήβης

Η έναρξη της ήβης χαρακτηρίζεται από έντονη δραστηριότητα δημιουργίας ώσεων έκκρισης της GnRH, η οποία με την σειρά της προκαλεί αύξηση της απελευθέρωσης των γοναδοτροπινών, LH και FSH, οπότε τελικά διεγείρεται η

ωρίμαση των γονάδων και εκκρίνονται οι ορμόνες του φύλου. Κατά την ήβη παρατηρούνται μείωση της αναστολής της έκκρισης GnRH από τους νευρώνες GABA, καθώς και αυξημένη διέγερση του γλουταμινικού, προκαλώντας τελικά αύξηση των γοναδοτροπινών (239-243).

Η συμμετοχή της κισπεπτίνης στην διαδικασία της ήβης εμφανίζεται σε διάφορα γεγονότα και βασίζεται στην αύξηση της επικοινωνίας μεταξύ της κισπεπτίνης και των νευρώνων GnRH. Παρατηρείται αυξημένη υποθαλαμική έκφραση των γονιδίων κισπεπτίνης και του υποδοχέα της σε αρουραίους και πιθήκους (243), καθώς και αύξηση του αριθμού νευρώνων κισπεπτίνης στον AVPV.

Η λειτουργία των κισπεπτινικών νευρώνων του AVPV ρυθμίζεται από την οιστραδιόλη και είναι πολύ σημαντική για να ενεργοποιήσει τους νευρώνες GnRH και να ολοκληρώσει τη διαδικασία της έναρξης της εφηβείας (239-243).

Επιπλέον κατά την ήβη παρατηρείται αυξημένη παράταξη νευρικών ινών κισπεπτίνης απέναντι στους νευρώνες GnRH, αυξημένη συχνότητα ώσεων κισπεπτίνης και μεγαλύτερη ευαισθησία νευρώνων GnRH στα αυξημένα επίπεδα της κισπεπτίνης (239-243).

Η επίδραση στην επιτάχυνση της εφηβείας

Η αυξημένη σηματοδότηση του συμπλέγματος KISS1-KISS1R φαίνεται ότι οδηγεί σε επιτάχυνση της διαδικασίας της εφηβείας. Έρευνες σε πειραματικά μοντέλα ποντικών έδειξαν ότι η εξωγενής χορήγηση κισπεπτίνης Kp-10 οδηγούσε σε πρόωμη εμφάνιση της ήβης, ενώ ακόμα η χορήγηση ανταγωνιστή της κισπεπτίνης καθυστέρουσε την εφηβεία (239-243). Το 2008 ταυτοποιήθηκε μια ενεργοποιητική επικρατής μετάλλαξη στον υποδοχέα σε ένα κορίτσι με πρόωμη ήβη (239-243).

Η επίδραση στην καθυστερημένη εφηβεία

Στην εφηβεία οι κισπεπτινικοί νευρώνες του υποθαλάμου υφίστανται μια σύνθετη ανατομική λειτουργική ωρίμαση (240). Απουσία ή μη λειτουργία του συμπλέγματος KISS1/KISS1R εμποδίζει την έναρξη και εξέλιξη φυσιολογικής εφηβείας.

Το 2003 ανακαλύφθηκαν σε ασθενείς με ιδιοπαθή υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό (IHH) μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας του γονιδίου KISS1R,

ενώ πιο πρόσφατα αναφέρθηκε και μια απενεργοποιητική μετάλλαξη στο γονίδιο της κισπεπτίνης σε ανθρώπους με καθυστερημένη ήβη (244).

Η επίδραση στον Υπογοναδοτροπικό Υπογοναδισμό

Ο υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός αποτελεί μια κατάσταση φυλετικής ανωριμότητας, μη έναρξης της ήβης. Ο ανθρώπινος υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός μπορεί να οφείλεται σε ανεπάρκειες σε διάφορα επίπεδα, όπως στην παραγωγή της GnRH στον υποθάλαμο, στη λειτουργία του υποδοχέα της GnRH στην υπόφυση ή στην παραγωγή των LH και FSH από την υπόφυση. Όλα αυτά εμποδίζουν τη φυσιολογική πορεία της φυλετικής ωρίμασης (244,245).

Απουσία υποθαλαμικής ή υποφυσιακής βλάβης, ο υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός που συνοδεύεται από ανοσμία ονομάζεται σύνδρομο Kallman, ενώ όταν δεν συνοδεύεται από ανοσμία ταξινομείται ως ιδιοπαθής υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός (IHH) (244,245).

Αρκετές μελέτες των τελευταίων κυρίως χρόνων έχουν διαπιστώσει ότι μεταλλάξεις στα γονίδια της κισπεπτίνης (*KISS1*) ή του υποδοχέα της (*KISS1R*) προκαλούν υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό (244,245). Οι μεταλλάξεις αυτές μπορεί να είναι διαφόρων τύπων, όπως διαγραφή, λανθάνουσα, παρανοηματική, εισαγωγή και άλλες, ενώ μπορεί να περιλαμβάνουν ένα ή δύο αλληλόμορφα.

Ο φαινότυπος των ασθενών με υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό ενδέχεται να ποικίλλει σημαντικά, ακόμα και μεταξύ ατόμων εντός της ίδιας οικογένειας και οι αναπαραγωγικές τους ικανότητες είναι ιδιαίτερα επηρεασμένες (244,245).

Μία ακόμα αιτία υπογοναδοτροπικού υπογοναδισμού αποτελεί η υπερπρολακτιναιμία. Οι νευρώνες της κισπεπτίνης στον υποθάλαμο εκφράζουν τον υποδοχέα της προλακτίνης, ενώ οι νευρώνες της GnRH παρουσιάζουν ελάχιστη έκφραση.

Πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η υπερπρολακτιναιμία προκαλεί καταστολή της έκφρασης κισπεπτίνης στον ARC και της επακόλουθης απελευθέρωσης LH. Η παρατήρηση αυτή υποδηλώνει ενδεχομένως ότι οι νευρώνες της κισπεπτίνης δρουν ως ενδιάμεσο μονοπάτι σηματοδότησης στην επαγόμενη από προλακτίνη καταστολή της απελευθέρωσης LH (243-245).

Η επίδραση στον καταμήνιο κύκλο των θηλέων

Η δράση του συμπλέγματος KISS1-KISS1R έχει διαπιστωθεί και στον καταμήνιο κύκλο των θηλέων. Η φάση πριν την ωοθυλακιορρηξία εξαρτάται από την ύπαρξη τονικών επεισοδίων των γοναδοτροπινών. Φαίνεται ότι οι νευρώνες KISS1 στον AVPV συμμετέχουν στο δίκτυο που είναι υπεύθυνο για τη δημιουργία της θετικής ανατροφοδότησης της οιστραδιόλης στην έκκριση γοναδοτροπίνης στα θήλεα. Αυτή η λειτουργία είναι εξαιρετικά σημαντική για την δημιουργία του ορμονικού σήματος που ενεργοποιεί την ωοθυλακιορρηξία (246). Έρευνες σε πειραματικά μοντέλα ποντικών έδειξαν ότι μεταλλάξεις του υποδοχέα Kiss1R συνοδεύονταν από αδυναμία ωοθυλακιορρηξίας, φανερώνοντας έτσι την αναγκαιότητα της σηματοδότησης της κισπεπτίνης για την προ-ωορρηκτική αύξηση της ωχρινοποιητικής ορμόνης (LH) (246). Οι επιδράσεις της κισπεπτίνης φαίνεται να διαφέρουν σε διαφορετικά στάδια του έμμηνου κύκλου (246).

Η άμεση επίδραση της κισπεπτίνης πάνω στις γονάδες

Έκφραση στη θηλυκή αναπαραγωγική οδό

Ήδη από το 2004 παρατηρήθηκε, αρχικά σε τρωκτικά, η έκφραση του γονιδίου *Kiss1* και του υποδοχέα του *Kiss1R* σε ωοθήκες. Στην συνέχεια ανακαλύφθηκε ανάλογη ωοθηκική έκφραση των KISS1-KISS1R και σε ανθρώπινους ιστούς (247,248). Όπως έχει φανεί σε έρευνες σε ποντίκια, η έκφραση του γονιδίου *Kiss1* υφίσταται μεταβολές στην ρύθμισή της στις ωοθήκες από την προ-ωορρηκτική αύξηση της LH, γεγονός που υποδηλώνει ότι η κισπεπτίνη ρυθμίζει την ωοθυλακιογένεση, την ωοθυλακιορρηξία και / ή την ωχρινοποίηση (247,248). Μια πιο πρόσφατη μελέτη ανέδειξε την άμεση επίδραση της κισπεπτίνης στις ωοθήκες ποντικών, ανεξάρτητα από τις κεντρικές επιδράσεις της μέσω των γοναδοτροπινών. Επιπλέον στην ίδια μελέτη φάνηκε ότι η άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ της κισπεπτίνης και των ωοθηκών μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεση του συνδρόμου της πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας (POF) (248). Η σηματοδότηση του υποδοχέα KISS1R, καθώς και η σηματοδότηση της νευροτροφίνης μέσω του υποδοχέα NTRK2,

είναι απαραίτητες για την επιβίωση των ωοκυττάρων και την ακεραιότητα των ωοθυλακίων στην ωοθήκη ενηλίκων (248).

Επίδραση στους όρχεις και στα σπερματοζωάρια

Η έκφραση των KISS1, KISS1R έχει παρατηρηθεί και στις γονάδες του άρρενος φύλου, υποδηλώνοντας ενδεχομένως έναν ρυθμιστικό ρόλο της κισπεπτίνης στην αναπαραγωγή, χωρίς όμως να εμπλέκεται στην στερεοειδογένεση στα κύτταρα Leydig (249). Προϊόντα της έκφρασης των γονιδίων KISS1 και KISS1R έχουν ανιχνευθεί στους όρχεις ανθρώπων και τρωκτικών. Τα κύτταρα Leydig εκφράζουν κυρίως την κισπεπτίνη, με χαμηλότερα επίπεδα έκφρασης του υποδοχέα. Επίσης ο υποδοχέας KISS1R εκφράζεται σε σπερματικά σωληνάρια και στην ακροσωματική περιοχή των σπερματοζωαρίων. Φαίνεται από μελέτες ότι η κισπεπτίνη ρυθμίζει τις ικανότητες γονιμοποίησης των σπερματοζωαρίων κατά τη διάρκεια της ενδυνάμωσης (capacitation) και μπορεί να προστατεύσει τη λειτουργία των σπερματοζωαρίων σε αναπαραγωγικές οδούς όπως η επιδιδυμίδα και οι ωαγωγοί (249). Εκτός από τα κύτταρα Leydig, το επιδιδυμικό επιθήλιο εκκρίνει την κισπεπτίνη για να ρυθμίζει τη λειτουργία του σπέρματος. Το σπερματικό πλάσμα αποτελείται από πολλαπλά ιόντα, ενεργειακά υποστρώματα και οργανικές ενώσεις όπως κιτρικό οξύ, λιπίδια, αμινοξέα, πεπτίδια και πρωτεΐνες χαμηλού και υψηλού μοριακού βάρους. Αυτά τα συστατικά υποστηρίζουν την επιβίωση των σπερματοζωαρίων στην γυναικεία αναπαραγωγική οδό και διευκολύνουν την επιτυχή γονιμοποίηση (249).

Επίδραση στην εμφύτευση εμβρύου και στην κύηση

Πρόσφατες μελέτες αναγνώρισαν την επίδραση της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της στην κύηση. Έχει εξετασθεί ο ρόλος της κισπεπτίνης στην διαδικασία εμφύτευσης του εμβρύου στην μήτρα. Με την έναρξη της εμφύτευσης, αυξάνεται η έκφραση της κισπεπτίνης στα ενδομητρικά στρωματικά κύτταρα, συμβάλλοντας έτσι ενδεχομένως στην προετοιμασία του ενδομητρίου ώστε να μπορέσει να αναπτυχθεί ο πλακούντας (250).

Σε έρευνες που έχουν γίνει έχει παρατηρηθεί αυξημένη έκφραση της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της στην συγκυτιοτροφοβλάστη (250), ενώ κατά την διάρκεια της κύησης αυξάνεται σημαντικά η συγκέντρωση της κισπεπτίνης στο πλάσμα, σε σύγκριση με μη έγκυες γυναίκες-ελέγχου (250).

Επιπλέον έρευνες έχουν αναδείξει την ρυθμιστική δράση του συμπλέγματος KISS1-KISS1R στην εισβολή των τροφοβλαστικών κυττάρων. Πιθανώς μέσω του μηχανισμού δράσης μεταλλοπρωτεϊνάσης-2 (MMP-2), επιτυγχάνεται αναστολή της μετανάστευσης των τροφοβλαστικών κυττάρων στη μήτρα (250,251) γεγονός που συνδέεται ίσως με τα αυξημένα επίπεδα της κισπεπτίνης σε ασθενείς με τροφοβλαστικές ασθένειες και μείωση αυτών μετά την θεραπεία.

Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει η διερεύνηση της σχέσης της έκφρασης της κισπεπτίνης με άλλες δυσλειτουργίες του πλακούντα, όπως η προεκλαμψία και ο περιορισμός της ενδομήτριας ανάπτυξης, καθώς επίσης και με την πιθανότητα αποβολής του εμβρύου. Από κάποιους ερευνητές μάλιστα έχει προταθεί ο προσδιορισμός της κισπεπτίνης πλάσματος κατά τον προγεννητικό έλεγχο, ως δείκτη αξιολόγησης για την πιθανότητα αποβολής του εμβρύου (250, 251).

Κισπεπτίνη και μεταβολικές καταστάσεις

Μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον έχει προσελκύσει τα τελευταία χρόνια η δράση της κισπεπτίνης (KISS1) σε διάφορες μεταβολικές δραστηριότητες και η σχέση της έκφρασής της με άλλες ορμόνες που εμπλέκονται στον μεταβολισμό. Συγκεκριμένα η λεπτίνη, η ινσουλίνη και η γρελίνη, φαίνεται να αλληλεπιδρούν με τους νευρώνες της κισπεπτίνης επηρεάζοντας την έκκρισή της (252, 253).

Λεπτίνη – κισπεπτίνη

Μόλις τα τελευταία χρόνια έρευνες ανέδειξαν την σχέση μεταξύ της έκφρασης της κισπεπτίνης (KISS1) με την λεπτίνη. Η λεπτίνη είναι μια ορμόνη που εκκρίνουν τα λιποκύτταρα και παρουσιάζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της μεταβολικής κατάστασης και των ενεργειακών αποθεμάτων του οργανισμού. Έχει παρατηρηθεί ότι η έλλειψη λεπτίνης συνδέεται με διαταραχές πρόσληψης

τροφής, όπως νευρική ανορεξία, καθώς και με μειωμένη αναπαραγωγική ικανότητα, καθυστερημένη εφηβεία και υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό. Χορήγηση της λεπτίνης σε πειραματικά μοντέλα, αντιστρέφει την στειρότητα που οφείλεται στην έλλειψη λεπτίνης (252-254).

Παρά τον σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο της λεπτίνης στον άξονα HPG, οι υποδοχείς λεπτίνης (LepRb) δεν εκφράζονται στους νευρώνες GnRH. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι η δράση της λεπτίνης ασκείται μέσω άλλου ενδιάμεσου παράγοντα, όπως είναι για παράδειγμα η κισπεπτίνη, ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας 1, το πεπτιδίο NPY και η συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου (252-254).

Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει τον ρόλο της κισπεπτίνης ως ενδιάμεσου μορίου μεταξύ της σηματοδότησης της λεπτίνης και της λειτουργίας της GnRH. Έχει διαπιστωθεί με την τεχνική *in situ* υβριδοποίησης, ότι περίπου το 40% των νευρώνων που εκφράζουν το mRNA του KISS1 στον πυρήνα ARC, εκφράζουν τον υποδοχέα λεπτίνης. Επίσης μειωμένη έκφραση κισπεπτίνης από τον πυρήνα ARC συσχετίζεται με ανεπάρκεια λεπτίνης και συνοδούς αναπαραγωγικές δυσλειτουργίες, ενώ οι νευρώνες της κισπεπτίνης φαίνεται να αποτελούν τους άμεσους στόχους της λεπτίνης. Έρευνες σε αρσενικούς και θηλυκούς ποντικούς έδειξαν, ότι η στέρηση τροφής, η οποία σχετίζεται με χαμηλά επίπεδα ενδογενούς λεπτίνης, προκαλεί μειωμένη υποθαλαμική έκφραση του Kiss1 σε ποντικούς πριν την ήβη με ταυτόχρονη πτώση της κυκλοφορούσας LH και καθυστέρηση στην έναρξη της εφηβείας (252-254).

Μελετώντας την ενδεχόμενη δράση της KISS1 σε γλυκαιμικές διαταραχές, έχει προταθεί από ερευνητές, ότι η κισπεπτίνη ενδεχομένως μπορεί να αποτελεί ένα ενδιάμεσο σήμα στην παθογένεση συγκεκριμένων γλυκαιμικών διαταραχών (254). Όπως έχει παρατηρηθεί, η επαναλαμβανόμενη χορήγηση κισπεπτίνης σε διαβητικούς αρουραίους προκαλεί αύξηση της απελευθέρωσης των ορμονών LH και τεστοστερόνης. Στην συνέχεια η ενδοεγκεφαλοκοιλιακή χορήγηση λεπτίνης, αλλά όχι ινσουλίνης, ομαλοποιεί την έκφραση της υποθαλαμικής κισπεπτίνης και τα επίπεδα LH και τεστοστερόνης στο πλάσμα. Επιπλέον η απώλεια υποδοχέων ινσουλίνης στους κισπεπτινικούς νευρώνες φαίνεται να καθυστερεί την έναρξη της εφηβείας σε ποντίκια (252).

Επίδραση της κισπεπτίνης στην αμυγδαλή και στην αναπαραγωγική συμπεριφορά – Εξωυποθαλαμική κισπεπτίνη

Πέρα από τους μηχανισμούς δράσης της κισπεπτίνης που ήδη αναφέρθηκαν παραπάνω, πρόσφατες έρευνες διεύρυναν το πεδίο μελέτης που αφορά στην επίδραση της κισπεπτίνης σε αισθητηριακούς μηχανισμούς και κοινωνικές συμπεριφορές που σχετίζονται άμεσα με την σεξουαλική δραστηριότητα και κατ' επέκταση με την αναπαραγωγή. Η έκφραση της κισπεπτίνης έχει παρατηρηθεί εκτός του υποθάλαμου και σε περιοχές του μεταιχμιακού συστήματος του εγκεφάλου, όπως για παράδειγμα στην αμυγδαλή. Στις περιοχές αυτές, η σηματοδότηση της κισπεπτίνης εμπλέκεται σε μηχανισμούς επεξεργασίας πληροφοριών σεξουαλικής συμπεριφοράς και συναισθημάτων, όπως φόβου, άγχους, διάθεσης και όσφρησης (255). Οι μελέτες που υπάρχουν έως σήμερα προτείνουν γενικότερα, ότι η κισπεπτίνη μπορεί να συνδυάσει τις σεξουαλικές και συναισθηματικές διεργασίες του εγκεφάλου με τον έλεγχο του άξονα HPG (255). Φαίνεται έτσι, ότι η σηματοδότηση της κισπεπτίνης σε άμεση συσχέτιση με την έκκριση LH ρυθμίζει έως ένα σημείο τη νευρωνική δραστηριότητα της αμυγδαλής, επιδρώντας στην συναισθηματική, σεξουαλική συμπεριφορά και ερωτική διέγερση, με τελικό αποτέλεσμα την επίδραση στην αναπαραγωγή (255).

**IIγ. ΚΙΣΠΕΠΤΙΝΗ (KISS1) – ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ GPR54 (KISS1R)
ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ**

IIγ. ΚΙΣΠΕΠΤΙΝΗ (KISS1) – ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ GPR54 (KISS1R) ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Διπλός ρόλος - Καταστολή ή επαγωγή του καρκίνου;

Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη ερευνητική μέθοδος ταυτοποίησης και μελέτης γονιδίων που σχετίζονται με την βιολογική συμπεριφορά του καρκίνου και της ικανότητάς του να μεθίσταται είναι έγχυση των προς μελέτη γονιδίων σε κυτταρικές σειρές ισχυρά μεταστατικών κυττάρων και στη συνέχεια η παρατήρηση της ικανότητάς τους να μεθίστανται μετά από έγχυσή τους σε ποντικούς στερούμενους θύμου αδένα.

Με αυτόν τον τρόπο έγινε η ανακάλυψη του γονιδίου KISS1 ως μέσου καταστολής της μετάστασης το 1996 από τους Lee και συνεργάτες σε κύτταρα μελανώματος (256). Το προϊόν μετάφρασης του γονιδίου KISS1, η πρωτεΐνη κισπεπτίνη (Kispeptin) ονομάστηκε μεταστίνη (256). Συγκεκριμένα η εισαγωγή χρωμοσώματος 6 σε μεταστατικά κύτταρα μελανώματος C8161 και MelJuSo κατέστειλε την μετάστασή τους κατά 95% χωρίς ωστόσο να επηρεάζει την ανάπτυξη του πρωτοπαθούς όγκου. Παράλληλα χρησιμοποιώντας τεχνική αφαιρετικού υβριδισμού οι ερευνητές έδειξαν ότι από όλα τα γονίδια που μελετήθηκαν, μόνο το γονίδιο KISS1 εκφραζόταν σε μη μεταστατικά κύτταρα ενώ απουσίαζε από την σειρά των πατρικών μεταστατικών κυττάρων (257).

Η ανακάλυψη αυτή προκάλεσε μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον τα επόμενα χρόνια για την μελέτη έκφρασης του γονιδίου KISS1 και του ρόλου του στον καρκίνο ως μέσου καταστολής της μετάστασης (256, 257).

Η αντιμεταστατική και ογκοκατασταλτική δράση του πεπτιδίου KISS1 καθώς και των παραγώγων αυτού (κισπεπτίνες Kp- 54,14,13,10-αμινοξέων) έχει αναφερθεί σε διάφορους καρκίνους (258, 259), όπως ο καρκίνος της ουροδόχου κύστεως, των ωοθηκών, του παχέος εντέρου, παγκρέατος, οροφάρυγγα, θυρεοειδούς, υπόφυσης, προστάτη, πνεύμονα και άλλων.

Ωστόσο υπάρχουν μελέτες που αφορούν ορισμένους καρκίνους όπως ο καρκίνος του μαστού και ο ηπατοκυτταρικός καρκίνος, όπου φαίνεται ότι η δράση της κισπεπτίνης (KISS1) δεν έχει ογκοκατασταλτική ή αντιμεταστατική δράση, αλλά αντίθετα προάγει την ανάπτυξη του όγκου και την δημιουργία μεταστάσεων.

Στον καρκίνο μαστού συγκεκριμένα, αν και αρχικές έρευνες που έγιναν σε σειρές MDAMB-435 καρκινικών κυττάρων έδειξαν ότι η δράση της KISS1 καταστέλλει την μετάσταση του όγκου (260), μεταγενέστερες έρευνες παρουσίασαν νέα δεδομένα που δείχνουν ότι η έκφραση της KISS1 και του υποδοχέα της KISS1R προάγει την ογκογένεση και δημιουργία μεταστάσεων του καρκίνου μαστού (258-260).

Ανάλογα αποτελέσματα εμφάνισαν έρευνες στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, στις οποίες φαίνεται ότι η υπερέκφραση του γονιδίου *KISS1* συνδέεται με ανάπτυξη του όγκου και πρόοδο της νόσου, ενώ η έκφραση KISS1 θα μπορούσε να αποτελέσει ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την συνολική επιβίωση και επιβίωση ελεύθερης νόσου σε ασθενείς με ηπατοκυτταρικό καρκίνο (258, 259). Το φαινόμενο ο ίδιος μοριακός παράγοντας να έχει διπλό ρόλο και να λειτουργεί και ως παράγοντας καταστολής αλλά και ως παράγοντας ανάπτυξης και προώθησης του όγκου ή της μετάστασής του, δεν περιορίζεται μόνο στο πεπτίδιο KISS1 και τον υποδοχέα του KISS1R (259). Και άλλοι μοριακοί παράγοντες έχει αναφερθεί να έχουν τέτοιο διπλό ρόλο στην καρκινογένεση και μεταστατική διαδικασία (259). Τέτοιοι είναι ο NFκB (πυρηνικός παράγοντας-ελαφράς-αλύσου-ενισχυτής ενεργοποιημένων B κυττάρων, το ογκογονίδιο c-Myc, η AMP-activated protein kinase (AMPK), ο παράγοντας transforming growth factor-β (TGF-β), η τυροσινική κινάση του σπλήνα (SYK), και η υαλουρονιδάση HYAL 1 (259).

Ολοένα και περισσότερες έρευνες εμφανίζουν αποτελέσματα που δείχνουν ότι ο ρόλος των παραπάνω παραγόντων στην ανάπτυξη ή καταστολή του καρκίνου και της μετάστασης δεν είναι προκαθορισμένος, αλλά εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, όπως το είδος και ο τύπος του καρκίνου, το στάδιο της νόσου και το μικροπεριβάλλον του καρκίνου με τα διάφορα μόρια και τα αντίστοιχα μονοπάτια σηματοδότησης (259).

Σύνδεση KISS1 με τον υποδοχέα KISS1R

Σηματοδότηση KISS1/KISS1R

Η σύνδεση της κισπεπτίνης KISS1 με τον υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) ενεργοποιεί την συνδεδεμένη με αυτόν πρωτεΐνη Gαq/11, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την φωσφολιπάση C (PLC). Η φωσφολιπάση C καταλύει την

υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (PIP2) της κυτταρικής μεμβράνης σε διακυλογλυκερόλη (DAG) και τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3), οι οποίες ενεργοποιούν την πρωτεϊνική κινάση C (PKC), άμεσα στην περίπτωση της διακυλογλυκερόλης (DAG) και έμμεσα στην περίπτωση της τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3) μέσω της κινητοποίησης ιόντων ασβεστίου από το ενδοπλασματικό δίκτυο προς το κυτταρόπλασμα (228,230,234,237). Η ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) με την σειρά της προκαλεί την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος (237), την φωσφορυλίωση διαφόρων κινασών όπως οι MAPKs (Mitogen-Activated Protein Kinases, πρωτεϊνικές κινάσες ενεργοποιούμενες από μιτογόνα), οι ERK1 και ERK2 (Extracellular Signal-Regulated Kinase – κινάση ρυθμιζόμενη από εξωκυτάρια σήματα) και η πρωτεΐνη p38 (228,230,234,237). Οι MAPK είναι πρωτεϊνικές κινάσες που προσθέτουν φωσφορικές ομάδες στα αμινοξέα σερίνη και θρεονίνη και ελέγχουν μονοπάτια όπως η εμβρυογένεση, η κυτταρική διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός κι ο κυτταρικός θάνατος. Εικόνα 15.

Οι παραπάνω μηχανισμοί αποτελούν το βασικό μονοπάτι σηματοδότησης του συστήματος KISS1/KISS1R στις βιολογικές δράσεις του, κατά την νευροενδοκρινή λειτουργία του και την έκκριση ορμονών.

Ωστόσο οι μοριακοί μηχανισμοί και οι κινάσες που ενεργοποιούνται από την σύνδεση KISS1 με τον υποδοχέα KISS1R, φαίνεται να εξαρτώνται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, από το είδος του κυττάρου στο οποίο βρίσκονται.

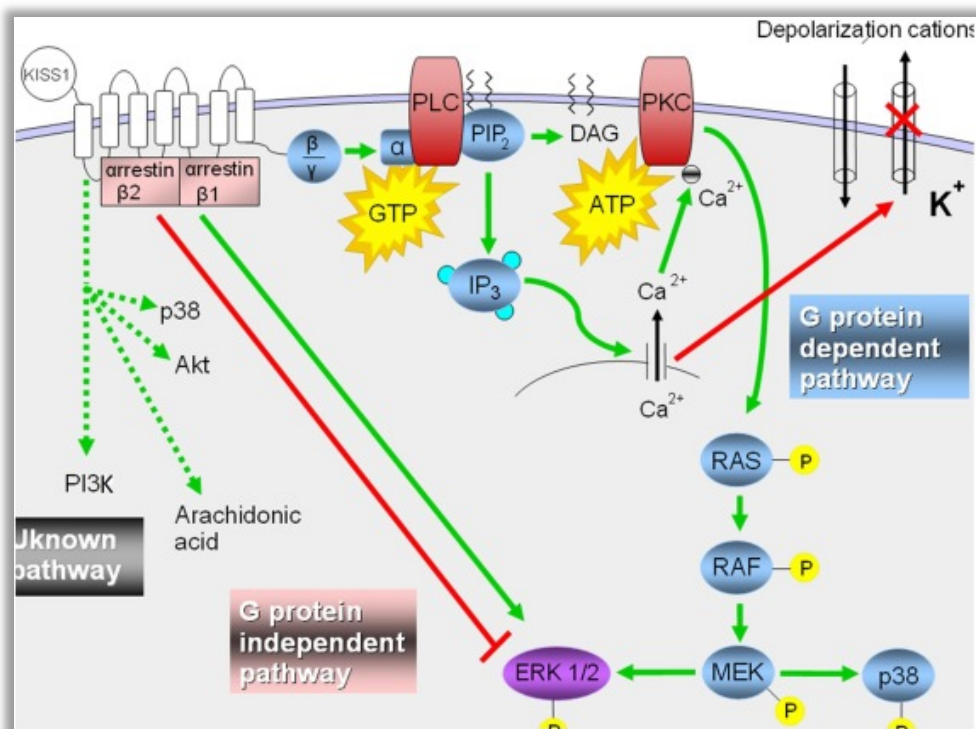
Έτσι για παράδειγμα μελέτες σε σειρές κυττάρων που εκφράζουν σταθερά τον υποδοχέα KISS1R, έδειξαν ισχυρή φωσφορυλίωση των ERK1 και ERK2 με πιο αδύναμη φωσφορυλίωση των p38 MAPK κινασών (237). Αντιθέτως σε αναπλαστικά θυρεοειδικά κύτταρα που εκφράζουν τον KISS1R ενδογενώς, η κισπεπτίνη προκαλεί φωσφορυλίωση των ERK1 και ERK2 αλλά όχι της p38 ή PKB/Akt (261). Ομοίως σε μελέτες σε σειρές παγκρεατικών κυττάρων, η εξωγενής κισπεπτίνη ενεργοποίησε την φωσφορυλίωση της ERK1 σε 2 διαφορετικές σειρές AsPC-1 και PANC-1 κυττάρων, αλλά ενεργοποίησε την κινάση p38 μόνο στα PANC-1 κύτταρα (261).

Οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων το σύμπλεγμα KISS1/KISS1R ασκεί την ογκοκατασταλτική και αντιμεταστατική δράση του δεν έχουν ακόμη πλήρως διευκρινιστεί. Φαίνεται μεταξύ άλλων, ότι η σηματοδότηση του συμπλέγματος KISS1/KISS1R μειώνει την ικανότητα δημιουργίας μεταστάσεων μέσω

μηχανισμών ενεργοποίησης των MAPK κινασών, του μοριακού μονοπατιού PKB/Akt, της έκφρασης μεταλλοπρωτεϊνών εξωκυττάριου δικτύου, κυρίως της (MMP)-9, επηρεάζοντας επίσης την κινητικότητα, την διεισδυτικότητα και ικανότητα προσκόλλησης των καρκινικών κυττάρων, ενισχύοντας την έναρξη απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, μειώνοντας την επιθήλιο-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) καθώς επίσης και μειώνοντας την αγγειογένεση του όγκου μέσω αναστολής του παράγοντα VEGF (228, 230, 234, 237, 261).

Σε κύτταρα μελανώματος επίμυος έχει βρεθεί ότι οι κισπεπτίνες προκαλούν φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών focal adhesion kinase και paxillin, οι οποίες λειτουργούν για την προσκόλληση κυττάρων μεταξύ τους ή με την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία (matrix), μειώνοντας έτσι την ικανότητα προσκόλλησης. Επιπλέον έχει βρεθεί πως η kisspeptin-10 καταστέλλει την χημειοτακτική δραστηριότητα του υποδοχέα CXCR4, ο οποίος είναι ένας άλλος GPCR υποδοχέας που υπερεκφράζεται σε πολλούς καρκίνους και προάγει την μετάσταση. Η κισπεπτίνη πιθανώς εμποδίζει την ικανότητα του μορίου SDF-1/CXCL12, το οποίο είναι το μόριο σύνδεσης στον υποδοχέα CXCR4, αναστέλλοντας έτσι την σηματοδότηση του CXCR4 και κατ' επέκταση την μετάσταση του όγκου (262). Η έκφραση της κισπεπτίνης KISS1 σχετίζεται με την σηματοδότηση του παράγοντα NFκB στα κύτταρα HT-1080 (263). Έτσι η κισπεπτίνη αναστέλλει την δράση του NFκB, μειώνοντας παράλληλα την ικανότητα σύνδεσής του NFκB με την μεταλλοπρωτεϊνάση (MMP)-9. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της έκφρασης (MMP)-9 και επομένως την καταστολή του όγκου και της μετάστασης (263). Οι κισπεπτίνες φαίνεται να ενεργοποιούν την απόπτωση σε συγκεκριμένα είδη κυττάρων (264-266), καθώς τελευταίες μελέτες αναφέρουν ότι το καρβοξυλικό άκρο (COOH-) του υποδοχέα KISS1R μπορεί να αλληλεπιδρά με την Ser/Thr πρωτεϊνική φωσφατάση PP2A. Ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι ακόμα πλήρως γνωστός αλλά φαίνεται ότι το σύμπλεγμα KISS-1R/PP2A οδηγεί σε αποφωσφορυλίωση της Akt και σε απόπτωση. Στην ρύθμιση της σηματοδότησης του υποδοχέα φαίνεται επίσης ότι συμμετέχει και η πρωτεΐνη β-arrestin (267).

Εικόνα 15.



Εικόνα 15: Σχηματική απεικόνιση βασικών μονοπατιών σηματοδότησης του μηχανισμού δράσης του συμπλέγματος κισπεπτίνης (KISS1) με τον υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) (258)

Μελάνωμα

Όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω, ο ρόλος του γονιδίου *KISS1* ως μέσο καταστολής της μετάστασης ανακαλύφθηκε πρώτη φορά το 1996 από τους Lee και συνεργάτες σε κύτταρα μελανώματος (256). Επίσης η απώλεια έκφρασης του *KISS1* σχετίστηκε με την πρόοδο της νόσου και την εμφάνιση μεταστάσεων στο μελάνωμα (256, 257).

Καρκίνος μαστού

Την ίδια περίπου εποχή με την ανακάλυψη της αντιμεταστατικής δράσης του *KISS1* στο μελάνωμα, οι Lee και Welch (268) παρατήρησαν τον ρόλο της κισπεπτίνης στον καρκίνο του μαστού. Οι ερευνητές έδειξαν ότι η μεταφορά του γονιδίου *KISS1* στην καρκινική σειρά MDA-MB-435 καταστέλλει τη μεταστατική ικανότητα αυτών των κυττάρων. Συγκεκριμένα MDA-MB-435 κύτταρα, στα οποία είχε προηγουμένως εισαχθεί το γονίδιο *KISS1*, εισήχθησαν στους

μαζικούς αδένες μυός στερούμενου θύμου και βρέθηκε ότι η έκφραση του γονιδίου KISS1 ελάττωσε το μεταστατικό τους δυναμικό κατά 95% σε σχέση με τα πατρικά κύτταρα, χωρίς να παρατηρηθεί κάποια διαφορά στην ανάπτυξη του πρωτοπαθούς όγκου (268).

Η μελέτη των Παπαοικονόμου και συνεργατών αναφέρει ότι βρέθηκε υψηλότερη έκφραση των KISS1 και KISS1R σε καρκίνο μαστού (πορογενή και λοβιακό τύπο) σε σύγκριση με τους μη καρκινικούς ινοκυστικούς μαστικούς ιστούς του μαστού. Ωστόσο δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης KISS1/KISS1R και του βαθμού κακοήθειας και μεγέθους του όγκου, ούτε με τον ιστολογικό τύπο, την ύπαρξη ή μη του οιστρογονικού υποδοχέα ή την λεμφαδενική μετάσταση (269).

Οι Kostadima και συνεργάτες μελέτησαν τα επίπεδα του KISS1 mRNA σε 272 δείγματα καρκίνου του μαστού σταδίου II ή III με θετικούς λεμφαδένες και διαπίστωσαν ότι μόνο στο 3% των όγκων αυτών ανιχνεύτηκε KISS1 mRNA. Η έκφραση του KISS1 δεν σχετίστηκε στατιστικά με το μέγεθος του όγκου, το grade, τον αριθμό των διηθημένων λεμφαδένων, την παρουσία ορμονικών υποδοχέων, την συνολική επιβίωση ή το διάστημα ελεύθερο νόσου. Επιπλέον, δεν βρέθηκε στατιστική συσχέτιση ανάμεσα στη μεταγραφική δραστηριότητα του KISS1 και των ρυθμιστών του κυτταρικού κύκλου HER2, VEGF, p53, BCL2, PAEP, και BIRC5 (270).

Οι Olbrich και συνεργάτες ανακάλυψαν ότι η kisspeptin-10 αναστέλλει *in vitro* την προς τα οστά κατευθυνόμενη μετανάστευση καρκινικών κυττάρων μαζικού αδένα, τα οποία καλλιεργούνται μαζί με MG63 κύτταρα και μοιάζουν με οστεοβλάστες, πιθανόν καταστέλλοντας την έκφραση του υποδοχέα χημειοκινών CXCR4 και του SDF-1 (stromal cell-derived factor-1) (271).

Τα συμπεράσματα για τον ρόλο της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της στον καρκίνο του μαστού είναι ωστόσο διφορούμενα. Υπάρχουν ολόένα και περισσότερες έρευνες τα τελευταία χρόνια στις οποίες φαίνεται ότι η δράση των KISS1/KISS1R περισσότερο βοηθά ή και διεγείρει την ανάπτυξη του καρκίνου μαστού παρά την καταστέλλει (272).

Πιο συγκεκριμένα η μελέτη της έκφρασης KISS1 στον καρκίνο μαστού από τους Martin και συνεργάτες (272) βρήκε αυξημένα επίπεδα KISS1 πρωτεΐνης και KISS1 mRNA σε όγκους με αρνητικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ERα-negative) σε σύγκριση με αυτούς με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς (ERα-

positive), δείχνοντας παράλληλα την θετική συσχέτιση της κισπεπτίνης με την πρόοδο της νόσου και την χειρότερη επιβίωση στον καρκίνο μαστού. Επίσης η συγκεκριμένη έρευνα έδειξε αυξημένη έκφραση του KISS1 σε όγκους που συνοδεύονταν από λεμφαδενική μετάσταση σε σύγκριση με μη μεταστατικούς όγκους. Επιπλέον φάνηκε ότι όγκοι με μεγαλύτερο Grade και TNM στάδιο είχαν και υψηλότερα επίπεδα KISS1, ενώ η έκφραση του υποδοχέα δεν παρουσίασε παρόμοιες διαφορές(272).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασαν έρευνες για την σχέση του οιστρογονικού υποδοχέα (ERα) με την έκφραση του KISS1. Βρέθηκε ότι η έκφραση του υποδοχέα ERα αναστέλλει την έκφραση των KISS1 και KISS1R (273).

Οι Marot και συνεργάτες (274) μελετώντας την σχέση του KISS1 με τον οιστρογονικό υποδοχέα (ERα), έδειξαν ότι η έκφραση του KISS1 στην ERα-αρνητική κυτταρική σειρά MDA-MB-231 μειώνεται σημαντικά όταν εισάγεται το γονίδιο ERα. Αντίθετα, η προσθήκη ταμοξιφένης στα ERα-θετικά κύτταρα MCF-7 και T47D αυξάνει την έκφραση των KISS1 και KISS1R, δείχνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η σηματοδότηση του ERα αναστέλλει την έκφραση του συστήματος KISS1/KISS1R (274). Επιπλέον στην ίδια έρευνα φάνηκε ότι ασθενείς με καρκίνο μαστού και αυξημένα επίπεδα KISS1 και KISS1R, εμφάνισαν την μικρότερη επιβίωση ελεύθερη υποτροπής σε σχέση με αυτούς που είχαν χαμηλή έκφραση KISS1, KISS1R (274).

Πρόσφατες μελέτες (259, 275) παρουσίασαν αυξημένη έκφραση του συστήματος KISS1/KISS1R mRNA σε πρωτοπαθή Τριπλά Αρνητικό Καρκίνο του Μαστού (που δεν έχει οιστρογονικούς και προγεστερονικούς υποδοχείς και δεν υπερεκφράζει την πρωτεΐνη HER2/neu) σε σύγκριση με φυσιολογικό μαζικό ιστό.

Επιπλέον η έκφραση του ενδογενούς υποδοχέα KISS1R σχετίζεται με αυξημένη αντίσταση στην θεραπεία, ενεργοποιώντας την τυροσινική κινάση AXL και διεγείροντας την έκφραση της πρωτεΐνης BCRP (breast cancer resistance protein ή ABCG2 (275).

Απώλεια έκφρασης του ERα (π.χ. σε TNBC) προκαλεί αυξημένη έκφραση του KISS1/KISS1R η οποία με την σειρά της οδηγεί σε επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάπτωση και αύξηση της διεισδυτικής ικανότητας των επιθηλιακών κυττάρων (273). Η σηματοδότηση του KISS1R διεγείρει τη διείσδυση των καρκινικών κυττάρων TNBC μέσω διάφορων μηχανισμών όπως, δημιουργία

ψευδοποδίων, ενεργοποίηση πρωτεϊνών κοφιλίνης, μεταλλοπρωτεϊνάσες εξωκυττάριας ουσίας τύπου 1 (MT1-MMP), β-αρρεστίνης, μηχανισμού εξωκυττάριας ρυθμιζόμενης κινάσης ERK1/2 (276).

Αναστολή της έκφρασης KISS1 εμποδίζει την εισβολή καρκινικών κυττάρων μέσω του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού-β (TGFβ-mediated cancer cell invasion) καθώς και την δράση των μεταλλοπρωτεϊνών εξωκυττάριας ουσίας τύπου 9 (MMP-9) στα καρκινικά κύτταρα (TNBC) (278). Οι παραπάνω μελέτες προβάλλουν την ογκογενετική δράση του συστήματος KISS1/KISS1R στον καρκίνο του μαστού.

Η μελέτη των Cho και συνεργατών μεταξύ άλλων έδειξε, ότι η σηματοδότηση του συστήματος KISS1/KISS1R με αυτοκρινή μηχανισμό σε επιθηλιακά κύτταρα μαστού βοηθά την ανάπτυξη όγκου σε ζωικά μοντέλα (278). Εξωγενής χορήγηση κισπεπτίνης ή υποδοχέα κισπεπτίνης (KISS1R) σε φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα MCF10A μαζικού αδένου οδήγησε στην κακοήγη εξαλλαγή τους (259, 273).

Ηπατοκυτταρικός καρκίνος

Η υπερέκφραση του γονιδίου *KISS1* συσχετίστηκε με την εξέλιξη του ηπατοκυτταρικού καρκίνου, ενισχύοντας την παρατήρηση ότι η έκφραση του KISS1 προάγει μια επιθετική μορφή του συγκεκριμένου καρκίνου (279). Για τους Schmid και συνεργάτες η έκφραση του KISS1 μπορεί να αποτελεί έναν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα της ελεύθερης νόσου επιβίωσης, αλλά και της συνολικής επιβίωσης (280). Σε άλλη μελέτη αναφέρθηκε ακόμα η προς τα κάτω ρύθμιση του γονιδίου *KISS1* στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο (258, 259).

Καρκίνος παγκρέατος

Μελέτες έχουν δείξει την έκφραση KISS1 και KISS1R στα παγκρεατικά νησίδια, στα ενδοκρινή κύτταρα α και β, καθώς και τον ρόλο τους στην έκκριση ινσουλίνης. Οι Masui και συνεργάτες μελέτησαν την έκφραση του KISS1 και του υποδοχέα του KISS1R σε καρκινικούς και φυσιολογικούς παγκρεατικούς ιστούς. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα KISS1 ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε

καρκινικούς ιστούς συγκριτικά με φυσιολογικούς ιστούς, ενώ η έκφραση του υποδοχέα KISS1R ήταν επίσης χαμηλότερη σε σχέση με αυτήν σε φυσιολογικούς ιστούς (281,282). Επιπρόσθετα η χορήγηση εξωγενούς μεταστίνης σε κύτταρα της καρκινικής σειράς PANC-1 κατέστειλε σημαντικά την *in vitro* μεταναστευτική ικανότητα των κυττάρων αυτών χωρίς να επηρεάσει τον πολλαπλασιασμό τους (282). Ανάλογα συμπεράσματα με τα παραπάνω είχε και η έρευνα των Nagai και συνεργατών(283), οι οποίοι μελέτησαν με την τεχνική της ανοσοϊστοχημείας την έκφραση της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της σε καρκινικούς ιστούς προερχόμενους από 53 ασθενείς με καρκίνο παγκρέατος. Βρέθηκε ότι οι όγκοι που ήταν αρνητικοί ως προς την έκφραση της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της ήταν σημαντικά μεγαλύτεροι από τους όγκους με θετική έκφραση κισπεπτίνης. Επιπλέον η ισχυρότερη έκφραση της kisspeptin και του υποδοχέα της βρέθηκε να σχετίζεται με μεγαλύτερη επιβίωση και λιγότερες υποτροπές, έτσι ώστε η έκφραση της κισπεπτίνης (Kp54) να αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την επιβίωση του ασθενούς. Στην ίδια μελέτη, σε 23 ασθενείς μετρήθηκαν τα επίπεδα της κισπεπτίνης στο πλάσμα. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στην συνολική επιβίωση μεταξύ ασθενών με υψηλή ή χαμηλή τιμή κισπεπτίνης πλάσματος. Ωστόσο παρατηρήθηκε μηδενική θνησιμότητα μετά την χειρουργική επέμβαση σε ασθενείς που είχαν υψηλά επίπεδα κισπεπτίνης πλάσματος σε σχέση με αυτούς με χαμηλότερα επίπεδα (283).

Καρκίνος παχέος εντέρου

Ερευνώντας την έκφραση της κισπεπτίνης, KISS1 και του υποδοχέα KISS1R σε ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου, φάνηκε μείωση της έκφρασης του KISS1 σε καρκινικό ιστό σε σύγκριση με φυσιολογικό ιστό (284). Η χαμηλή έκφραση KISS1 σχετίζεται με πτωχότερη πρόγνωση και εμφάνιση λεμφαδενικής μετάστασης στον καρκίνο του παχέος εντέρου (258, 259), οδηγώντας τους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι η χαμηλή έκφραση του KISS1 αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για τον καρκίνο παχέος εντέρου. Επιπλέον φάνηκε ότι η έκφραση του KISS1 είναι ισχυρότερη στα αρχικά στάδια και μειώνεται σε προχωρημένα στάδια του όγκου. (258,259,284)

Στην μελέτη από τους Canbay και συνεργάτες μετρήθηκε η τιμή κισπεπτίνης Kp-54 στο πλάσμα σε 81 ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα της Kp-54 ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με καρκίνο παχέος εντέρου από ότι σε φυσιολογικά άτομα (285). Επιπλέον η μελέτη αυτή βρήκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της τιμής πλάσματος της κισπεπτίνης με την εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων (285). Η υπερέκφραση του KISS1 φαίνεται να μειώνει την διεισδυτικότητα των καρκινικών κυττάρων στο παχύ έντερο μειώνοντας την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών εξωκυττάριας ουσίας τύπου 9 (MMP-9) μέσω αναστολής του μονοπατιού PI3K/Akt/NF-κB. Τέλος η κισπεπτίνη επάγει την έκφραση της κυτοκίνης EMAP-II in vitro σε κυτταρικές σειρές αλλά και in vivo σε καρκινικούς ιστούς, καταστέλλοντας έτσι την μεταστατική δράση του καρκίνου του παχέος εντέρου (286).

Καρκίνος οισοφάγου

Οι μελέτες της έκφρασης της κισπεπτίνης στον καρκίνο του οισοφάγου είναι γενικά περιορισμένες. Στην μελέτη των Ikeguchi και συνεργατών βρέθηκαν παρόμοια επίπεδα mRNA της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της σε δείγματα οισοφαγικού ιστού με πλακώδη καρκίνο του οισοφάγου, σε σύγκριση με φυσιολογικό ιστό οισοφάγου.

Ωστόσο παρατηρήθηκε ότι η απώλεια έκφρασης του KISS1 και του υποδοχέα KISS1R στους ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα οισοφάγου, συσχετίζονταν θετικά με αυξημένη παρουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων και χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης, ανεξάρτητα από το μέγεθος ή τον βαθμό διείσδυσης του όγκου (287).

Τα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης ήταν σημαντικά υψηλότερα (68%) σε ασθενείς με πλακώδη καρκίνο του οισοφάγου οι οποίοι είχαν διατηρήσει την έκφραση των KISS1 και KISS1R, σε σύγκριση με τους αντίστοιχους ασθενείς με καρκίνο και συνοδό απώλεια της έκφρασης του KISS1 ή /και KISS1R (31%) (287). Έχει προταθεί μάλιστα από τους ερευνητές η χρήση της έκφρασης των KISS1 και KISS1R ως δείκτη πρόβλεψης δημιουργίας μεταστάσεων σε ασθενείς με πλακώδες καρκίνωμα οισοφάγου. Έχει διαπιστωθεί ότι η εισαγωγή του γονιδίου Kiss-1 στην καρκινική κυτταρική σειρά πλακώδους καρκινώματος

EC-1 αυξάνει την ικανότητα διείσδυσης και τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων (258,259).

Καρκίνος στομάχου

Σε ασθενείς με καρκίνο στομάχου έχει διαπιστωθεί αυξημένη τιμή κισπεπτίνης (Kp-54) στο πλάσμα κατά την αρχική διάγνωση, με αποτέλεσμα κάποιοι ερευνητές να έχουν προτείνει την κισπεπτίνη ως διαγνωστικό δείκτη για τον καρκίνο στομάχου (288).

Όπως δείχνουν πρόσφατες έρευνες, η KISS1 μέσω μηχανισμού σηματοδότησης του p38 MAPK μονοπατιού και προς τα κάτω ρύθμισης των μεταλλοπρωτεϊνών-9, οδηγεί τελικά σε καταστολή της κινητικότητας, χημειοταξίας και διείσδυσης των στομαχικών καρκινικών κυττάρων. Χαμηλή έκφραση της KISS1 σχετίζεται με συχνή δημιουργία μεταστάσεων και υποτροπή του καρκίνου. Υπερέκφραση της πρωτεΐνης KISS1 αναστέλλει την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό και τη διείσδυση των στομαχικών καρκινικών κυττάρων φανερώνοντας την ενδεχόμενη αντιμεταστατική δράση της κισπεπτίνης (288, 289).

Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα

Αρκετές μελέτες έχουν ερευνήσει την κλινική σημασία της έκφρασης της κισπεπτίνης στον μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα με αντικρουόμενα συμπεράσματα. Σε κάποιες μελέτες δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά στην τιμή κισπεπτίνης πλάσματος μεταξύ ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα συγκριτικά με υγιή άτομα, καθώς και σε ασθενείς με αρχικό ή προχωρημένο καρκίνο (290).

Σε αντίθεση με τα παραπάνω αποτελέσματα, άλλες μελέτες αναφέρουν ότι η σημαντικά χαμηλή έκφραση της KISS1 συσχετίζεται με πρόοδο του συγκεκριμένου καρκίνου σε προχωρημένα στάδια και δημιουργία λεμφαδενικών μεταστάσεων (258, 259, 290).

Καρκίνος νεφρού

Μελέτες σε σειρές καρκινικών νεφρικών κυττάρων έδειξαν ότι η κισπεπτίνη μπορεί να καταστείλει την μεταναστευτική ικανότητα και ικανότητα προσκόλλησης των καρκινικών κυττάρων χωρίς όμως να μειώνει τον πολλαπλασιασμό τους. Επίσης ο υποδοχέας KISS1R υπερεκφράζεται σε δείγματα νεφρικού καρκινικού ιστού σε σύγκριση με φυσιολογικό νεφρικό παρέγχυμα (258, 259, 291).

Καρκίνος ουροδόχου κύστεως

Το φυσιολογικό ουροθήλιο χαρακτηρίζεται από ισχυρή έκφραση της KISS1, σε αντίθεση με τα καρκινικά κύτταρα ουροδόχου κύστεως, στα οποία παρατηρείται χαμηλή έως και απώλεια της έκφρασης της KISS1. Επιγενετικές μεταβολές του γονιδίου *KISS1*, λόγω υπερμεθυλίωσης, έχουν ενοχοποιηθεί για την μείωση της έκφρασής του στον ουροθηλιακό καρκίνο της ουροδόχου κύστεως (292, 293). Οι Sanchez-Carbayo και συνεργάτες αναφέρουν απώλεια του γονιδίου KISS1 σε πιο προχωρημένα στάδια του καρκίνου καθώς και αρνητική συσχέτιση των επιπέδων του KISS1 με την επιβίωση των ασθενών (293). Από ορισμένους ερευνητές έχει προταθεί ότι η έκφραση του KISS1 αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα για την συνολική επιβίωση και την πιθανότητα εμφάνισης μεταστάσεων στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως (292,293).

Καρκίνος ενδομητρίου

Η έκφραση του υποδοχέα KISS1R έχει παρατηρηθεί σε καρκινικά κύτταρα ενδομητρίου, καθώς και στο ενδομήτριο γυναικών που πάσχουν από ενδομητρίωση. Επιθετικοί καρκίνοι ενδομητρίου παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα υποδοχέα KISS1R (258,259,294).

Απώλεια έκφρασης του υποδοχέα KISS1R στον καρκίνο του ενδομητρίου θεωρείται ότι σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση, ενώ αντίθετα υπερέκφραση του KISS1R σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση.

Πρόσφατη έρευνα σε πειραματικό μοντέλο με ποντίκια έδειξε, ότι η εξωγενής χορήγηση κισπεπτίνης (Kp-10) αναστέλλει την λεμφαδενική μετάσταση από τον

καρκίνο ενδομητρίου στον οποίο απουσιάζει ο υποδοχέας KISS1R, υποδηλώνοντας ότι η δράση της KISS1 επιτυγχάνεται μέσω άλλου διαφορετικού υποδοχέα. Παρά την παρατήρηση αυτή, φάνηκε ωστόσο ότι η σηματοδότηση του συμπλέγματος KISS1/KISS1R κατάφερε να αναστείλει την δημιουργία μετάστασης και να βελτιώσει την πρόγνωση του καρκίνου του ενδομητρίου (258, 259, 294).

Καρκίνος ωοθηκών

Ο ρόλος της κισπεπτίνης στον καρκίνο των ωοθηκών παραμένει σχετικά ασαφής, καθώς υπάρχουν μελέτες με διαφορετικά και αντικρουόμενα αποτελέσματα. Η συγκέντρωση της κισπεπτίνης στο πλάσμα είναι υψηλότερη σε αρχικού σταδίου καρκίνο ωοθηκών (295), ενώ επίσης ανοσοϊστοχημική ανάλυση διαπίστωσε ότι η χαμηλή έκφραση KISS1 σχετίζεται με πτωχότερη πρόγνωση (258, 295).

Αντίθετα αρκετές άλλες μελέτες αναδεικνύουν τον ρόλο της KISS1 και του υποδοχέα της KISS1R στην καταστολή της μετάστασης του καρκίνου των ωοθηκών. Η υπερέκφραση των KISS1 και KISS1R στον ωοθηκικό καρκίνο, πιθανώς μειώνοντας την δράση μεταλλοπρωτεϊνών-9 (MMP-9) και του παράγοντα NF-κΒ, εμποδίζει την ανάπτυξη όγκου, μειώνει την μεταναστευτική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων και καταστέλλει την μετάσταση (296, 297).

Καρκίνος θυρεοειδούς

Τα δεδομένα για την δράση της κισπεπτίνης στον καρκίνο θυρεοειδούς είναι σχετικά περιορισμένα. Στην μελέτη των Ringel και συνεργατών (298) φάνηκε αυξημένη έκφραση του υποδοχέα KISS1R στον θηλώδη καρκίνο θυρεοειδούς σε σχέση με τον φυσιολογικό θυρεοειδικό ιστό, φανερώνοντας μια ενδεχόμενη επίδραση της κισπεπτίνης στην βιολογική συμπεριφορά του καρκίνου του θυρεοειδούς (298).

Σε άλλη μελέτη από τους Savvidis και συνεργάτες (299), παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση της KISS1 στον διαφοροποιημένο καρκίνο θυρεοειδούς με εξωθυρεοειδική επέκταση σε σύγκριση με τον εντοπισμένο θυρεοειδικό

καρκίνο. Επιπλέον η αυξημένη έκφραση της κισπεπτίνης συσχετίστηκε με προχωρημένο στάδιο του καρκίνου, καθώς και με το μικρότερο μέγεθος του όγκου (299).

Οι Stathatos και συνεργάτες ανέφεραν ότι η χορήγηση εξωγενούς κισπεπτίνης σε θυρεοειδικά καρκινικά κύτταρα που υπερεκφράζουν τον υποδοχέα KISS1R αναστέλλει την ανάπτυξη και μετανάστευση των κυττάρων αυτών (300).

Οστεοσάρκωμα

Δεδομένα από πρόσφατες έρευνες παρουσιάζουν την πιθανή δράση της KISS1 στην καταστολή της μετάστασης σε ασθενείς με οστεοσάρκωμα (301).

Παρατηρήθηκε ότι όσο πιο απομακρυσμένη ήταν η μετάσταση από το οστεοσάρκωμα, τόσο χαμηλότερη ήταν η έκφραση της κισπεπτίνης στα καρκινικά μεταστατικά κύτταρα. Η έκφραση του mRNA KISS1 μειωνόταν, όσο αυξανόταν η διεισδυτική και μεταναστευτική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων του οστεοσαρκώματος (301). Εισαγωγή KISS1 σε κύτταρα οστεοσαρκώματος προκάλεσε απώλεια της ικανότητας των κυττάρων να επεκταθούν σε άλλους ιστούς, αλλά και καταστολή στην ικανότητα πολλαπλασιασμού τους (301). Οι ερευνητές αναφέρουν ότι τα καρκινικά κύτταρα οστεοσαρκώματος πιθανώς χρησιμοποιούν την αύξηση της έκφρασης της KISS1 ως αμυντικό μηχανισμό (301).

Φαιοχρωμοκύττωμα

Στην μελέτη από τους Ohta και συνεργάτες αναφέρεται, ότι η μειωμένη ή χαμηλή έκφραση του KISS1 σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα κακοήθειας του φαιοχρωμοκυττώματος (302).

ΚΙΣΠΕΠΤΙΝΗ (KISS1) ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Φυσιολογικός Προστάτης – Καλοήθης Υπερπλασία Προστάτη

Οι αρχικές έρευνες που διεξήχθησαν μελετώντας την δράση της κισπεπτίνης στον προστατικό αδένα κατάφεραν να ανιχνεύσουν mRNA του υποδοχέα GPR54 (KISS1R) στον ανθρώπινο προστατικό ιστό, με την μέθοδο της ποσοτικής αντίστροφης τρανσκριπτάσης - αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (quantitative RT- PCR) (234, 303-305).

Ωστόσο οι έρευνες αυτές είχαν αντικρουόμενα αποτελέσματα σχετικά με την έκφραση του KISS1 στον προστατικό ιστό. Συγκεκριμένα η έρευνα των Muir και συνεργατών (234) δεν διαπίστωσε έκφραση της KISS1 στον προστάτη, ενώ η έρευνα από τους Ohtaki και συνεργάτες (303) μπόρεσε να ανιχνεύσει έκφραση KISS1 αλλά σε πολύ χαμηλά επίπεδα (234,303).

Οι μελέτες που ακολούθησαν τα επόμενα χρόνια ανέδειξαν ισχυρή έκφραση της KISS1 στον φυσιολογικό προστατικό ιστό και στον προστάτη με καλοήγη υπερπλασία (304,305). Οι Wang και συνεργάτες εξέτασαν την έκφραση της KISS1 σε 253 δείγματα προστατικού ιστού (καρκινικού και φυσιολογικού ιστού). Ο φυσιολογικός προστατικός ιστός, αλλά και ο ιστός με καλοήγη υπερπλασία παρουσίασαν ισχυρή έκφραση του KISS1 τόσο με κυτταροπλασματική όσο και πυρηνική εντόπιση (304).

Καρκίνος προστάτη

Μεταξύ άλλων καρκίνων διαφόρων οργάνων έχει μελετηθεί ο ρόλος της κισπεπτίνης και στον καρκίνο προστάτη. Αξίζει ωστόσο να αναφερθεί ότι ο αριθμός των ερευνών αυτών είναι αρκετά περιορισμένος, πολύ περισσότερο εάν συγκριθεί με τις έρευνες που αφορούν την σχέση της κισπεπτίνης με άλλες μορφές κακοήθειας.

Οι μελέτες μέχρι τώρα κατατάσσουν τον ρόλο της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της ως παράγοντα καταστολής της μετάστασης στον καρκίνο προστάτη. Στην μελέτη των Wang και συνεργατών η ανοσοϊστοχημική εξέταση έδειξε χαμηλή έκφραση KISS1 με προοδευτική περαιτέρω μείωση της

έκφρασης όσο αυξάνονταν το Gleason score και ο βαθμός διαφοροποίησης (Grade) του πρωτοπαθούς κακοήθους όγκου προστάτη. Απώλεια έκφρασης παρατηρήθηκε σε μεταστατικό καρκίνο προστάτη (304).

Η κλίμακα έκφρασης του KISS1 χαρακτηριζόταν ως αρνητική (≤ 0.3), χαμηλή (0.3 έως 1.5), ισχυρή (≥ 1.5) (304). Η έκφραση KISS1 ήταν σημαντικά μικρότερη σε μεταστατικό καρκίνο από ότι σε αρχικά στάδια πρωτοπαθούς όγκου, δείχνοντας ότι η απώλεια έκφρασης του KISS1 σχετίζεται με την πρόοδο του καρκίνου. Η έκφραση του υποδοχέα KISS1R ήταν χαμηλής έντασης σε φυσιολογικό προστατικό ιστό, ενώ μειωμένη έκφραση του KISS1R ήταν σε πρωτοπαθή και μεταστατικό καρκινικό ιστό (304).

Εισάγοντας το πεπτίδιο KISS1 σε σειρές καρκινικών κυττάρων διαφορετικού μεταστατικού δυναμικού (DU-145, MDA-PC-2b, PC-3, PC-3M) οι ερευνητές παρατήρησαν μείωση έκφρασης του KISS1/KISS1R αναλόγως με το μεταστατικό δυναμικό της κάθε κυτταρικής σειράς. Η κυτταρική σειρά PC3M η οποία είχε και το υψηλότερο μεταστατικό δυναμικό εμφάνισε την πιο χαμηλή έκφραση KISS1/KISS1R (304).

Μελετώντας τον μηχανισμό μέσω του οποίου το σύστημα KISS1/KISS1R καταστέλλει την μεταστατική διαδικασία στον καρκίνο του προστάτη, έχει παρατηρηθεί ότι η έκφραση του KISS1 μεταξύ άλλων αναστέλλει την ανεξάρτητη αγκυροβόλησης ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων, η οποία όπως είναι γνωστό αποτελεί σημαντικό στάδιο στην δημιουργία μετάστασης. Επιπλέον η έκφραση του KISS1 δεν επηρεάζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ωστόσο βοηθά την ευαισθητοποίηση των κυττάρων στην απόπτωση (304).

Η εισαγωγή KISS1 σε προστατικά καρκινικά κύτταρα PC-3M οδήγησε σε μείωση της κινητικότητας, μεταναστευτικής ικανότητας και διεισδυτικότητας των καρκινικών κυττάρων, μειώνοντας επομένως την ικανότητα των καρκινικών κυττάρων για μετάσταση (304).

Στην μελέτη τους (306) οι ερευνητές Kim και συνεργάτες έδειξαν ότι αυτή η μείωση κινητικότητας και διεισδυτικότητας των καρκινικών κυττάρων πραγματοποιείται πιθανώς μέσω της ενεργοποίησης του μονοπατιού EIF2AK2 (Eukaryotic Translation Initiation Factor 2α Kinase 2). Όπως φάνηκε στην συγκεκριμένη μελέτη, η κισπεπτίνη και η σηματοδότηση του KISS1R στα προστατικά καρκινικά κύτταρα μεταξύ άλλων, ενεργοποιεί τον παράγοντα EIF2AK2, μεταβάλλοντας έτσι την κυτταροσκελετική δυναμική με αποτέλεσμα

την αναστολή της κινητικότητας, διεισδυτικότητας και τελικά της ικανότητας των καρκινικών κυττάρων για μετανάστευση (306).

Επιπλέον η μελέτη από τους Cho και συνεργάτες κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κισπεπτίνη Kp-10 καταστέλλει την ανάπτυξη του καρκίνου και της μετάστασης αυτού, εμποδίζοντας την αγγειογένεση του όγκου (νέο-αγγείωση). Συγκεκριμένα η κισπεπτίνη Kp-10 εμποδίζει εκλεκτικά μέσω του Sp-1 την έκφραση του παράγοντα VEGF και κατ' επέκταση την ενεργοποίηση των παραγόντων FAK and Rac1/Cdc42 στα κύτταρα του ενδοθηλίου (307).

Εκτός από το κυτταρικό επίπεδο της μείωσης κινητικότητας - διεισδυτικότητας και μεταναστευτικής ικανότητας των καρκινικών κυττάρων, ο ρόλος της κισπεπτίνης στην καταστολή της μετάστασης στον καρκίνο του προστάτη επεκτείνεται και στην προαγωγή της χημειοευαισθησίας των προστατικών καρκινικών κυττάρων.

Συγκεκριμένα στην μελέτη των Wang και συνεργατών, μελετήθηκε η δράση της πακλιταξέλης σε καρκινικά κύτταρα PC3M χωρίς έκφραση KISS1 καθώς και σε κύτταρα PC3M μετά από εισαγωγή KISS1. Παρατηρήθηκε ότι η πακλιταξέλη μείωσε τον αριθμό των ζωντανών καρκινικών κυττάρων τα οποία χαρακτηρίζονταν από ισχυρή έκφραση KISS1. Κατά συνέπεια φαίνεται ότι η υπερέκφραση του KISS1 αυξάνει την χημειοευαισθησία των καρκινικών κυττάρων απέναντι σε παράγοντες όπως για παράδειγμα η πακλιταξέλη. Το συμπέρασμα αυτό έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία καθώς η χημειοθεραπεία, ειδικότερα η πακλιταξέλη, αποτελεί σήμερα μια σημαντική θεραπευτική επιλογή σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες αντιμετώπισης του μεταστατικού καρκίνου προστάτη (304).

Στην μελέτη των Curtis και συνεργατών μετρήθηκαν οι τιμές κισπεπτίνης πλάσματος σε 92 ασθενείς με καρκίνο προστάτη καθώς επίσης και σε 73 ασθενείς (ομάδα ελέγχου) χωρίς καρκίνο προστάτη, αλλά με κακοήθεια σε κάποιο άλλο όργανο. Με ραδιοανοσολογική ανάλυση (μέθοδο RIA) μετρήθηκαν οι τιμές κισπεπτίνης και στις δύο ομάδες ασθενών. Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στα επίπεδα κισπεπτίνης πλάσματος στον καρκίνο προστάτη. Επιπλέον δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των τιμών PSA και κισπεπτίνης στο πλάσμα ασθενών με καρκίνο προστάτη (305).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση της έκφρασης της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της GPR54 ή KISS1R στον καρκίνο προστάτη.

ΥΛΙΚΟ

Για την διενέργεια της παρούσας μελέτης συλλέχθηκαν και εξετάσθηκαν συνολικά 186 ιστολογικά δείγματα καρκίνου προστάτη. Τα δείγματα προέρχονται από χειρουργικά παρασκευάσματα ανοικτής ριζικής προστατεκτομής ασθενών με εντοπισμένο καρκίνο προστάτη. Οι ασθενείς με εντοπισμένο καρκίνο προστάτη και μετά από σταδιοποίηση σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της ευρωπαϊκής ουρολογικής εταιρείας, υποβλήθηκαν σε ανοικτή ριζική προστατεκτομή, χωρίς να έχουν λάβει οποιοδήποτε άλλο είδος θεραπείας όπως ορμονοθεραπεία ή ακτινοβολία, πριν την προστατεκτομή. Το εύρος ηλικίας των ασθενών ήταν από 51 έως 78 έτη, ενώ ο μέσος όρος ηλικίας ήταν 65.4 έτη.

Οι χειρουργικές επεμβάσεις ριζικής προστατεκτομής πραγματοποιήθηκαν από έμπειρους χειρουργούς ουρολόγους του Ουρολογικού Τμήματος του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός» και οι ιστολογικές εξετάσεις διενεργήθηκαν από το Παθολογοανατομικό Τμήμα του ίδιου Νοσοκομείου. Η περαιτέρω μελέτη των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ). Η χρήση του υλικού έγινε μετά από άδεια από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας της Ιατρικής σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η επεξεργασία των δειγμάτων της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε με την διενέργεια ανοσοϊστοχημικής χρώσης σε τομές παραφίνης χρησιμοποιώντας το αυτοματοποιημένο σύστημα Bondmax (Leica Microsystems, New Castle, UK).

Ανοσοϊστοχημεία – Επιλογή της μεθόδου

Η επιλογή της μεθόδου της ανοσοϊστοχημείας για την διαπίστωση της έκφρασης των μελετώμενων πρωτεϊνών έγινε λόγω των σημαντικών πλεονεκτημάτων που εμφανίζει. Πιο συγκεκριμένα η ανοσοϊστοχημεία έχει πολύ ικανοποιητική ευαισθησία και ειδικότητα, ενώ η τελική εκτίμηση του αποτελέσματος γίνεται και με απλό μικροσκόπιο. Καθώς εφαρμόζεται σε μονιμοποιημένους σε φορμόλη και εγκλεισμένους σε παραφίνη ιστούς δίνει την δυνατότητα διεξαγωγής αναδρομικών μελετών αφού μπορεί να χρησιμοποιείται και σε αρχειακό υλικό ακόμα και μετά την παρέλευση μεγάλου χρονικού διαστήματος. Μπορεί να επαναληφθεί, επιτρέπει τη μορφολογική μελέτη των κυττάρων, επιτρέπει τη διάκριση της χρώσης των νεοπλασματικών από μη-νεοπλασματικά κύτταρα. Είναι συμβατή με όλα σχεδόν τα μονιμοποιητικά υλικά που χρησιμοποιούνται σήμερα, δίνει μόνιμα αποτελέσματα και επιτρέπει την επανεκτίμησή τους, καθώς η χρώση στις τελικές θέσεις αντίδρασης δεν εξασθενεί ιδιαίτερα με την πάροδο του χρόνου. Επιπλέον δίνει αποτελέσματα και σε υλικά που έχουν υποστεί αυτόλυση ή ακόμα και νέκρωση. Εφαρμόζεται με πολύ καλά αποτελέσματα σε κυτταρολογικό υλικό και σε υλικό για ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (308-310)

Η ανοσοϊστοχημεία αποτελεί μέθοδο εντοπισμού και ανάλυσης πρωτεϊνών στα κύτταρα μιας τομής ιστού με βάση την αρχή της ειδικής πρόσδεσης αντισωμάτων σε αντιγόνα των βιολογικών ιστών. Με την ανοσοϊστοχημεία μπορούν να ανιχνευτούν ταυτόχρονα στην ίδια τομή ιστού περισσότερα του

ενός αντιγόνου. Τα αντισώματα συνδέονται με χρωστικές που καθιστούν ορατές τις θέσεις που εντοπίζονται τα αντιγόνα αυτά.

Σήμερα χρησιμοποιούνται οι λεγόμενες ανοσοενζυμικές μέθοδοι, οι οποίες βασίζονται στις χημικές ιδιότητες των ενζύμων ή ενζυμικών συμπλεγμάτων. Αυτά αντιδρούν με άχρωμα υποστρώματα χρωμογόνων ενώσεων για το σχηματισμό ενός χρωματισμένου τελικού προϊόντος. Τα πιο κοινά ένζυμα για την εφαρμογή αυτών των μεθόδων είναι η υπεροξειδάση του υδρογόνου, η αλκαλική φωσφατάση καθώς και η οξειδάση της γλυκόζης.

Οι πιο σημαντικές μέθοδοι είναι η μέθοδος ανοσοϋπεροξειδάσης, η μέθοδος συμπλέγματος αβιδίνης – βιοτίνης (ABC) και η μέθοδος στρεπταβιδίνης-βιοτίνης (B-SA, Biotin Streptavidin).

Με την χρήση του ενζύμου της υπεροξειδάσης υδρογόνου, η χρώση επιτυγχάνεται λόγω της ικανότητας της υπεροξειδάσης να μετατρέπει το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε νερό ($H_2O_2 \rightarrow H_2O$), παρουσία δότη ηλεκτρονίων και να οξειδώνει το χρωμογόνο (διαμινοβενζιδίνη - DAB) σε μία χρωματισμένη μορφή.

Αναλυτική μεθοδολογία της παρούσας μελέτης

Στην παρούσα μελέτη τα μονιμοποιημένα σε φορμαλδεΰδη δείγματα με καρκίνο προστάτη ενσωματώθηκαν σε παραφίνη και ακολούθως υποβλήθηκαν σε μικροτομές πάχους 3μm με μικροτόμο. Στην συνέχεια τα δείγματα προσκολλήθηκαν σε γυάλινα πλακίδια, υπέστησαν ξήρανση, στέγνωμα στους 370 C για 16 h, αποπαραφινώθηκαν σε ξυλόλη και επανυδατώθηκαν σε διαδοχικές αραιώσεις αιθανόλης.

Ακολούθησε ανοσοϊστοχημική χρώση των μονιμοποιημένων δειγμάτων στο αυτοματοποιημένο σύστημα Bondmax (Leica Microsystems, NewCastle, UK), Η ανοσοανίχνευση της KISS-1 πραγματοποιήθηκε με το μονοκλωνικό αντίσωμα FL-145 σε αραιώση 1:150 σε PBS, ενώ η ανοσοανίχνευση του υποδοχέα GPR54 (KISS1R) έγινε με το πολυκλωνικό αντίσωμα anti-AXOR12/ GPR54 σε αραιώση 1:1000.

Οι χρωματισμένες πλέον ιστικές τομές αναλύονταν με οπτικό μικροσκόπιο και λαμβάνονταν φωτογραφίες με ψηφιακή κάμερα PENTAX ZX-50 ASAHI εγκατεστημένη στο μικροσκόπιο. Οι έγχρωμες ψηφιακές φωτογραφίες (RGB) αποθηκεύονταν ως αρχεία TIFF, χωρίς συμπίεση.

Έλεγχος για την ειδικότητα των ανοσοαντιδράσεων που ελάμβαναν χώρα στις ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις πραγματοποιούνταν με παράλειψη των πρώτων αντισωμάτων από τα πλακίδια ελέγχου (negative control). Επιπλέον, ως θετικοί μάρτυρες για τα δύο αντισώματα χρησιμοποιήθηκαν ιστοί προερχόμενοι από πλακούντα. Πλακίδια ελέγχου περιλαμβάνονταν σε όλες τις ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις, ενώ η ταυτότητα των δειγμάτων αποκρυπτόταν από τον ερευνητή που εκτελούσε τις ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις.

Η έκφραση της κισπεπτίνης αξιολογήθηκε με την κυτταροπλασματική έκφραση, ενώ η έκφραση του υποδοχέα GPR54 (KISS1R) αξιολογήθηκε με βάση την σχέση κυτταροπλασματικής/μεμβρανώδους έκφρασης. Ο καθορισμός της πρωτεϊνικής ανοσοαντίδρασης έγινε με το Histo score (H-score). Ημιποσοτική μέτρηση της έντασης της χρώσης αλλά και του ποσοστού των θετικών κυττάρων χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του H-score. Η ένταση της πρωτεϊνικής χρώσης αξιολογήθηκε ως αδύναμη (1+), μέτριας έντασης (2+) και ισχυρή χρώση (3+). Εικόνες ανοσοϊστοχημείας 1 και 2.

Το ποσοστό των θετικών κυττάρων μετρήθηκε σε κάθε δείγμα. Το τελικό σκόρ με εύρος από 0 έως 300, διαμορφώθηκε με τον παρακάτω υπολογισμό:

$1 \times (\text{επί τοις εκατό \% των } 1 + \text{ κυττάρων}) + 2 \times (\text{επί τοις εκατό \% των } 2 + \text{ κυττάρων}) + 3 \times (\text{επί τοις εκατό \% των } 3 + \text{ κυττάρων})$. Το επίπεδο της αντίστοιχης έκφρασης της πρωτεΐνης αξιολογήθηκε ως «χαμηλό» ή «υψηλό» σύμφωνα με την μέση τιμή του H-score.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Το τεστ Kolmogorov-Smirnov χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση και αξιολόγηση της φυσιολογικής κατανομής σε όλα τα δεδομένα.

Για την φυσιολογική κατανομή έγινε σύγκριση χρησιμοποιώντας παραμετρικά τεστ ενώ για την μη φυσιολογική κατανομή έγιναν μη-παραμετρικά τέστ.

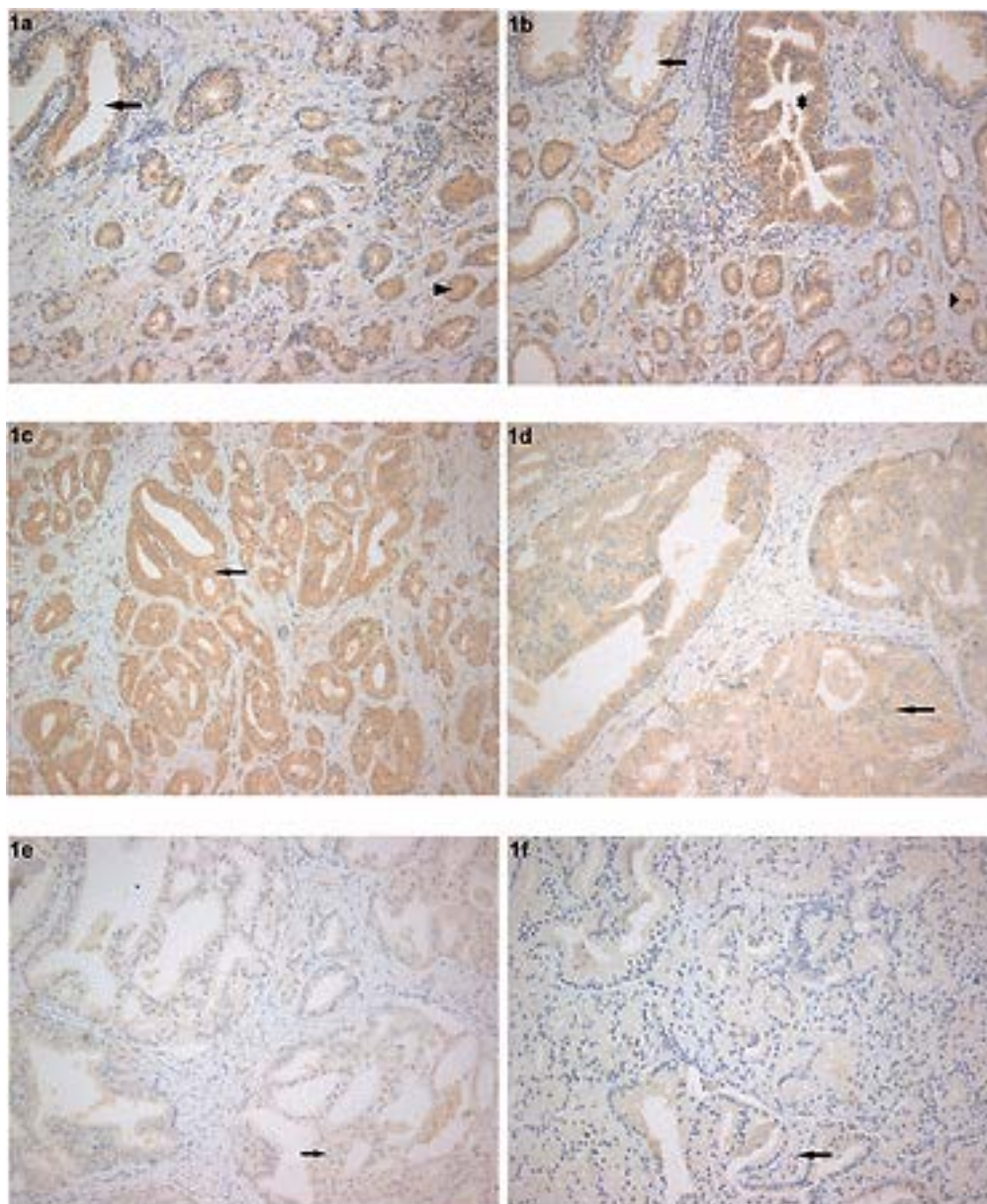
Ο συντελεστής συσχέτισης Spearman χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογήσει τις σχέσεις μεταξύ των διαφόρων μεταβλητών. Οι συγκρίσεις της έκφρασης του KISS1 ή της έκφρασης του υποδοχέα KISS1R μεταξύ των διαφόρων χαρακτηριστικών της μελέτης πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το Mann–Whitney U τέστ. Η τιμή p μικρότερη του 0.05 ($p < 0.05$) θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η ανοσοϊστοχημική απεικόνιση της έκφρασης της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) εμφανίζεται στις Εικόνες ανοσοϊστοχημείας 1 και 2.

Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται συγκεντρωτικά η έκφραση της κισπεπτίνης KISS1 και του υποδοχέα KISS1R σε σχέση με τα παθολογοανατομικά και άλλα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών της μελέτης.

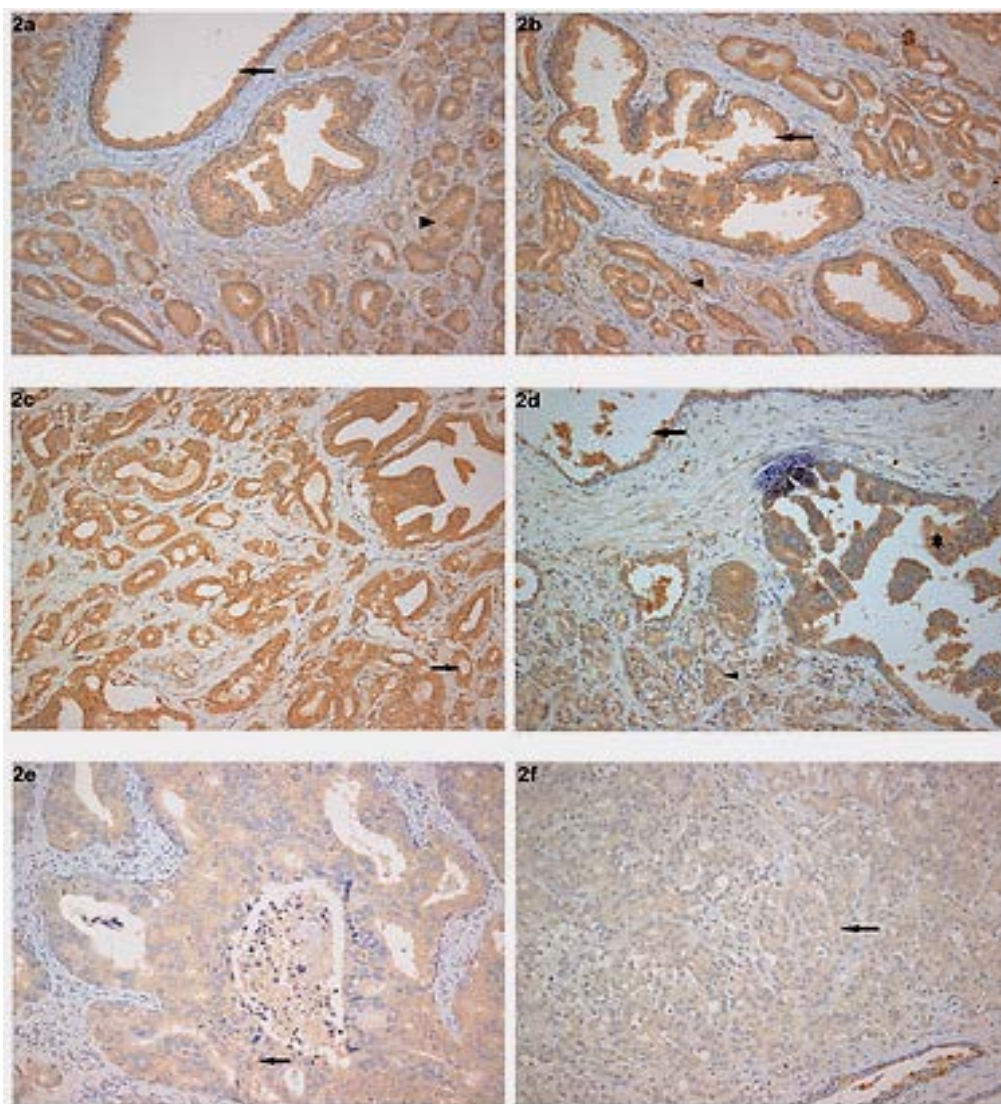
Εικόνα ανοσοϊστοχημείας 1.



Εικόνα ανοσοϊστοχημείας 1

A. Ισχυρή ανοσοϊστοχημική έκφραση (AE) του KISS1 στο φυσιολογικό προστατικό επιθήλιο (βέλος) και στην ομάδα Gleason Group I προστατικού καρκίνου (κεφαλή βέλους), B. Ισχυρή AE του KISS1 σε φυσιολογικό επιθήλιο (βέλος), υψηλόβαθμη PIN (αστερίσκος), ομάδα προστατικού καρκίνου Gleason Group I (κεφαλή βέλους), C. Ισχυρή AE του KISS1 σε ομάδα προστατικού καρκίνου Gleason Group I (βέλος), D. Μέτρια AE του KISS1 σε ομάδα Gleason Group IV προστατικού καρκίνου (βέλος), E. αρνητική και εστιακά αδύναμη AE του KISS1 σε ομάδα Gleason Group IV προστατικού καρκίνου (βέλος), F. αρνητική και εστιακά αδύναμη AE του KISS1 σε ομάδα Gleason Group V (βέλος), μεγέθυνση όλων x200.

Εικόνα ανοσοϊστοχημείας 2.



Εικόνα ανοσοϊστοχημείας 2

A. Ισχυρή ανοσοϊστοχημική έκφραση (AE) του υποδοχέα KISS1R στο φυσιολογικό προστατικό επιθήλιο (βέλος) και στην ομάδα Gleason Group I προστατικού καρκίνου (κεφαλή βέλους). B. Ισχυρή AE του υποδοχέα KISS1R σε φυσιολογικό προστατικό επιθήλιο (βέλος), ομάδα προστατικού καρκίνου Gleason Group I (κεφαλή βέλους), C. Ισχυρή AE του KISS1R σε ομάδα προστατικού καρκίνου Gleason Group II (βέλος), D. Ισχυρή AE του υποδοχέα KISS1R σε φυσιολογικό προστατικό επιθήλιο (βέλος) και υψηλόβαθμη PIN (αστερίσκος), μέτρια AE του KISS1R σε ομάδα Gleason Group II προστατικού καρκίνου (κεφαλή βέλους), E. Αδύναμη AE του KISS1R σε ομάδα Gleason Group IV προστατικού καρκίνου (βέλος), F. Αρνητική έως αδύναμη AE του KISS1R σε ομάδα Gleason Group V προστατικού καρκίνου (βέλος), μεγέθυνση όλων x200.

Πίνακας 16. Συσχέτιση της έκφρασης KISS1 και KISS1R με κλινικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά (N=186)			
		Έκφραση KISS1	Έκφραση KISS1R
Gleason Score^b			
6	17 (9.1%)	$r=-0.413$; $p<0.001^a$	$r=-0.470$; $p<0.001^a$
7	141 (75.8%)		
8	12 (6.5%)		
9	16 (8.6%)		
Gleason Group (ISUP 2014)			
I	17 (9.1%)	$r=-0.753$; $p<0.001^a$	$r=-0.767$; $p<0.001^a$
II	68 (36.6%)		
III	73 (39.2%)		
IV	12 (6.5%)		
V	16 (8.6%)		
Παθολογοανατομικό Στάδιο (AJCC)^b			
IIa	9 (4.8%)	$r=-0.440$; $p<0.001^a$	$r=-0.488$; $p<0.001^a$
IIb	47 (25.3%)		
III	124 (66.7%)		
IV	6 (3.2%)		
PIN^b			
απουσία	4 (2.2%)	$p =0.555^b$	$p =0.556^b$
παρουσία	182 (97.8%)		
Χειρουργικά Όρια^b			
Αρνητικά	100 (53.8%)	$p =0.276^b$	$p =0.167^b$
Θετικά	86 (46.2%)		

^a Tested using the Spearman correlation coefficient, ^b Tested using the Mann–Whitney U test, PIN: prostatic intraepithelial neoplasia, AJCC: American Joint Committee on Cancer
--

Πίνακας 16: Συσχέτιση της έκφρασης *KISS1* και *KISS1R* με κλινικά και παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά (N=186).

Παθολογοανατομικό στάδιο

Με βάση την σταδιοποίηση της Αμερικανικής επιτροπής για τον καρκίνο (American Joint Committee on Cancer, AJCC), από τους 186 ασθενείς:

9 ασθενείς (4.8%) είχαν στάδιο IIα, 47 ασθενείς (25.3%) είχαν στάδιο IIβ, 124 ασθενείς (66.7%) είχαν στάδιο III, ενώ 6 από τους 186 ασθενείς (3.2%) είχαν στάδιο IV της νόσου. (Γράφημα 1)

Gleason score

Gleason score 6 είχαν 16.926 (~17) ασθενείς (9.1 %), Gleason score 7 είχαν 140.988 (~141) ασθενείς (75.8%), το οποίο είναι και το μεγαλύτερο ποσοστό στο σύνολο των υπο μελέτη ασθενών. Πιο επιθετικές μορφές καρκίνου προστάτη με Gleason score 8 εμφάνισαν 12.09 (~12) ασθενείς (6.5%), ενώ Gleason score 9 εμφάνισαν 15.996 (~16) ασθενείς (8.6%). (Γράφημα 2)

Gleason Group (κατά ISUP 2014)

Με βάση το αναπροσαρμοσμένο Gleason score κατά ISUP 2014, όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο στο γενικό μέρος της παρούσας μελέτης, οι ασθενείς κατατάσσονται σε ομάδες (Gleason Groups ISUP 2014). Βρέθηκαν 17 ασθενείς (9,1%) οι οποίοι βρίσκονταν στην πρώτη Gleason ομάδα (group I), 68 ασθενείς (36,6%) βρίσκονταν στην II ομάδα (group II) και 73 ασθενείς (39,2%) βρίσκονταν στην III Gleason ομάδα (group III). Στην τέταρτη ομάδα (group IV) βρέθηκαν 12 ασθενείς (6,5%) , ενώ στην πέμπτη Gleason ομάδα (group V) υπήρχαν 16 ασθενείς (8,6%). (Γράφημα 3)

Προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (PIN)

Υψηλού βαθμού προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (high-grade PIN) παρατηρήθηκε στην πλειονότητα των ασθενών και συγκεκριμένα σε ποσοστό 97.8%.

Θετικά χειρουργικά όρια

Θετικά χειρουργικά όρια στο χειρουργικό παρασκεύασμα της ριζικής προστατεκτομής διαπιστώθηκαν σε ποσοστό 46.2% των περιπτώσεων.

Έκφραση KISS1 – KISS1R

Η έκφραση της κισπεπτίνης KISS1 εμφανίζεται με ισχυρή θετική συσχέτιση με την έκφραση του υποδοχέα GPR54 (KISS1R) ($r=0.854$; $p<0.001$).

Η μέση (διατεταρτημοριακό διάστημα) έκφραση της KISS1 αναλόγως με το στάδιο της νόσου διαπιστώθηκε ως εξής:

240 (200-270)% σε στάδιο IIa της νόσου, 210 (106-270)%, σε στάδιο IIb, 100 (100-152.5)% σε στάδιο III και 95 (85-100)% σε στάδιο IV, (Γράφημα 4).

Αντίστοιχα η μέση (διατεταρτημοριακό διάστημα) έκφραση του υποδοχέα KISS1R αναλόγως με το στάδιο της νόσου διαπιστώθηκε ως εξής:

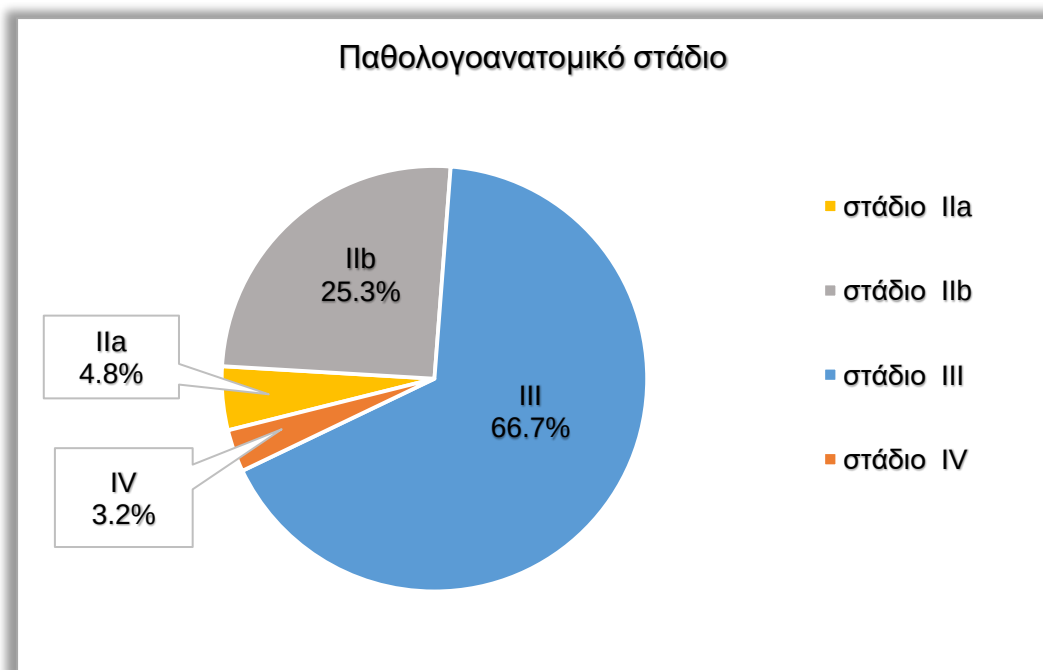
205 (120-300)% στο στάδιο IIa, 210 (120-240)% στο στάδιο IIb, 105.5 (95-145)% σε στάδιο III και 90 (80-101)% σε στάδιο IV, (Γράφημα 5).

Τόσο η έκφραση της κισπεπτίνης KISS1 όσο και η έκφραση του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R), είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερες σε καρκινικούς ιστούς με χαμηλό παθολογοανατομικό στάδιο νόσου μικρότερο ή ίσο με IIb (με τιμές $p<0.001$), σε σύγκριση με πιο προχωρημένα στάδια της νόσου (III και IV). Στο Γράφημα 6 παρουσιάζεται συγκριτικά η έκφραση KISS1 και του υποδοχέα KISS1R ανάλογα με το παθολογοανατομικό στάδιο της νόσου.

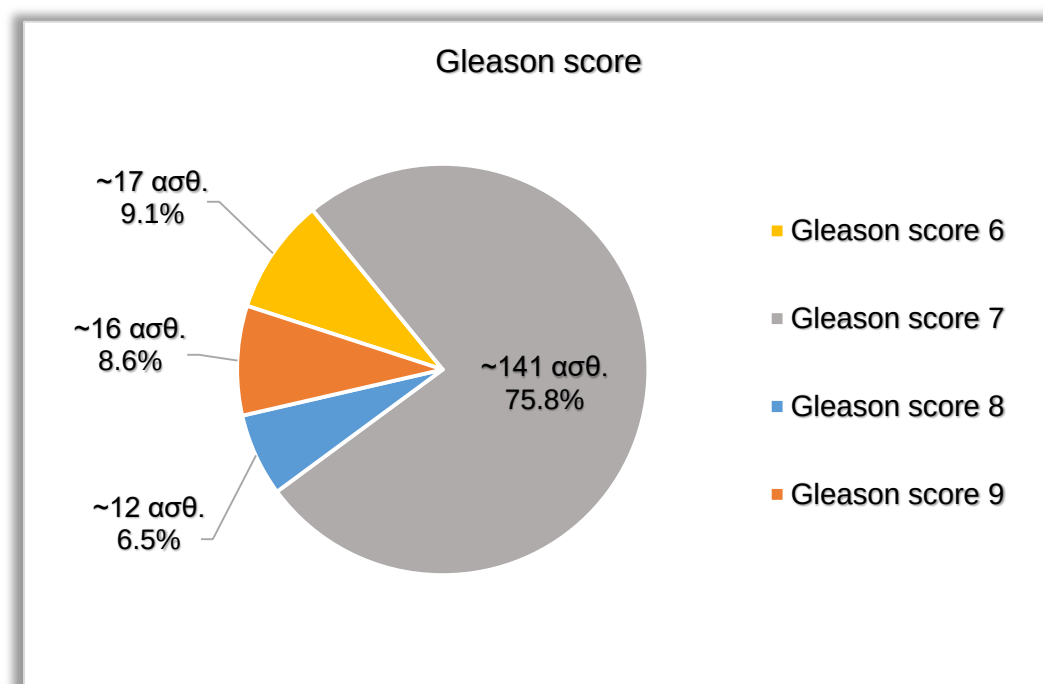
Το Gleason score εμφάνισε αρνητική συσχέτιση, τόσο με την κισπεπτίνη (KISS1) ($r=-0.413$, $p<0.001$), όσο και με τον υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) ($r=-0.470$; $p<0.001$). Η έκφραση της κισπεπτίνης KISS1 και του υποδοχέα της KISS1R μειώνεται όσο αυξάνει το Gleason score του καρκίνου, Εικόνα 16, Εικόνα 17.

Επίσης η έκφραση των KISS1 και KISS1R ήταν χαμηλότερη σε ασθενείς που βρίσκονταν σε υψηλότερο Gleason group (ISUP 2014) δηλαδή με πιο προχωρημένους ή επιθετικότερους καρκίνους (KISS1: $r=-0.753$, $p<0.001$) (KISS1R: $r=-0.767$, $p<0.001$).

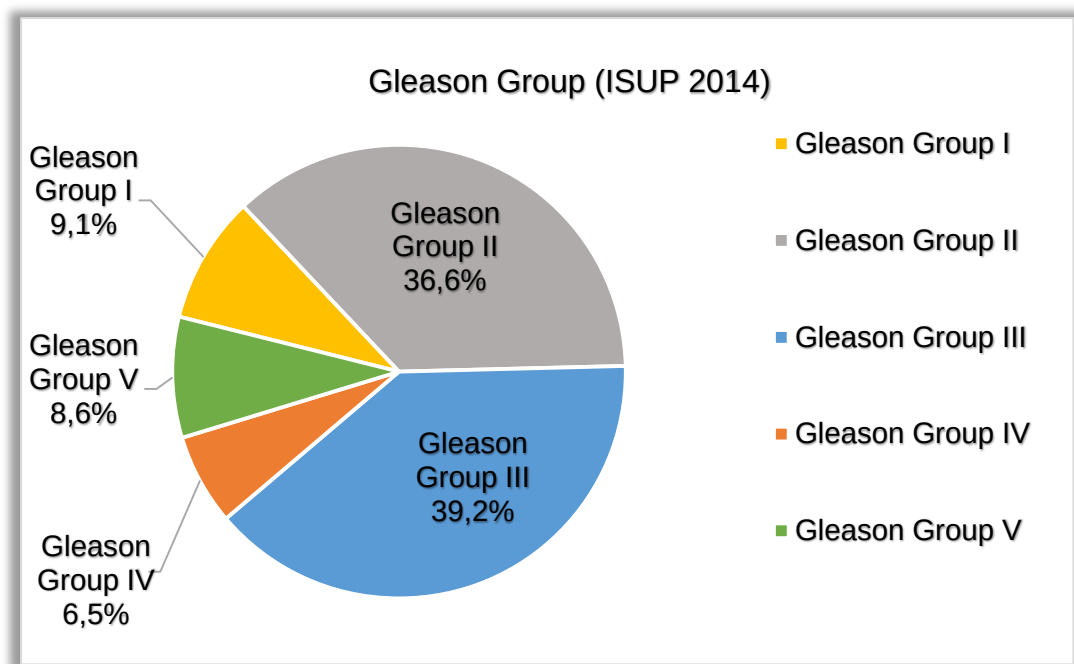
Αντιθέτως η παρουσία προστατικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας (PIN) και η παρουσία ή απουσία θετικών χειρουργικών ορίων δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την έκφραση των KISS1-KISS1R (όλες οι τιμές $p>0.1$).



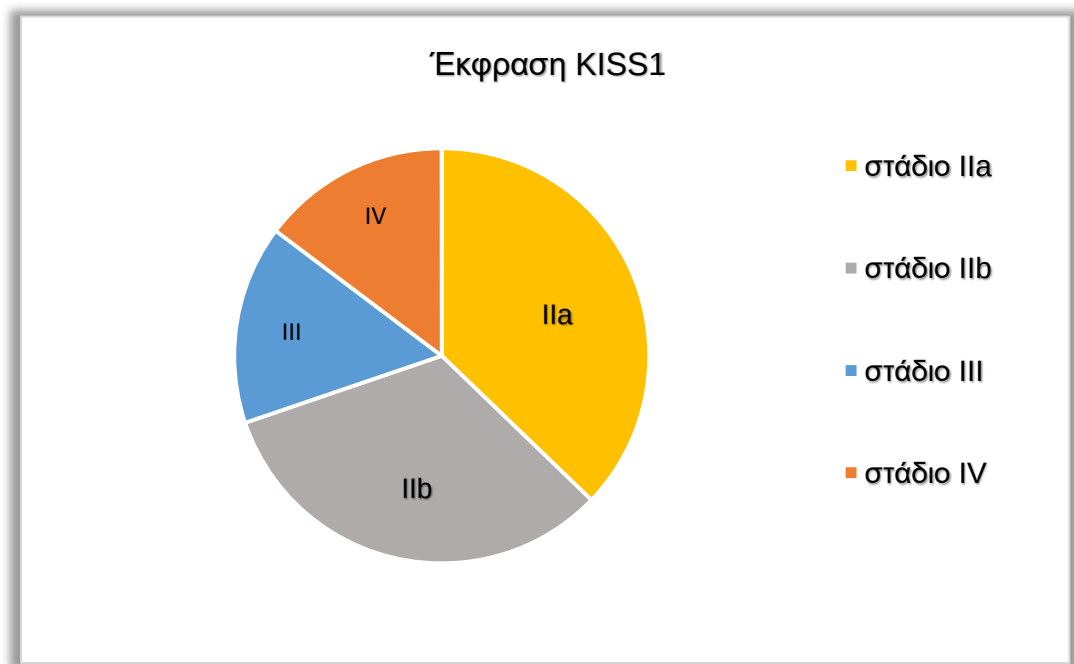
Γράφημα 1: Παθολογοανατομικό στάδιο



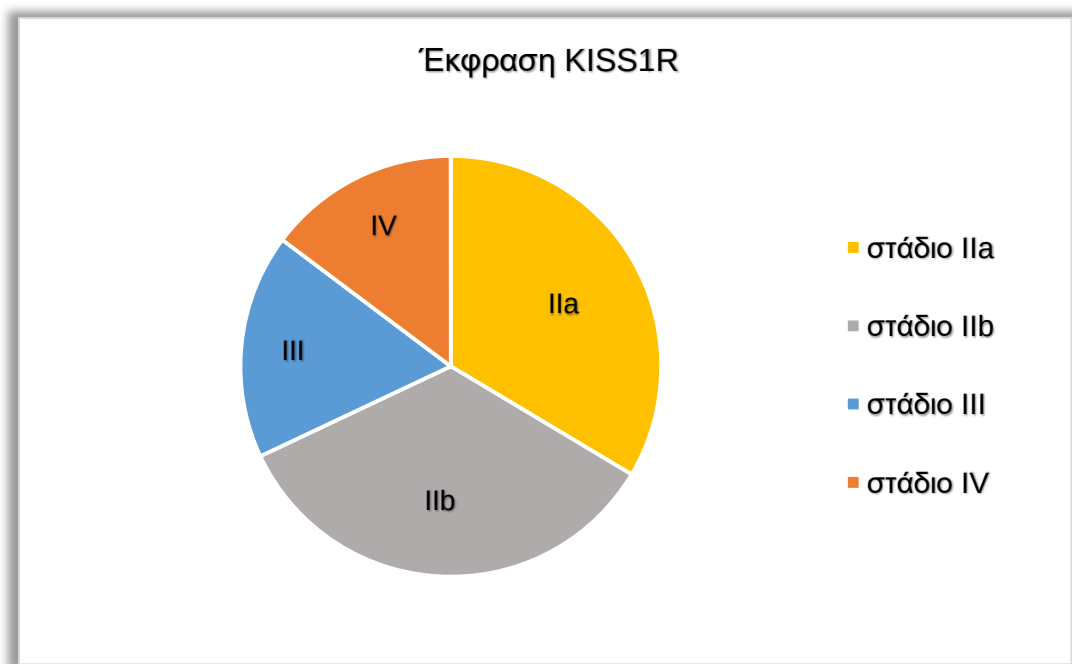
Γράφημα 2: Gleason score



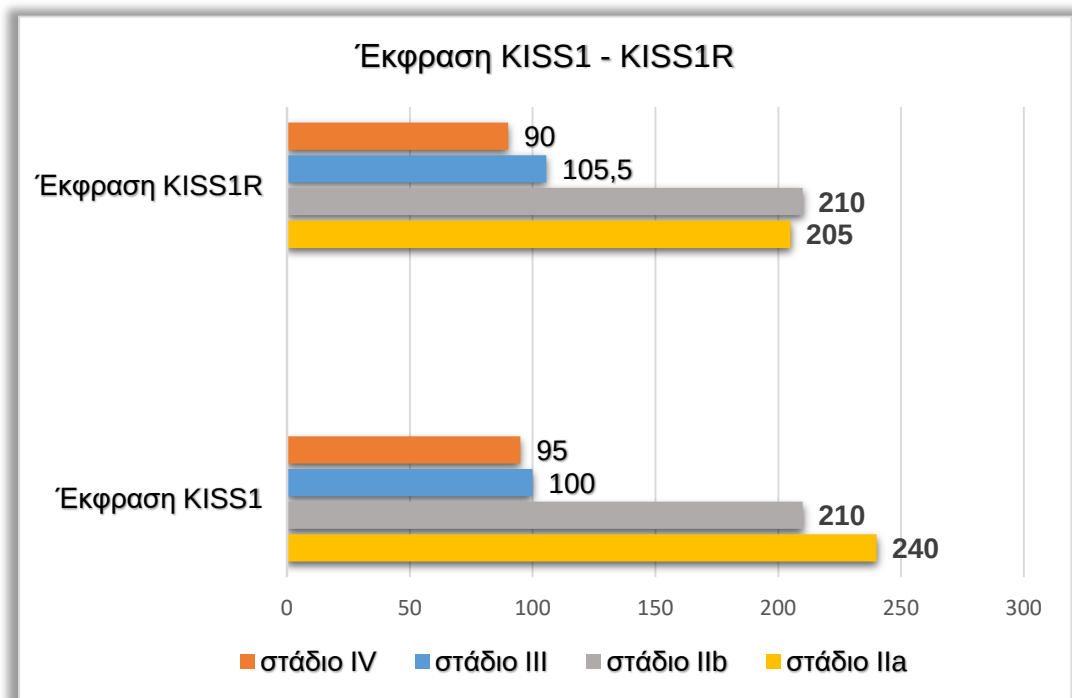
Γράφημα 3. Gleason Group (ISUP 2014)



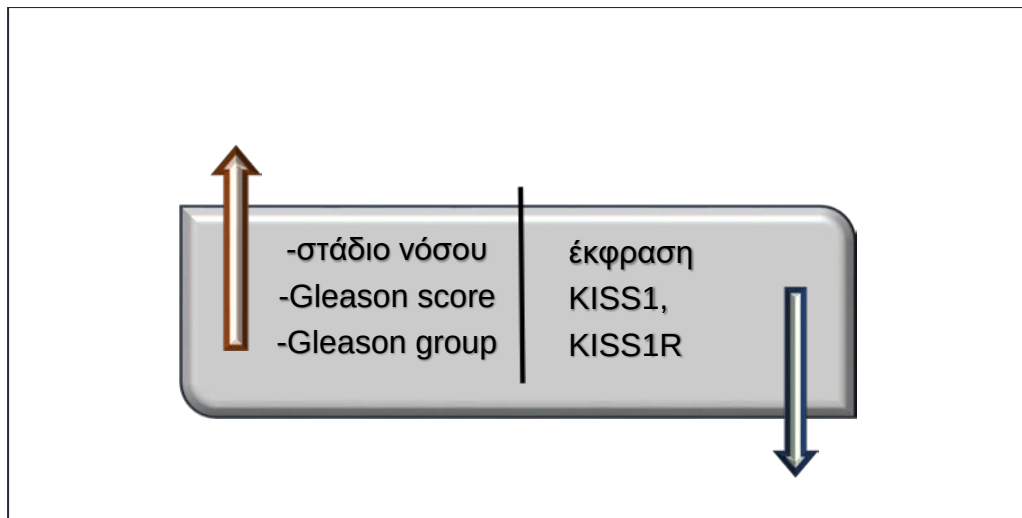
Γράφημα 4. Έκφραση KISS1



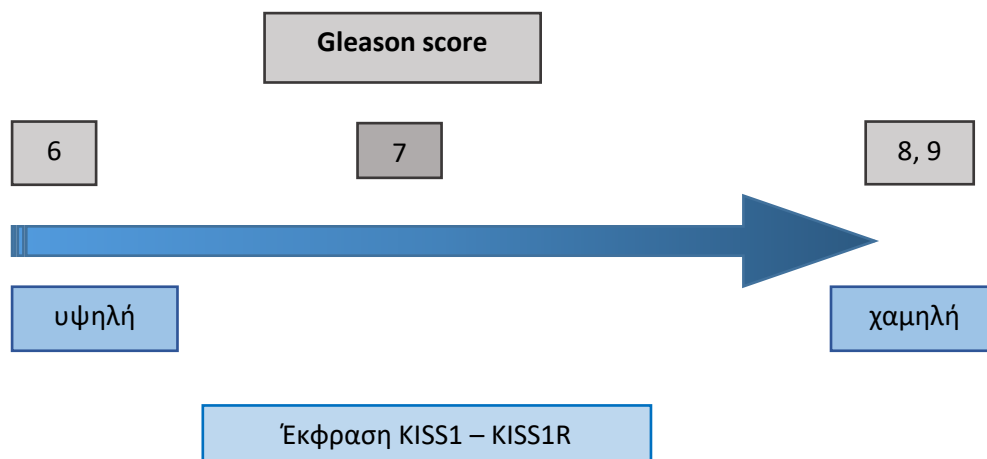
Γράφημα 5. Έκφραση KISS1R



Γράφημα 6. Έκφραση KISS1-KISS1R



Εικόνα 16: Η έκφραση KISS1, KISS1R μειώνεται όσο αυξάνεται το στάδιο της νόσου, το Gleason score του καρκίνου και το Gleason Group κατά ISUP.



Εικόνα 17: Η έκφραση KISS1, KISS1R μειώνεται όσο αυξάνεται το Gleason score του καρκίνου.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί παγκοσμίως σήμερα την δεύτερη πιο συχνά διαγνωσμένη κακοήθεια σε άνδρες και την έκτη αιτία θανάτου από κακοήθεια. Χειρουργική αντιμετώπιση και/ή ακτινοθεραπεία αποτελούν θεραπευτικές επιλογές στον εντοπισμένο καρκίνο (1-4). Ωστόσο η υποτροπή και εξέλιξη της νόσου προκαλώντας την δημιουργία μεταστάσεων, αυξάνει δραματικά το ποσοστό θνητότητας. Είναι μια νόσος που απασχολεί παγκοσμίως συνολικά τον ανδρικό πληθυσμό και φυσικά τα αντίστοιχα συστήματα υγείας των επιμέρους χωρών (1-4). Η πορεία της νόσου του καρκίνου προστάτη, τόσο κατά την διάγνωση όσο και κατά την θεραπεία, άλλαξε ριζικά μετά την ανακάλυψη του ειδικού προστατικού αντιγόνου (PSA) (177-180). Όπως είναι γνωστό όμως το PSA δεν αποτελεί ειδικό μοριακό δείκτη για τον καρκίνο του προστάτη, καθώς εκτός από τον καρκίνο μπορεί να αυξάνεται και σε άλλες μη κακοήθεις καταστάσεις του προστατικού αδένα (177-180).

Η αδυναμία της μη ειδικότητας του PSA για τον προστατικό καρκίνο, σε συνδυασμό με την καθιέρωση του προσυμπτωματικού ελέγχου και την χρήση του ως βασικής διαγνωστικής εξέτασης σε αυτόν, οδήγησε στην διενέργεια μεγάλου αριθμού μη απαραίτητων βιοψιών προστάτη και την ραγδαία αύξηση διαγνώσεων ασθενών με μη κλινικά σημαντικό καρκίνο (177-186). Το γεγονός αυτό έκανε επιτακτική την ανάγκη ανεύρεσης άλλων εναλλακτικών διαγνωστικών εξετάσεων ή άλλων μοριακών βιοδεικτών, με στόχο τον επιλογή των ασθενών με κλινικά σημαντικό προστατικό καρκίνο που θα ωφελούνταν από την διάγνωση και επομένως την αντιμετώπιση της νόσου.

Παράλληλα η σημαντική πρόοδος που έχει επιτευχθεί στον τομέα της μοριακής βιολογίας και γενετικής, με την δυνατότητα ανάλυσης του γονιδιώματος, έχει ανοίξει νέες κατευθύνσεις στην κατανόηση της μοριακής βιολογίας του προστατικού καρκίνου με ελπιδοφόρα αποτελέσματα.

Ένα από τα μόρια που έχει προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι το πεπτιδίδιο κισπεπτίνη.

Από την δεκαετία του '90 με την ανακάλυψη της δράσης της κισπεπτίνης (KISS1) στην καταστολή της μετάστασης από ανθρώπινα κύτταρα μελανώματος, πολλές έρευνες ασχολήθηκαν με τις ιδιότητες και τις δράσεις της

σε διάφορα είδη καρκίνου (228-234). Το ερευνητικό ενδιαφέρον διευρύνθηκε μετά την διαπίστωση της νευροενδοκρινικής δράσης της κισπεπτίνης στην ρύθμιση του γοναδοτροπικού άξονα (236-243), ενώ έγινε ακόμα εντονότερο με την παρατήρηση αναφορικά με την λειτουργία της κισπεπτίνης στην αναπαραγωγή και την έναρξη της ήβης (239-245). Ο ρόλος της φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντικός, έτσι ώστε στην σύγχρονη βιβλιογραφία η κισπεπτίνη θεωρείται ως «ο μοριακός διακόπτης της ήβης» (239-245).

Τα δεδομένα που αφορούν στον ρόλο της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της διευρύνονται συνεχώς σε νέα πεδία. Πρόσφατες μελέτες ερευνούν την δράση της στην σεξουαλική διέγερση (255), ερωτική επιθυμία στο πλαίσιο της αναπαραγωγικής ικανότητας, την επίδρασή της κατά την κύηση, στην προσκόλληση ή και αποβολή του εμβρύου (246-251), καθώς επίσης σε μεταβολικές καταστάσεις, μεταξύ άλλων σε σχέση με την λεπτίνη (252-254).

Στο πεδίο της ογκολογίας έχει παρατηρηθεί ο ογκοκατασταλτικός ρόλος της κισπεπτίνης, καθώς και επίδρασή της στην καταστολή της μετάστασης σε αρκετά είδη καρκίνων (257-259).

Ωστόσο τα τελευταία χρόνια υπάρχουν έρευνες που αναδεικνύουν έναν πιθανό διπλό ρόλο της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της στην βιολογία ορισμένων καρκίνων (258-260). Φαίνεται έτσι ότι σε ορισμένους καρκίνους, όπως ο ηπατοκυτταρικός ή ο καρκίνος του μαστού, η έκφραση του συμπλέγματος KISS1/KISS1R μπορεί να ενισχύει την ανάπτυξη του όγκου και να προάγει την δημιουργία μεταστάσεων, παρά να καταστέλλει την εξέλιξη του καρκίνου (258-260).

Οι μηχανισμοί που ενεργοποιούνται κατά την σύνδεση της κισπεπτίνης (KISS1) με τον υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) είναι πολλαπλοί. Βασικά μοριακά μονοπάτια που σηματοδοτούνται είναι η ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C (PLC) και της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC) μέσω της κινητοποίησης ιόντων ασβεστίου στο κυτταρόπλασμα. Η ενεργοποίηση της PKC με την σειρά της προκαλεί την απελευθέρωση αραχιδονικού οξέος και την φωσφορυλίωση διαφόρων κινασών όπως οι MAPKs οι ERK1, ERK2 και της πρωτεΐνης p38 (228,230,234,237,261).

Η ενεργοποίηση των παραπάνω μηχανισμών φαίνεται να εξαρτάται, τουλάχιστον κατά ένα μέρος, από το είδος του κυττάρου στο οποίο βρίσκονται.

Έτσι για παράδειγμα μελέτες σε σειρές κυττάρων που εκφράζουν σταθερά τον υποδοχέα KISS1R, έδειξαν ισχυρή φωσφορυλίωση των ERK1 και ERK2 με πιο αδύναμη φωσφορυλίωση των p38 MAPK κινασών, ενώ σε άλλα κύτταρα όπως τα αναπλαστικά θυρεοειδικά κύτταρα που εκφράζουν τον KISS1R ενδογενώς, η κισπεπτίνη προκαλεί φωσφορυλίωση των ERK1 και ERK2 αλλά όχι της p38 ή των PKB/Akt (237,261).

Οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων το σύμπλεγμα KISS1/KISS1R ασκεί την ογκοκατασταλτική και αντιμεταστατική δράση του δεν έχουν ακόμη πλήρως διευκρινιστεί. Φαίνεται μεταξύ άλλων, ότι η ενεργοποίηση των MAPK κινασών, του μοριακού μονοπατιού PKB/Akt, της έκφρασης μεταλλοπρωτεϊνών εξωκυττάρου δικτύου, κυρίως της (MMP)-9, επηρεάζουν την κινητικότητα, την διεισδυτικότητα και ικανότητα προσκόλλησης των καρκινικών κυττάρων, ενισχύουν την έναρξη απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων, μειώνουν την επιθήλιο-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) καθώς επίσης μειώνουν την αγγειογένεση του όγκου μέσω αναστολής του παράγοντα VEGF (228,230,234,237,261). Έτσι για παράδειγμα σε κύτταρα μελανώματος επίμυος έχει βρεθεί ότι οι κισπεπτίνες προκαλούν φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών focal adhesion kinase και paxillin, οι οποίες λειτουργούν για την προσκόλληση κυττάρων μεταξύ τους ή με την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία (matrix), μειώνοντας έτσι την ικανότητα προσκόλλησης. Επίσης η κισπεπτίνη αναστέλλει την δράση του παράγοντα NFκB, μειώνοντας παράλληλα την ικανότητα σύνδεσής του NFκB με την μεταλλοπρωτεϊνάση (MMP)-9. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της έκφρασης (MMP)-9 και επομένως την καταστολή του όγκου και της μετάστασης. Έχει παρατηρηθεί ακόμα ότι η kisspeptin-10 καταστέλλει την χημειοτακτική δραστηριότητα του υποδοχέα CXCR4, ο οποίος είναι ένας άλλος GPCR υποδοχέας που υπερεκφράζεται σε πολλούς καρκίνους και προάγει την μετάσταση (261-263). Επιπλέον οι κισπεπτίνες φαίνεται να ενεργοποιούν την απόπτωση σε συγκεκριμένα είδη κυττάρων, ενδεχομένως μέσω ενεργοποίησης του συμπλέγματος KISS1R/PP2A που οδηγεί σε αποφωσφορυλίωση της Akt και σε απόπτωση (264-266).

Εκτός από το μελάνωμα όπου παρατηρήθηκε για πρώτη φορά η αντιμεταστατική δράση της κισπεπτίνης, σε πολλά άλλα είδη καρκίνου έχει ερευνηθεί ο ογκοκατασταλτικός ρόλος της κισπεπτίνης, καθώς και η επίδρασή της στην καταστολή της μετάστασης των όγκων αυτών (258, 259). Στους

όγκους αυτούς παρατηρείται συνήθως ισχυρότερη έκφραση της KISS1 σε αρχικά στάδια του όγκου και προοδευτική απώλεια έκφρασής της στα πιο προχωρημένα στάδια. Η απώλεια έκφρασης συνδέεται με μειωμένη ογκοκατασταλτική δράση και επομένως αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης μεταστάσεων (258,259). Συγκεκριμένα σε καρκίνους του πεπτικού συστήματος, όπως καρκίνο οισοφάγου, καρκίνο στομάχου και παχέος εντέρου, έχει διαπιστωθεί μείωση της έκφρασης της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της KISS1R (258, 259). Η χαμηλή έκφραση KISS1 έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με πτωχότερη πρόγνωση και εμφάνιση λεμφαδενικών μεταστάσεων τόσο στον καρκίνο του παχέος εντέρου (284, 285), όσο και στον καρκίνο οισοφάγου (258,259,287). Στους όγκους αυτούς έχει προταθεί από κάποιους ερευνητές, ότι η έκφραση της κισπεπτίνης θα μπορούσε να αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη. Παρόμοια δράση φαίνεται να έχει η κισπεπτίνη και στον καρκίνο στομάχου, στον οποίο η υπερέκφραση της πρωτεΐνης KISS1 αναστέλλει την κυτταρική ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό και τη διείσδυση των στομαχικών καρκινικών κυττάρων (288, 289).

Στον καρκίνο παγκρέατος παρατηρείται μειωμένη έκφραση των KISS1, KISS1R σε σχέση με τον φυσιολογικό παγκρεατικό ιστό, ενώ η χορήγηση κισπεπτίνης μείωσε την μεταναστευτική ικανότητα προς δημιουργία μετάστασης των καρκινικών παγκρεατικών κυττάρων. Η απώλεια έκφρασης των KISS1, KISS1R στον παγκρεατικό καρκίνο έχει συσχετισθεί με σημαντικά μεγαλύτερο μέγεθος του όγκου, αλλά ακόμα με χειρότερη πρόγνωση των ασθενών (281-283).

Στον θυρεοειδικό καρκίνο έχει παρατηρηθεί αυξημένη έκφραση της KISS1 και του υποδοχέα KISS1R σε σχέση με τον φυσιολογικό ιστό, ενώ αυξημένη έκφραση της KISS1 συσχετίστηκε με προχωρημένο στάδιο του καρκίνου, καθώς και με το μικρότερο μέγεθος του όγκου (298-300).

Στον μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα έχει παρατηρηθεί σημαντικά χαμηλή έκφραση της KISS1, η οποία συσχετίζεται με πρόοδο του συγκεκριμένου καρκίνου σε προχωρημένα στάδια και δημιουργία λεμφαδενικών μεταστάσεων (258, 259, 290).

Επίσης απώλεια έκφρασης του γονιδίου KISS1 έχει διαπιστωθεί σε προχωρημένα στάδια καρκίνου ουροδόχου κύστεως (292, 293), καθώς και αρνητική συσχέτιση των επιπέδων του KISS1 με την επιβίωση των ασθενών.

Στον καρκίνο νεφρού έρευνες έδειξαν ότι η κισπεπτίνη μπορεί να καταστείλει την μεταναστευτική ικανότητα και ικανότητα προσκόλλησης των καρκινικών κυττάρων χωρίς όμως να μειώνει τον πολλαπλασιασμό τους (258, 259, 291).

Στον καρκίνο ενδομητρίου έχει παρατηρηθεί απώλεια έκφρασης του υποδοχέα KISS1R, η οποία συνοδεύεται από πτωχή πρόγνωση των ασθενών (258, 259, 294). Ο ρόλος της κισπεπτίνης στον καρκίνο των ωοθηκών παραμένει σχετικά ασαφής, καθώς υπάρχουν μελέτες με διαφορετικά και αντικρουόμενα αποτελέσματα. Η συγκέντρωση της κισπεπτίνης στο πλάσμα είναι υψηλότερη σε αρχικού σταδίου καρκίνο ωοθηκών, ενώ κάποιες μελέτες αναδεικνύουν τον ρόλο της KISS1 και του υποδοχέα της KISS1R στην καταστολή της μετάστασης του καρκίνου των ωοθηκών, μέσω αναστολής της δράσης των μεταλλοπρωτεϊνών-9 (MMP-9) και του παράγοντα NF-κB (258, 295-297).

Στον καρκίνο του μαστού, παρά τις αρχικές παρατηρήσεις κατά τις οποίες η κισπεπτίνη εμφάνιζε αντιμεταστατική δράση, υπάρχουν ολόένα και περισσότερες έρευνες τα τελευταία χρόνια στις οποίες φαίνεται ότι η δράση των KISS1/KISS1R περισσότερο βοηθά ή και διεγείρει την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού παρά την καταστέλλει (258, 259, 268-278).

Ο επαγωγικός ρόλος της κισπεπτίνης έχει παρατηρηθεί ακόμα σε έρευνες στον ηπατοκυτταρικό καρκίνο, όπου φάνηκε ότι η υπερέκφραση του γονιδίου *KISS1* συσχετίστηκε με την εξέλιξη του καρκίνου, ενισχύοντας την θεωρία ότι η έκφραση του KISS1 προάγει μια επιθετική μορφή του συγκεκριμένου καρκίνου (258, 259, 279-283).

Στην παρούσα μελέτη εξετάζεται η έκφραση της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) στον καρκίνο προστάτη.

Αναδεικνύεται η σημαντική συσχέτιση της έκφρασης των KISS1 και KISS1R ανάλογα με το παθολογοανατομικό στάδιο και το Gleason score του όγκου. Στους 186 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ριζική προστατεκτομή, η μέση τιμή (διατεταρτημοριακό διάστημα) έκφρασης του KISS1 ήταν σαφώς υψηλότερη σε ασθενείς σταδίου IIa και IIb σε σύγκριση με τους ασθενείς σταδίου III και IV (240% και 210% έναντι 100% και 95% αντίστοιχα). Τα αποτελέσματα αυτά φανερώνουν μια στατιστικά σημαντική ($p<0.001$) προοδευτική μείωση της έκφρασης του KISS1 ανάλογα με το παθολογοανατομικό στάδιο του όγκου.

Παρατηρείται υψηλότερη έκφραση KISS1 σε ασθενείς με εντοπισμένο όγκο και χαμηλότερο στάδιο ($\leq$ IIb) σε σχέση με ασθενείς που είχαν πιο προχωρημένο

και υψηλότερο στάδιο ($\geq$ III) προστατικού καρκίνου. Ανάλογα ευρήματα παρατηρήθηκαν και στην έκφραση του υποδοχέα KISS1R. Συγκεκριμένα η μέση τιμή (διατεταρτημοριακό διάστημα) έκφρασης του υποδοχέα KISS1R ήταν σαφώς υψηλότερη σε στάδια IIa και IIb έναντι υψηλότερων σταδίων III και IV της νόσου (205% και 210% έναντι 105.5% και 90% αντίστοιχα). Η έκφραση του υποδοχέα KISS1R, κατ' αναλογία με την έκφραση του KISS1, ήταν σημαντικά υψηλότερη σε εντοπισμένη νόσο και χαμηλότερου σταδίου όγκους ($\leq$ IIb) σε σύγκριση με πιο προχωρημένα και υψηλότερα στάδια (III, IV) προστατικού καρκίνου. Επομένως και στην έκφραση του υποδοχέα KISS1R φανερώνεται μια προοδευτική απώλεια έκφρασης όσο αυξάνεται το παθολογοανατομικό στάδιο του όγκου.

Η έκφραση των KISS1 και KISS1R, παρουσίασε παρόμοια προοδευτική μείωση ανάλογα με τον βαθμό κακοήθειας του καρκίνου, όπως αυτός αντιστοιχεί στις ομάδες ασθενών κατά Gleason (Gleason Group κατά ISUP 2014). Έτσι ασθενείς που βρίσκονταν σε υψηλότερο Gleason Group IV και V, δηλαδή με υψηλότερου βαθμού κακοήθειας ή επιθετικότερους καρκίνους, παρουσιάζουν χαμηλότερη έκφραση των KISS1, KISS1R σε σχέση με τους ασθενείς Gleason Group III και ακόμα περισσότερο με αυτούς στις ομάδες Group I,II (KISS1: $r = -0.753$, $p < 0.001$, KISS1R: $r = -0.767$, $p < 0.001$).

Επιπλέον, το Gleason score εμφάνισε αρνητική συσχέτιση τόσο με την έκφραση κισπεπτίνης (KISS1) ($r = -0.413$, $p < 0.001$), όσο και με του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) ($r = -0.470$; $p < 0.001$). Φάνηκε επομένως ότι η έκφραση της κισπεπτίνης KISS1 και του υποδοχέα της KISS1R μειώνονται όσο αυξάνει το Gleason score του καρκίνου.

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε επίσης ιστολογικά, ταυτόχρονη με αδενοκαρκίνωμα προστάτη, παρουσία ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας (PIN) στο 98% των ασθενών. Όπως έχει ήδη αναφερθεί η προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (PIN) θεωρείται προκαρκινική κατάσταση, ωστόσο η ύπαρξή της δεν βρέθηκε να έχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την έκφραση KISS1, αλλά ούτε και με την έκφραση του υποδοχέα KISS1R.

Επιπροσθέτως τα θετικά χειρουργικά όρια στο παρασκεύασμα της ριζικής προστατεκτομής στην παρούσα μελέτη δεν φάνηκε να έχουν σημαντική συσχέτιση με την έκφραση του KISS1 ή του υποδοχέα KISS1R.

Τα παραπάνω ευρήματα της μελέτης συμβαδίζουν γενικά με τα δεδομένα που αναφέρονται στην διεθνή βιβλιογραφία και αφορούν την έκφραση της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της (KISS1R) στον καρκίνο προστάτη. Παρατηρείται μειωμένη έκφραση του KISS1 και του υποδοχέα KISS1R, με προοδευτική απώλεια έκφρασής τους όσο αυξάνεται ο βαθμός κακοήθειας, Gleason Group, Gleason score και το στάδιο του προστατικού καρκίνου.

Η απώλεια έκφρασης του KISS1 συσχετίστηκε επίσης με την έκφραση του υποδοχέα KISS1R (258, 259, 304).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση στην μελέτη των Curtis και συνεργατών, ότι ενώ η κισπεπτίνη εκκρινόταν από τα προστατικά καρκινικά κύτταρα σε όλες τις καρκινικές σειρές που εξετάστηκαν, ωστόσο τα επίπεδα κισπεπτίνης στον ορό δεν ήταν το ίδιο αυξημένα στους 92 ασθενείς με καρκίνο προστάτη σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς άνδρες ελέγχου της μελέτης (305).

Αντίθετα με τον καρκίνο, στον φυσιολογικό προστατικό ιστό και στην καλοήγη υπερπλασία παρατηρείται ισχυρή έκφραση της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της (234, 303-305).

Η δράση της κισπεπτίνης στην καταστολή του προστατικού καρκίνου και στην δημιουργία μεταστάσεων ασκείται σε κυτταρικό επίπεδο μέσω ποικίλων πιθανών μηχανισμών. Συγκεκριμένα το πεπτίδιο KISS1 με τον υποδοχέα του αναστέλλουν την ανεξάρτητη αγκυροβόλησης ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων, μειώνουν την κινητικότητα και διεισδυτικότητα των καρκινικών κυττάρων, οπότε περιορίζουν την μεταναστευτική ικανότητά τους για την δημιουργία μετάστασης. Έχει προταθεί από ερευνητές ότι η κισπεπτίνη συμβάλλει στην ενεργοποίηση του παράγοντα EIF2AK2 (306), μεταβάλλοντας την κυτταροσκελετική δομή, αναστέλλοντας έτσι την κινητικότητα και διεισδυτικότητα των καρκινικών κυττάρων.

Ένας ακόμα μηχανισμός καταστολής της ικανότητας των προστατικών καρκινικών κυττάρων να δημιουργήσουν μετάσταση, στον οποίο εμπλέκεται το σύστημα KISS1/KISS1R, είναι η εκλεκτική μείωση της έκφρασης του παράγοντα VEGF και κατ' επέκταση η ενεργοποίηση των παραγόντων FAK and Rac1/Cdc42 στα κύτταρα του ενδοθηλίου (307). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της αγγειογένεσης (νέο-αγγείωσης) του όγκου, περιορίζοντας έτσι την δημιουργία μετάστασης (307).

Επιπλέον η έκφραση του KISS1 δεν επηρεάζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ωστόσο βοηθά την ευαισθητοποίηση των κυττάρων στην απόπτωση.

Πέρα από την παραπάνω αναφερθείσα αντιμεταστατική της δράση, η κισπεπτίνη παρουσιάζει και έμμεση δράση στον προστατικό καρκίνο, επηρεάζοντας το ανδρογονικό προφίλ του ασθενούς. Είναι γνωστό ότι το μόριο της κισπεπτίνης είναι ένας ισχυρός παράγοντας ενεργοποίησης της έκκρισης GnRH και κατ' επέκταση ένας ρυθμιστής του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-γονάδων (HPG).

Μελέτες σε πειραματικά μοντέλα έχουν δείξει ότι η χορήγηση μακράς δράσης αγωνιστών κισπεπτίνης καταστέλλει τον άξονα HPG. Αυτό θα μπορούσε να αποτελέσει έναν εν δυνάμει ωφέλιμο θεραπευτικό ρόλο της κισπεπτίνης στον προχωρημένο καρκίνο προστάτη μεταβάλλοντας το επίπεδο των ανδρογόνων της νόσου.

Εκτός από το κυτταρικό επίπεδο της μείωσης κινητικότητας - διεισδυτικότητας και μεταναστευτικής ικανότητας των καρκινικών κυττάρων, ο ρόλος της κισπεπτίνης στην καταστολή της μετάστασης στον καρκίνο του προστάτη επεκτείνεται και στην προαγωγή της χημειοευαισθησίας των προστατικών καρκινικών κυττάρων. Συγκεκριμένα στην μελέτη των Wang και συνεργατών (304), μελετήθηκε η δράση της πακλιταξέλης σε καρκινικά κύτταρα PC3M χωρίς έκφραση KISS1 καθώς και σε κύτταρα PC3M μετά από εισαγωγή KISS1. Παρατηρήθηκε ότι η πακλιταξέλη μείωσε τον αριθμό των ζωντανών καρκινικών κυττάρων τα οποία χαρακτηρίζονταν από ισχυρή έκφραση KISS1. Κατά συνέπεια φαίνεται ότι η υπερέκφραση του KISS1 αυξάνει την χημειοευαισθησία των καρκινικών κυττάρων απέναντι σε παράγοντες όπως για παράδειγμα η πακλιταξέλη (304). Το συμπέρασμα αυτό έχει ιδιαίτερη κλινική σημασία καθώς η χημειοθεραπεία, ειδικότερα η πακλιταξέλη, αποτελεί σήμερα μια σημαντική θεραπευτική επιλογή σύμφωνα και με τις κατευθυντήριες οδηγίες αντιμετώπισης του μεταστατικού καρκίνου προστάτη.

Συμπερασματικά, μελετώντας την έκφραση της κισπεπτίνης και του υποδοχέα της στον καρκίνο προστάτη, παρατηρείται μια προς τα κάτω ρύθμιση των συγκεκριμένων πεπτιδίων, με προοδευτική μείωση της έκφρασης των KISS1 και KISS1R, όσο αυξάνεται ο βαθμός κακοήθειας και το στάδιο της νόσου. Σε αρχικά στάδια και χαμηλού βαθμού κακοήθειας κατά Gleason εμφανίζεται χαμηλή έκφραση KISS1, KISS1R, ενώ απώλεια έκφρασης εμφανίζεται σε

προχωρημένα στάδια και μεταστατικό προστατικό καρκίνο (258, 259, 304). Τα ευρήματα της δράσης του συμπλέγματος KISS1/KISS1R στον καρκίνο προστάτη θα μπορούσαν ενδεχομένως να ωφελήσουν στην διάγνωση, στην αξιολόγηση κινδύνου εμφάνισης και προόδου της νόσου, αλλά ακόμα και να συμβάλουν σε θεραπευτικές επιλογές σε επιθετικές μορφές καρκίνου προστάτη.

Επιπλέον η νευροενδοκρινική λειτουργία της κισπεπτίνης στην ρύθμιση του γοναδοτροπικού άξονα (HPG), με την δυνατότητα μεταβολής των επιπέδων των ανδρογόνων, έχει ίσως έναν μελλοντικό πιθανό ρόλο σε θεραπευτικούς χειρισμούς προχωρημένου προστατικού καρκίνου.

Είναι ωστόσο απαραίτητες περισσότερες έρευνες σχετικά με την δράση και τον ενδεχόμενο κλινικό ρόλο της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) στην διαγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση του καρκίνου του προστάτη.

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί παγκοσμίως σήμερα την δεύτερη πιο συχνά διαγνωσμένη κακοήθεια σε άνδρες και την έκτη αιτία θανάτου από κακοήθεια. Παρά την επαναστατική ανακάλυψη του PSA, αυτό δεν αποτελεί ειδικό μοριακό δείκτη για τον καρκίνο του προστάτη, αφού μπορεί να αυξάνεται και σε καλοήθεις καταστάσεις του προστατικού αδένος εκτός από τον καρκίνο. Το γεγονός της μη ειδικότητας του PSA για τον προστατικό καρκίνο καθιστά ανεπαρκή τον προσυμπτωματικό έλεγχο για την πρώιμη διάγνωση της νόσου. Η υποτροπή και πρόοδος της νόσου που παρατηρούνται συχνά μετά από την αρχική ριζική θεραπεία -χειρουργική επέμβαση ή/και ακτινοθεραπεία- αυξάνει σημαντικά την θνητότητα από τον καρκίνο του προστάτη. Για όλους τους παραπάνω λόγους αποτελεί επιτακτική ανάγκη η ανεύρεση άλλων εναλλακτικών διαγνωστικών εξετάσεων ή άλλων μοριακών βιοδεικτών, με σκοπό τον έγκαιρο εντοπισμό των ασθενών με κλινικά σημαντικό καρκίνο προστάτη. Παράλληλα η σημαντική πρόοδος που έχει επιτευχθεί στον τομέα της μοριακής βιολογίας και γενετικής, με την δυνατότητα ανάλυσης του γονιδιώματος, έχει ανοίξει νέες κατευθύνσεις στην κατανόηση της μοριακής βιολογίας του προστατικού καρκίνου με ελπιδοφόρα αποτελέσματα.

Ένα από τα μόρια που έχει προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον είναι η κισπεπτίνη και η δράση της στον τομέα της ογκολογίας. Στην παρούσα μελέτη ερευνάται ανοσοϊστοχημικά η έκφραση της κισπεπτίνης (KISS1) και του υποδοχέα της GPR54 (KISS1R) στον καρκίνο του προστάτη. Μελετήθηκαν δείγματα προστατικού καρκίνου από χειρουργικά παρασκευάσματα ριζικής προστατεκτομής ασθενών με εντοπισμένο καρκίνο, χωρίς άλλη προηγούμενη θεραπεία για τον προστατικό καρκίνο. Τα αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν μια αυξημένη έκφραση της κισπεπτίνης KISS1 και του υποδοχέα KISS1R σε αρχικά στάδια καρκίνου προστάτη σε σύγκριση με πιο προχωρημένα στάδια. Επιπλέον παρατηρήθηκε προοδευτική μείωση της έκφρασης των KISS1, KISS1R, όσο αυξανόταν το παθολογοανατομικό στάδιο, το Gleason score του καρκίνου, καθώς και ο βαθμός κακοήθειας με βάση την ταξινόμηση Gleason Grade Group κατά ISUP2014. Η παρουσία PIN και τα θετικά χειρουργικά όρια δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με την έκφραση των KISS1,

KISS1R. Τα συμπεράσματα της παρούσας μελέτης συμβαδίζουν με τα δεδομένα που υπάρχουν έως σήμερα στην διεθνή βιβλιογραφία και αφορούν στην μείωση της έκφρασης της κισπεπτίνης KISS1 και του υποδοχέα της KISS1R στον καρκίνο προστάτη. Είναι ευνόητο ότι χρειάζονται περισσότερες έρευνες για την διερεύνηση του ρόλου του συμπλέγματος KISS1/KISS1R στον καρκίνο προστάτη, καθώς και για τον ενδεχόμενο ρόλο του μελλοντικά στην διάγνωση και αξιολόγηση του κινδύνου εμφάνισης και εξέλιξης του καρκίνου ή ακόμα και στην αναζήτηση συγκεκριμένων θεραπευτικών στόχων για την αντιμετώπισή του.

SUMMARY

Prostate cancer is the second most commonly diagnosed cancer in men and the sixth cause of mortality among all cancers. Disease recurrence and tumor progress, often occurring after the initial radical therapy, cause increased mortality. It is well known that the current diagnostic evaluation and screening for prostate cancer is mainly based on PSA testing. In addition to prostate cancer, PSA increase may occur in various noncancerous conditions, such as benign hyperplasia and inflammation of the prostate gland. PSA is an organ specific but not cancer specific marker, thus providing the opportunity for further tumor marker investigation.

Furthermore the rapid developments in molecular biology and genetics have revealed the heterogeneity and complexity of prostate cancer disease and they have opened new paths in understanding the molecular mechanisms of prostate cancer with promising results. Over the past few decades the role of kisspeptin (KISS1) and its receptor GPR54 (KISS1R) have gained increasing interest among researchers globally. In the present study the expression of KISS1-KISS1R has been examined, in prostate cancer tissue specimen after radical prostatectomy. The expression of KISS1, KISS1R has been immunohistochemically detected and evaluated in relation with tumor Grade, tumor stage, Gleason score, presence of PIN and surgical margins. Results of the present study have shown a higher expression of KISS1 and KISS1R in early stage localized tumors (Stage $\leq$ IIb) compared to patients with advanced (Stage $\geq$ III) tumor. A decreased expression of KISS1 and KISS1R was associated with an increase in tumor stage, Gleason score and Gleason Grade Group. Patients with advanced tumor stage, higher Gleason score and higher Gleason Grade Group showed a low expression rate of both KISS1 and KISS1R. In conclusion a downregulation of both KISS1 and KISS1R was detected in advanced prostate cancer. The role of KISS1 might be promising in the future diagnostic evaluation and risk assessment of prostate cancer. Further studies are necessary in order to examine the wide spectrum of function of kisspeptin in tumor biology and its potential clinical use in prostate cancer.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2020, retrieved from <https://www.cancer.org/cancer/prostate-cancer.html/> 10.05.2020
2. Culp MBB, et al. Recent Global Patterns in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates. *Eur Urol* 2019; <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.08.005>
3. Statistical Office of the European Communities (2019), Eurostat regional yearbook 2019, DOI:10.2785/1522, retrieved from <https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained>, 01.05.2020
4. Platz EA, Giovannucci E. Prostate cancer. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF editors. *Cancer epidemiology and prevention*. 3rd edition, New York, Oxford University Press 2006; p.1128–50.
5. Hayes RB, Ziegler RG, Gridley G, et al. Dietary factors and risks for prostate cancer among blacks and whites in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8:25–34.
6. SEER Cancer Stat Facts: Prostate Cancer. National Cancer Institute. Bethesda, MD, retrieved from <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html/> 10.05.2020
7. Rose et al. Copy number and gene expression differences between African and Caucasian American prostate cancer. *Journal of Translational Medicine* 2010; 8:70.
8. Carter B, Bova GS, Beaty T, et al: Hereditary prostate cancer: Epidemiologic and clinical features. *J Urol* 1993; 150:797-802
9. Mottet N., Bellmunt J., Briers E., Bolla M., Bourke L., Cornford P., De Santis M., Henry A., Joniau S., Lam T., Mason M.D., Van den Poel H., Van den Kwast T.H., Rouvière O., Wiegel T.; members of the EAU – ESTRO – ESUR –SIOG Prostate Cancer Guidelines Panel. EAU – ESTRO – ESUR – SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Retrieved from: <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/> 02.05.2020

10. Freedland, S.J., et al. Statin use and risk of prostate cancer and high-grade prostate cancer: results from the REDUCE study. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2013; 16: 254. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23567655>
11. James, N.D., et al. Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy. *N Engl J Med*, 2017; 377: 338. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28578639>
12. Yu Peng, L., et al. Cholesterol Levels in Blood and the Risk of Prostate Cancer: A Meta-analysis of 14 Prospective Studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2015; 24: 1086. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25953767>
13. Vidal, A.C., et al. Obesity increases the risk for high-grade prostate cancer: results from the REDUCE study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014; 23: 2936. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25261967>
14. Kramer, B.S., et al. Use of 5-alpha-reductase inhibitors for prostate cancer chemoprevention: American Society of Clinical Oncology/American Urological Association 2008 Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*, 2009; 27: 1502. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19252137>
15. Andriole, G.L., et al. Effect of dutasteride on the risk of prostate cancer. *N Engl J Med*, 2010; 362:1192. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20357281>
16. Thompson, I.M., et al. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *N Engl J Med*, 2003. 349: 215. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12824459>
17. Coussens LM, Werb Z: Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420:860-867
18. Sfanos K.S., De Marzo A.M. Prostate cancer and inflammation: the evidence. *Histopathology*. 2012; 60:119-215.
19. Platz EA, De Marzo AM: Epidemiology of inflammation and prostate cancer. *J Urol* 2004; 171:S36-S40.
20. Zhang L, Wang Y, Qin Z, Gao X, Xing Q, Li R, Wang W, Song N, Zhang W. Correlation between Prostatitis, Benign Prostatic Hyperplasia and Prostate

Cancer: A systematic review and Meta-analysis. *J Cancer* 2020; 11(1):177-189. doi:10.7150/jca.37235. Available from <http://www.jcancer.org/v11p0177.htm>

21. Jiang J, Li J, Yunxia Z, Zhu H, Liu J, Pumill C. The role of prostatitis in prostate cancer: meta-analysis. *PLoS One*. 2013 ;8:e85179

22. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow?. *Lancet*. 2001; 357:539-45

23. Nickel JC, Roehrborn CG, O'Leary MP, Bostwick DG, Somerville MC, Rittmaster RS. The relationship between prostate inflammation and lower urinary tract symptoms: examination of baseline data from the REDUCE trial. *Eur Urol*. 2008; 54:1379-84

24. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG: Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: Implications for prostatic carcinogenesis. *Am J Pathol* 1999; 155:1985 -1992

25. Travis R., Watts E., Fensom G., Perez-Cornago A., Knuppel A., Allen N., Gunter M., Martin R., Smith Byrne K., Murphy N., Tsilidis K., Key T. Serum hormones and prostate cancer incidence and mortality in UK Biobank 2019, https://abstracts.ncri.org.uk/year_published/2019/

26. Roddam AW, Allen NE, Appleby P, Key TJ, Endogenous Hormones and Prostate Cancer Collaborative Group. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies, *J Natl Cancer Inst*. 2008; Feb 6;100(3):170-83

27. Watts, E.L., et al. Low Free Testosterone and Prostate Cancer Risk: A Collaborative Analysis of 20 Prospective Studies. *Eur Urol*. 2018; 74: 585. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30077399>

28. Haider, A., et al. Incidence of prostate cancer in hypogonadal men receiving testosterone therapy: observations from 5-year median followup of 3 registries. *J Urol*. 2015; 193: 80. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24980615>

29. Severson RK, Grove JS, Nomura AM, Stemmermann GN: Body mass and prostatic cancer: A prospective study. *Br Med J* 1988; 297:713-715
30. Cohen P., Peehl D.M, Rosenfeld R.G.. The IGF axis in the prostate. *Horm Metab Res.*1994; 26:81-84.
31. Cohen P, Peehl DM, Lamson G, Rosenfeld RG: Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73:401-407
32. Roddam AW, Allen NE, Appleby P, et al. Insulin-like growth factors, their binding proteins, and prostate cancer risk: analysis of individual patient data from 12 prospective studies. *Ann Intern Med.* 2008;149 (7):461-W88. doi:10.7326/0003-4819-149-7-200810070-00006
33. Prins GS, Korach KS, The role of estrogens and estrogen receptors in normal prostate growth and disease, *Steroids.* 2008 Mar;73 (3):233-44
34. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011; 144(5):646-674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
35. Testa U, Castelli G, Pelosi E. Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Prostate Cancer Development: Therapeutic Implications. *Medicines (Basel).* 2019; Jul 30; 6(3):82. doi: 10.3390/medicines6030082. PMID: 31366128; PMCID: PMC6789661.
36. Collins AT, Maitland NJ. Prostate cancer stem cells. *Eur J Cancer* 2006 Jun;42(9):1213-8.
37. John R. Packer, Norman J. Maitland, The Molecular and Cellular Origin of Human Prostate Cancer, *BBA - Molecular Cell Research* 2016; doi:10.1016/j.bbamcr.2016.02.016
38. Hochachka PW, Rupert JL, Goldenberg L, Gleave M, Kozlowski P. Going malignant: the hypoxia-cancer connection in the prostate. *Bio Essays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 2002; Aug;24(8):749-57.

39. Gerrin, S.J.; Sowalsky, A.G.; Balk, S.P.; Ye, H. Mutation profiling indicates high grade prostatic intraepithelial neoplasia as distant precursors of adjacent invasive prostatic adenocarcinoma. *Prostate* 2016; 76, 1227–1236.
40. Haffner, M.C.; Weier, C.; Xu, M.M.; Vaghasia, A.; Gürel, B.; Gümüşkaya, B.; Esopi, D.M.; Fedor, H.; Tan, H.L.; Kulac, I.; et al. Molecular evidence that invasive adenocarcinoma can mimic prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and intraductal carcinoma through retrograde glandular colonization. *J. Pathol.* 2016; 238, 31–41
41. Trabzonlu, L.; Kulac, I.; Zheng, Q.; Hicks, J.L.; Haffner, M.C.; Nelson, W.G.; Sfanos, K.S.; Ertunc, O.; Lotan, T.L.; Heaphy, C.M.; et al. Molecular Pathology of High-Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia: Challenges and Opportunities. *Cold Spring Harb. Perspect Med.* 2018; 9.
42. Albertsen PC. Defining clinically significant prostate cancer: pathologic criteria versus outcomes data. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1177-1178.
43. Sowalsky, A.G.; Ye, H.; Bubley, G.J.; Balk, S.P. Clonal progression of prostate cancers from Gleason grade 3 to grade 4. *Cancer Res.* 2013; 73, 1050–1055.
44. Kovtun, I.V.; Cheville, J.C.; Murphy, S.J.; Johnson, S.H.; Zarei, S.; Kosari, F.; Sukov, W.R.; Karnes, R.J.; Vasmataz, G. Lineage relationship of Gleason patterns in Gleason score 7 prostate cancer. *Cancer Res.* 2013; 73, 3275–3284.
45. Van der Weel, D.J.; Brown, C.D.; Taxy, J.B.; Gillard, M.; Hatcher, D.M.; Tom, W.R.; Stadler, W.M.; White, K.P. Low-grade prostate cancer diverges early from high grade and metastatic disease. *Cancer Sci.* 2014; 105, 1079–1085.
46. Sowalsky, A.G.; Kissick, H.T.; Gerrin, S.J.; Schaefer, R.J.; Xia, Z.; Russo, J.W.; Arredouani, M.S.; Bubley, G.J.; Sanda, M.G.; Li, W.; et al. Gleason score 7 prostate cancer emerge through branched evolution of clonal Gleason pattern 3 and 4. *Clin. Cancer Res.* 2017; 23, 3823–3833.

47. Cooper, C.S.; Eeles, R.; Wedge, D.G.; Loo, P.L.; Gundem, G.; Alexandrov, L.M.; Kremeyer, B.; Butler, A.; Lynch, A.G.; Camacho, N.; et al. Analysis of the genetic phylogeny of multifocal prostate cancer identifies multiple independent clonal expansion in neoplastic and morphologically normal prostate tissue. *Nat. Genet.* 2015; 47, 367–372.
48. Lochead, P.; Chan, A.T.; Nishihara, R.; Fuchs, C.S.; Beck, A.H.; Giovanucci, E.; Ogino, S. Etiologic field effect: Reappraisal of the field effect concept in cancer predisposition and progression. *Mod. Pathol.* 2015; 28,14-29.
49. Lindberg, J.; Klevebring, D.; Liu, W.; Neiman, M.; Xu, J.; Wiklund, P.; Mills, I.G.; Egevad, L.; Gronberg, H.; Wiklund, F. Exome sequencing of prostate cancer supports the hypothesis of independent tumor origins. *Eur. Urol.* 2013; 63, 347–353.
50. Boutros, P.C.; Fraser, M.; Harding, N.J.; deBorja, R.; Trudel, D.; Lalonde, E.; Fox, N.S.; Livingstone, J.; Shiah, Y.J.; Wang, J.; et al. Spatial genomic heterogeneity within localized, multifocal prostate cancer. *Nat. Genet.* 2015; 47, 736–745.
51. Wei, L.; Wang, J.; Lampert, E.; Schlanger, S.; DePriest, A.D.; Hu, Q.; Cortes Gomez, E.; Murakam, M.; Glenn, S.T.; Conroy, J.; et al. Intratumoral and intertumoral genomic heterogeneity of multifocal localized prostate cancer impacts molecular classifications and genomic prognosticators. *Eur. Urol.* 2017; 71, 183–192.
52. Van der Weele, D.J.; Finney, R.; Katayama, K.; Gillard, M.; Paner, G.; Imoto, S.; Yamaguchi, R.; Wheeler, D.; Lack, J.; Cam, M.; et al. Genomic heterogeneity within individual prostate cancer foci impacts predictive biomarkers of targeted therapy. *Eur. Urol. Focus* 2019; 5, 416–424.
53. Salami, S.S.; Hovelson, D.H.; Kaplan, J.B.; Mathieu, R.; Udager, A.M.; Curci, N.E.; Lee, M.; Plouffe, K.R.; Lazo de la Vaga, L.; Susani, M.; et al. Transcriptomic heterogeneity in multifocal prostate cancer. *JCI Insight* 2018; 3, e123468.

54. Berglund, E.; Maaskola, J.; Schultz, N.; Friedrich, S.; Marklund, M.; Bergenstrahle, J.; Tarish, F.; Tanoglidli, A.; Vichovic, S.; Larsson, L.; et al. Spatial maps of prostate cancer transcriptomes reveal an unexplored landscape of heterogeneity. *Nat. Commun.* 2018; 9, 2419.
55. Su, F.; Zhang, W.; Zhang, D.; Zhang, Y.; Pang, C.; Huang, Y.; Wang, M.; Cui, L.; He, L.; Zhang, J.; et al. Spatial intratumoral genomic heterogeneity within localized prostate cancer revealed by single-nucleus sequencing. *Eur. Urol.* 2018; 74, 551–559.
56. Lvof, M.; Zhao, S.; Axcrone, U.; Johannessen, B.; Bakken, A.C.; Carm, K.T.; Ho_, A.M.; Miklebot, O.; Meza-Zepeda, L.A.; Lie, A.K.; et al. Multifocal primary prostate cancer exhibits high degree of genomic heterogeneity. *Eur. Urol.* 2019; 75, 498–505.
57. Shen, M.M.; Abate-Shen, C. Molecular genetics of prostate cancer: New prospects for old challenges. *Genes Dev.* 2010; 24, 1967–2000.
58. Liu, W.; Laitinen, S.; Khan, S.; Vihinen, M.; Kowalski, J.; Yu, G.; Chen, L.; Isaacs, W.B.; Visakorpi, T.; Bova, S. Copy number analysis indicates monoclonal origin of lethal metastatic prostate cancer. *Nat. Med.* 2009; 15, 559–565.
59. Haffner, M.C.; Mosbruger, T.; Esopi, D.M.; Fedor, H.; Heaphy, C.M.; Walker, D.A.; Adepla, N.; Gurel, M.; Hicks, J.; Meeker, A.K.; et al. Tracking the clonal origin of lethal prostate cancer origin of lethal prostate cancer. *J. Clin. Invest.* 2013; 123, 4918–4922.
60. Gundem, G.; Loo, P.V.; Kremeyer, B.; Alexandrov, L.B.; Tubio, J.M.C.; Papaemmanuil, E.; Brewer, D.S.; Kallio, H.M.L.; Hognas, G.; Annala, M.; et al. The evolutionary history of lethal metastatic prostate cancer. *Nature* 2015; 520, 353–357.
61. Hong, M.; Macintyre, G.; Wedge, D.C.; Van Loo, P.; Patel, K.; Lunka, S.; Alexandrov, L.B.; Sloggett, C.; Cmero, M.; Marass, F.; et al. Tracking the origins and drivers of subclonal metastatic expansion in prostate cancer. *Nat. Commun.* 2015; 6, 6605.

62. Kneppers, J.; Krijnsman, O.; Melis, M.; de Jong, J.; Peeper, D.S.; Bekers, E.; van der Poel, H.; Zwart, W.; Bergman, A.M. Frequent clonal relations between metastases and non-index prostate cancer lesions. *JCI Insight* 2019; 4, e124756.
63. Carreira, S.; Romanel, A.; Goodall, J.; Grist, E.; Ferraldeschi, R.; Miranda, S.; Prandi, D.; Lorente, D.; Frenel, J.S.; Pezaro, C.; et al. Tumor clone dynamics in lethal prostate cancer. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6, 254ra125.
64. Gandhi J, Afridi A, Vatsia S, et al. The molecular biology of prostate cancer: current understanding and clinical implications. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2018; 21(1):22-36. doi:10.1038/s41391-017-0023-8
65. Mamidi TKK, Wu J, Hicks C. Interactions between Germline and Somatic Mutated Genes in Aggressive Prostate Cancer. *Prostate Cancer.* 2019; doi:10.1155/2019/4047680
66. Packer JR, Maitland NJ. The molecular and cellular origin of human prostate cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2016; 1863:1238–60.
67. You, S.; Knudsen, B.S.; Er, N.; Alshalalfa, M.; Takhar, M.; Ashab, H.; Davicioni, E.; Karnes, J.; Klein, E.A.; Den, R.B.; et al. Integrated classification of prostate cancer reveals a novel luminal subtype with poor outcome. *Cancer Res.* 2016; 76, 1–11.
68. Schulz WA, Burchardt M, Cronauer MV. Molecular biology of prostate cancer. *Mol Hum Reprod.* 2003; 9:437–48.
69. Rubin MA, Maher CA, Chinnaiyan AM. Common gene rearrangements in prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2011; Sep 20; 29(27):3659-68.
70. Barbieri CE, Demichelis F, Rubin MA. Molecular genetics of prostate cancer: emerging appreciation of genetic complexity. *Histopathology* 2012; Jan;60(1):187-98.
71. Kumar-Sinha C, Tomlins SA, Chinnaiyan AM. Recurrent gene fusions in prostate cancer. *Nat Rev Cancer.* 2008; Jul;8(7):497-511.
72. Attard G, Parker C, Eeles RA, Schroder F, Tomlins SA, Tannock I, et al. Prostate cancer. *Lancet.* 2016; 387:70–82.

73. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, Dhanasekaran SM, Mehra R, Sun XW, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 2005; Oct 28; 310(5748):644-8.
74. Kim TS, Heinlein C, Hackman RC, Nelson PS. Phenotypic analysis of mice lacking the Tmprss2-encoded protease. *Mol Cell Biol*. 2006; 26:965–75.
75. Liu CY, Yu T, Huang Y, Cui L, Hong W. ETS (E26 transformation-specific) up-regulation of the transcriptional co-activator TAZ promotes cell migration and metastasis in prostate cancer. *J Biol Chem*. 2017;292:9420–30.
76. Tomlins SA, Laxman B, Varambally S, Cao X, Yu J, Helgeson BE, et al. Role of the TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. *Neoplasia* 2008; 10:177–88.
77. Vanaja DK, Chevillat JC, Iturria SJ, Young CY. Transcriptional silencing of zinc finger protein 185 identified by expression profiling is associated with prostate cancer progression. *Cancer Res*. 2003; 63:3877–82.
78. Carver BS, Tran J, Chen Z, Carracedo-Perez A, Alimonti A, Nardella C, et al. ETS rearrangements and prostate cancer initiation. *Nature*. 2009; 457:E1. discussion E2-3
79. Hagglof C, Hammarsten P, Stromvall K, Egevad L, Josefsson A, Stattin P, et al. TMPRSS2-ERG expression predicts prostate cancer survival and associates with stromal biomarkers. *PLoS ONE*. 2014; 9:e86824.
80. Gasi Tandefelt D, Boormans J, Hermans K, Trapman J. ETS fusion genes in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2014; 21: R143–52.
81. Makkonen H, Kauhanen M, Paakinaho V, Jaaskelainen T, Palvimo JJ. Long-range activation of FKBP51 transcription by the androgen receptor via distal intronic enhancers. *Nucleic Acids Res*. 2009; Jul;37(12):4135-48.
82. Nwosu V, Carpten J, Trent JM, Sheridan R. Heterogeneity of genetic alterations in prostate cancer: evidence of the complex nature of the disease. *Hum Mol Genet*. 2001; 10:2313–8.
83. Bratt O. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J Urol*. 2002; 168:906–13.

84. Simard J, Dumont M, Labuda D, Sinnett D, Meloche C, El-Alfy M, et al. Prostate cancer susceptibility genes: lessons learned and challenges posed. *Endocr Relat Cancer*. 2003; 10:225–59.
85. Tan MH, Li J, Xu HE, Melcher K, Yong EL. Androgen receptor: structure, role in prostate cancer and drug discovery. *Acta Pharmacol Sin*. 2015; 36:3–23.
86. Chang, C., Kokontis, C.J., Liao, S. (1988). Molecular cloning of human and rat complementary DNA encoding androgen receptors. *Science* 240; 324–326.
87. Quigley, C.A., De Bellis, A., Marschke, K.B., el-Awady, M. K., Wilson, E. M., and French, F. S. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives *Endocr Rev* 1995; 16, 271-321
88. Velcheti V, Karnik S, Bardot SF, Prakash O. Pathogenesis of prostate cancer: lessons from basic research. *Ochsner J*. 2008; 8:213–8.
89. Nelson WG, De Marzo AM, Isaacs WB. Prostate cancer. *N Engl J Med*. 2003; 349:366–81.
90. Sandhu SK, Omlin A, Hylands L, Miranda S, Barber LJ, Riisnaes R, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors for the treatment of advanced germline BRCA2 mutant prostate cancer. *Ann Oncol*. 2013; 24:1416–8.
91. Chang KH, Li R, Kuri B, Lotan Y, Roehrborn CG, Liu J, et al. Again-of-function mutation in DHT synthesis in castration resistant prostate cancer. *Cell*. 2013; 154:1074–84.
92. Mitsiades N, Sung CC, Schultz N, Danila DC, He B, Eedunuri VK, et al. Distinct patterns of dysregulated expression of enzymes involved in androgen synthesis and metabolism in metastatic prostate cancer tumors. *Cancer Res*. 2012; 72:6142–52.
93. Stanbrough M, Bubley GJ, Ross K, Golub TR, Rubin MA, Penning TM, et al. Increased expression of genes converting adrenal androgens to

testosterone in androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res.* 2006; 66:2815–25

94. Bonci D, Coppola V, Patrizii M, Addario A, Cannistraci A, Francescangeli F, et al. A microRNA code for prostate cancer metastasis. *Oncogene.* 2016; 35:1180–92.

95. Kokontis JM, Liao S. Molecular action of androgen in the normal and neoplastic prostate. *Vitam Horm.* 1999; 55:219–307.

96. Hope Q, Bullock S, Evans C, Meitz J, Hamel N, Edwards SM, et al. Macrophage scavenger receptor 1 999C>T (R293X) mutation and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 2005; 14:397–402.

97. Yu X, Guo C, Fisher PB, Subjeck JR, Wang XY. Scavenger Receptors: Emerging Roles in Cancer Biology and Immunology. *Adv Cancer Res.* 2015; 128:309–64

98. Nelson WG, De Marzo AM, DeWeese TL, Isaacs WB. The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *The Journal of Urology* 2004; 172:S6-S12.

99. Li XL, Xu JH. MTHFR polymorphism and the risk of prostate cancer: a meta-analysis of case-control studies. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2012; 15:244–9.

100. Martignano F, Gurioli G, Salvi S, Calistri D, Costantini M, Gunelli R, et al. GSTP1 Methylation and protein expression in prostate cancer: diagnostic implications. *Dis Markers.* 2016; 2016:4358292.

101. Nakayama M, Bennett CJ, Hicks JL, et al: Hypermethylation of the human glutathione S-transferase-Pi gene (GSTP1) CpG island is present in a subset of proliferative inflammatory atrophy lesions but not in normal or hyperplastic epithelium of the prostate: A detailed study using lasercapture microdissection. *Am J Pathol* 2003; 163:923-933

102. Lin X, Tascilar M, Lee WH, Vles WJ, Lee BH, Veeraswamy R, et al. GSTP1 CpG island hypermethylation is responsible for the absence of

- GSTP1 expression in human prostate cancer cells. *Am J Pathol.* 2001; Nov;159(5):1815-26.
103. Harden SV, Guo Z, Epstein JI, Sidransky D. Quantitative GSTP1 methylation clearly distinguishes benign prostatic tissue and limited prostate adenocarcinoma. *J Urol.* 2003; Mar;169(3):1138-42.
104. Bowen C, Bubendorf L, Voeller HJ, Slack R, Willi N, Sauter G, et al. Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. *Cancer Res.* 2000; Nov 1;60(21):6111-5.
105. Asatiani E, Huang WX, Wang A, Rodriguez Ortner E, Cavalli LR, Haddad BR, et al. Deletion, methylation, and expression of the NKX3.1 suppressor gene in primary human prostate cancer. *Cancer Res.* 2005; Feb 15;65(4):1164-73.
106. Huang Q, Whittington T, Gao P, et al. A prostate cancer susceptibility allele at 6q22 increases RFX6 expression by modulating HOXB13 chromatin binding. *Nat Genet.* 2014; 46(2):126-35
107. Salmena L, Carracedo A, Pandolfi PP. Tenets of PTEN tumor suppression. *Cell.* 2008; May 2;133(3):403-14.
108. Rubin MA, Gerstein A, Reid K, et al: 10q23.3 loss of heterozygosity is higher in lymph node–positive (pT2-3, N+) versus lymph node–negative (pT2-3, N0) prostate cancer. *Hum Pathol* 2000; 31:504-508.
109. Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, Demichelis F, Blattner M, Theurillat JP, et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet.* 2012; Jun;44(6):685-9.
110. Ronen S, Abbott DW, Kravtsov O, Abdelkader A, Xu Y, Banerjee A et al. PTEN loss and p27 loss differ among morphologic patterns of prostate cancer, including cribriform. *Hum Pathol.* 2017; 65:85-91.
111. Thompson PM, Seifried BA, Kyemba SK, Jensen SJ, Guo C, Maris JM, et al. Loss of heterozygosity for chromosome 14q in neuroblastoma. *Medical and pediatric oncology.* 2001; 36(1):28-31

112. Classon M, Harlow E. The retinoblastoma tumour suppressor in development and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2:910–7.
113. Nickerson ML, Im KM, Misner KJ, Tan W, Lou H, Gold B, et al. Somatic alterations contributing to metastasis of a castration resistant prostate cancer. *Hum Mutat*. 2013; 34:1231–41.
114. Nickerson ML, Das S, Im KM, Turan S, Berndt SI, Li H, et al. TET2 binds the androgen receptor and loss is associated with prostate cancer. *Oncogene*. 2017; 36:2172–83.
115. Mohler JL, Morris TL, Ford OH 3rd, Alvey RF, Sakamoto C, Gregory CW. Identification of differentially expressed genes associated with androgen-independent growth of prostate cancer. *Prostate*. 2002; 51:247–55.
116. Davies MA, Kim SJ, Parikh NU, Dong Z, Bucana CD, Gallick GE. Adenoviral-mediated expression of MMAC/PTEN inhibits proliferation and metastasis of human prostate cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2002; 8:1904–14.
117. Chappell WH, Lehmann BD, Terrian DM, Abrams SL, Steelman LS, McCubrey JA. p53 expression controls prostate cancer sensitivity to chemotherapy and the MDM2 inhibitor Nutlin-3. *Cell Cycle*. 2012; 11:4579–88.
118. Fournier PG, Juarez P, Jiang G, Clines GA, Niewolna M, Kim HS, et al. The TGF-beta signaling regulator PMEPA1 suppresses prostate cancer metastases to bone. *Cancer Cell*. 2015; 27:809–21.
119. Lee C, Zhang Q, Zi X, Dash A, Soares MB, Rahmatpanah F, et al. TGF-beta mediated DNA methylation in prostate cancer. *Transl Androl Urol*. 2012; 1:78–88.
120. Liu X, Gomez-Pinillos A, Loder C, Carrillo-de Santa Pau E, Qiao R, Unger PD, et al. KLF6 loss of function in human prostate cancer progression is implicated in resistance to androgen deprivation. *Am J Pathol*. 2012; 181:1007–16.

121. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409 (6822): 860–921.doi:10.1038/35057062. PMID11237011.
122. Gregory TR. Synergy between sequence and size in large-scale genomics. *Nature Reviews Genetics*6 (9): 699–708. Sep 2005. doi:10.1038/nrg1674. PMID16151375
123. Waters K., Molecular Genetics, The Stanford Encyclopedia of Philosophy (Fall 2013 Edition), Edward N. Zalta (ed.), retrieved from <https://plato.stanford.edu/archives/fall2013/entries/molecular-genetics>.
124. Gannett, Lisa, The Human Genome Project, The Stanford Encyclopedia of Philosophy (Winter 2019 Edition), Edward N. Zalta (ed.), retrieved from <https://plato.stanford.edu/archives/win2019/entries/human-genome>.
125. Brendan Maher, The Human Encyclopaedia, *Nature* 2012; 489:46–48.doi:10.1038/489046a
126. Treangen TJ, Salzberg SL. Repetitive DNA and next-generation sequencing: computational challenges and solutions [published correction appears in *Nat Rev Genet.* 2012;Feb;13(2):146]. *Nat Rev Genet.* 2011;13(1):36-46. doi:10.1038/nrg3117
127. Duitama J, Zablotskaya A, Gemayel R, et al. Large-scale analysis of tandem repeat variability in the human genome. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(9):5728-5741. doi:10.1093/nar/gku212
128. Pierce, Benjamin A. *Genetics: A Conceptual Approach* (4th edition). New York: W.H. Freeman, 2012, p. 538–540. ISBN 978-1-4292-3250-0.
129. Richard GF, Kerrest A, Dujon B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in Eukaryotes. *Micr Mol Bio Rev* 2008; 72:686-727.
130. Li YC, Korol AB, Fahima T et al. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Mol Ecol* 2002; 11:2453-2465.
131. Li YC, Korol AB, Fahima T et al. Microsatellites within genes: structure, function and evolution. *Mol Bio Evol* 2003; 21:991-1007.

132. Peltomäki P, Lothe R. A, Aaltonen L. A., Pylkkänen L., Nyström-Lahti M., Seruca R., David L., Holm R., Ryberg D., Haugen A., et al. Microsatellite instability is associated with tumors that characterize the hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome *Cancer Res.* 1993; Dec 15; 53(24): 5853–5855.
133. Loeb, L.A. Microsatellite instability: marker of a mutator phenotype in cancer. *Cancer research* 1994; 54 19, 5059-63 .
134. Wooster R, Cleton-Jansen AM, et al. Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers. *Nature Genet* 1994; 6:152-6.
135. Wang CF, Zhou XY, Zhang TM, Sun MH, Shi DR. Detection of germline mutations of hMLH1 and hMSH2 based on cDNA sequencing in China. *World J Gastroenterol* 2005; 11:6620–3.
136. Chang L, Chang M, Chang HM, Chang F. Expanding role of microsatellite instability in diagnosis and treatment of colorectal cancers. *J Gastrointest Cancer* 2017; 48(4):305–313.
137. Iyer R, Pluciennik A, Burdett V, Modrich P. DNA mismatch repair: functions and mechanisms. *Chem Rev* 2006; 106:302–23.
138. Ljungman M. The DNA Damage Response-Repair or Despair? *Environmental and Molecular Mutagenesis* 2010; doi: 10.1002/em.20597
139. Grindedal EM, Moller P, Eeles R, Stormorken AT, Bowitz-Lothe IM, Landro SM, et al. Germ-line mutations in mismatch repair genes associated with prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2009; 18:2460–7
140. Reyes GX, Schmidt TT, Kolodner RD, Hombauer H. New insights into the mechanism of DNA mismatch repair. *Chromosoma* 2015;124:443–62.
141. Pritchard CC, Morrissey C, Kumar A, Zhang X, Smith C, Coleman I, et al. Complex MSH2 and MSH6 mutations in hypermutated microsatellite unstable advanced prostate cancer. *Nat Commun* 2014; 5:4988.
142. Itkonen HM, Kantelinen J, Vaara M, Parkkinen S, Schlott B, Grosse F, et al. Human DNA polymerase alpha interacts with mismatch repair proteins MSH2 and MSH6. *FEBS Lett* 2016; 590:4233–41.

145. Miller DM, Thomas SD, Islam A, Muench D, Sedoris K. c-Myc and cancer metabolism. *Clin Cancer Res* 2012;18:5546-5553.
146. Kota J, Chivukula RR, O'Donnell KA, Wentzel EA, Montgomery CL, Hwang HW, Chang TC, Vivekanandan P, Torbenson M, Clark KR. Therapeutic microRNA delivery suppresses tumorigenesis in a murine liver cancer model. *Cell* 2009; 137:1005–1017.
147. Chang TC, Yu D, Lee YS, Wentzel EA, Arking DE, West KM, Dang CV, Thomas-Tikhonenko A, Mendell JT. Widespread microRNA repression by Myc contributes to tumorigenesis. *Nat Genet* 2008; 40:43-50.
148. Wang C, Tai Y, Lisanti MP, Liao DJ. c-Myc induction of programmed cell death may contribute to carcinogenesis: a perspective inspired by several concepts of chemical carcinogenesis. *Cancer Biol Ther* 2011; 11:615-26.
149. Fan L, Peng G, Sahgal N, Fazli L, Gleave M, Zhang Y, et al. Regulation of c-Myc expression by the histone demethylase JMJD1A is essential for prostate cancer cell growth and survival. *Oncogene* 2016; 35:2441–52.
150. Koh et al, MYC and Prostate Cancer, *Genes & Cancer* June 2010 vol. 1 no. 6 617-628
151. Ma B, Wells A. The mitogen-activated protein (MAP) kinases p38 and extracellular signal-regulated kinase (ERK) are involved in hepatocyte-mediated phenotypic switching in prostate cancer cells. *J Biol Chem* 2014; 289:11153–61.
152. Catz SD, Johnson JL. BCL-2 in prostate cancer: a mini review. *Apoptosis*. 2003; 8:29–37.
153. Li LC, Carroll PR, Dahiya R. Epigenetic changes in prostate cancer: implication for diagnosis and treatment. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:103–15.
154. Duggan D, Zheng SL, Knowlton M, Benitez D, Dimitrov L, Wiklund F, et al. Two genome-wide association studies of aggressive prostate cancer implicate putative prostate tumor suppressor gene DAB2IP. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99:1836–44.

155. Siampanopoulou M, Galaktidou G, Dimasis N, Gotzamani-Psarrakou A. Profiling serum HER-2/NEU in prostate cancer. *Hippokratia* 2013;17:108–12.
156. Huang M, Koizumi A, Narita S, Inoue T, Tsuchiya N, Nakanishi H, et al. Diet-induced alteration of fatty acid synthase in prostate cancer progression. *Oncogenesis*. 2016; 5:e195.
157. Benafif S, Kote-Jarai Z, Eeles RA; PRACTICAL Consortium. A Review of Prostate Cancer Genome-Wide Association Studies (GWAS). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2018; 27(8):845-857. doi:10.1158/1055-9965.EPI-16-1046
158. Amundadottir LT, Sulem P, Gudmundsson J, Helgason A, Baker A, Agnarsson BA, et al. A common variant associated with prostate cancer in European and African populations. *Nat Genet* 2006; Jun;38(6):652-8.
159. Freedman ML, Haiman CA, Patterson N, McDonald GJ, Tandon A, Waliszewska A, et al. Admixture mapping identifies 8q24 as a prostate cancer risk locus in African-American men. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; Sep19;103(38):14068-73.
160. Jennifer L. Beebe-Dimmer, Albert M. Levin, et al, Chromosome 8q24 markers Risk of early-onset and familial prostate cancer, *Int J Cancer* 2008; June 15; 122(12): 2876–2879.
161. Prodipto Pal, Huifeng Xi, et al, Common Variants in 8q24 Are Associated With Risk for Prostate Cancer and Tumor Aggressiveness in Men of European Ancestry, *The Prostate* 2009; 69:1548-1556
162. Gudmundsson J, Sulem P, Manolescu A, Amundadottir LT, Gudbjartsson D, Helgason A, et al. Genome-wide association study identifies a second prostate cancer susceptibility variant at 8q24. *Nat Genet*. 2007; 39:631–7.
163. Zheng SL, Sun J, Wiklund F, Smith S, Stattin P, Li G, et al. Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N Engl J Med* 2008; 358:910–9.

164. Sotelo J., Esposito D., et al, Long-range enhancers on 8q24 regulate c-Myc, PNAS 2010; February 16, vol. 107 no. 7, 3001–3005
165. Park JJ, Jin YB, Lee YJ, Lee JS, Lee YS, Ko YG, et al. KAI1 suppresses HIF-1alpha and VEGF expression by blocking CDCP1-enhanced Src activation in prostate cancer. BMC Cancer 2012;12:81
166. Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF, et al. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med 2016; 375(5):443–453. doi:10.1056/NEJMoa1603144
167. McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. Prostate 1981; 2(1): 35-49.
168. Coghlin C, Murray GI. Current and emerging concepts in tumour metastasis. J Pathol 2010; 222(1):1-15
169. Hudson DL, O'Hare M, Watt FM, Masters JR. Proliferative heterogeneity in the human prostate: evidence for epithelial stem cells. Lab Invest 2000; 80: 1243–1250.
170. Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. Eur Urol 2016 Jul;70(1):106-119. doi: 10.1016/j.eururo.2016.02.028
171. Sogani P.C., Israel A., Lieberman P.H., Lesser M.L., Whitmore W.F Jr.. Gleason grading of prostate cancer: a predictor of survival. Urology 1985; 25:223-227.
172. Epstein, J.I., et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. Am J Surg Pathol 2016; 40: 244. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26492179>
173. Sunassee A, Al Sannaa G, Ro JY: Intraductal carcinoma of prostate (IDC-P), grade group, and molecular pathology: recent advances and practical implication. Ann Urol Oncol 2019; 2(1): 9-18. <https://doi.org/10.32948/auo.2019.03.11>

174. J.I. Epstein. Pathology of prostatic neoplasia. Campbell - Walsh Urology. 10th Edition. Philadelphia. Elsevier Saunders 2012; p:2726.
175. J.I. Epstein, M. Herawi. Prostate needle biopsies containing prostatic intraepithelial neoplasia or atypical foci suspicious for carcinoma: implications for patient care. J Urol 2006; 175:820-834.
176. Sakr W, et al. Prostatic intraepithelial neoplasia. WHO. Tumours of the urinary and male genital system. Pathology and Genetics 2004; pp 193-8.
177. Tsodikov, A., et al. Reconciling the Effects of Screening on Prostate Cancer Mortality in the ERSPC and PLCO Trials. Ann Intern Med 2017; 167: 449. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28869989>
178. Bibbins-Domingo, K., et al. The US Preventive Services Task Force 2017 Draft Recommendation Statement on Screening for Prostate Cancer: An Invitation to Review and Comment. JAMA 2017; 317: 1949.
179. Grossman, D.C., et al. Screening for Prostate Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. Jama 2018; 319: 1901. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2680553>
180. Hayes, J.H., et al. Screening for prostate cancer with the prostate-specific antigen test: a review of current evidence. JAMA 2014; 311: 1143. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24643604>
181. Schroder, F.H., et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. Lancet 2014; 384: 2027. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25108889>
182. Martin, R.M., et al. Effect of a Low-Intensity PSA-Based Screening Intervention on Prostate Cancer Mortality: The CAP Randomized Clinical Trial. Jama 2018; 319: 883. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29509864>
183. Vedder, M.M., et al. The added value of percentage of free to total prostate-specific antigen, PCA3, and a kallikrein panel to the ERSPC risk calculator for prostate cancer in prescreened men. Eur Urol 2014; 66: 1109. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25168616>

184. Leyten, G.H., et al. Prospective multicentre evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers for prostate cancer. *Eur Urol* 2014; 65: 534.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23201468>
185. Diamandis EP, Yu H. Non Prostatic sources of prostate specific antigen. *Urol Clin North Am* 1997; 24:275-282
186. Bunting PS: Screening for prostate cancer with prostate-specific antigen: beware the biases. *Clin Chim Acta* 2002; 315: 71-97
187. T.A. Stamey, N. Yang, A.R. Hay, J.E. McNeal, F.S. Freiha, E. Redwine. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1987; 317:909-916.
188. Thompson, I.M., et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level $\leq$ 4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med* 2004; 350: 2239
189. Ohori M, Dunn JK, Scardino PT. Is prostate specific antigen density more useful than prostate specific antigen levels in the diagnosis of prostate cancer? *Urology* 1995; 46:666- 671
190. Brassell SA, Kao TC, Sun L, Moul JW. Prostate specific antigen versus prostate specific antigen density as predictor of tumor volume, margin status, pathologic stage and biochemical recurrence of prostate cancer. *Urology* 2005; 66:1229- 1233
191. Heidenreich A. Identification of high-risk prostate cancer: role of prostate-specific antigen, PSA doubling time, and PSA velocity. *Eur Urol* 2008; 54(5):976-979. doi:10.1016/j.eururo.2008.06.077
192. Carter HB, Morrell CH, Pearson JD, Brant LJ, Plato CC, Metter EJ et al. Estimation of prostatic growth using serial prostate specific antigen measurements in men with and without prostate disease. *Cancer Res* 1992; 52:3323- 3328

193. S. Loeb, K.A. Roehl, R.B. Nadler, X. Yu, W.J. Catalona. Prostate specific antigen velocity in men with total prostate specific antigen less than 4 ng/ml. *J Urol* 2007; 178:2348-2352.
194. J.W. Moul, L. Sun, J.M. Hotelling, N.J. Fitzsimons, T.J. Polascik, C.N. Robertson, P. Dahm, M.S. Anscher, V. Mouraviev, P.A. Pappas, D.M. Albala. Age adjusted prostate specific antigen and prostate specific antigen velocity cut points in prostate cancer screening. *J Urol* 2007; 177:499-503.
195. D.A. Patel, J.C. Presti Jr, J.E. McNeal, H. Gill, J.D. Brooks, C.R. King. Preoperative PSA velocity is an independent prognostic factor for relapse after radical prostatectomy. *J Clin Oncol* 2005; 23:6157-6162.
196. A.J. Vickers, C. Savage, M.F. O'Brien, H. Lilja. Systematic review of pretreatment prostate-specific antigen velocity and doubling time as predictors for prostate cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27:398-403.
197. K.R. Loughlin. PSA velocity: a systematic review of clinical applications. *Urol Oncol* 2014; 32:1116-1125.
198. Oesterling JE, Martin SK, Bergstralh EJ, Lowe FC. The use of prostate-specific antigen in staging patients with newly diagnosed prostate cancer. *JAMA* 1993; 269(1):57-60.
199. Lein M, Kwiatkowski M, Semjonow A, Luboldt HJ, Hammerer P, Stephan C, Klevecka V, Taymoorian K, Schnorr D, Recker F, Loening SA, Jung K A multicenter clinical trial on the use of complexed prostate specific antigen in low prostate specific antigen concentrations. *J Urol* 2003; Oct;170 (4 Pt 1):1175-9 doi: 10.1097/01.ju.0000087560.30497.4e
200. Roddam AW, Duffy MJ, Hamdy FC, Ward AM, Patnick J, Price CP, Rimmer J, Sturgeon C, White P, Allen NE; NHS Prostate Cancer Risk Management Programme. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis. *Eur Urol* 2005; Sep;48(3):386-99; discussion 398-9. PMID:15982797 doi: 10.1016/j.eururo.2005.04.015

201. Stenman U.H., Hakam M, Knekt P, Aromaa A, Teppo L, Leinonen J, Serum concentrations of prostate specific antigen and its complex with alpha 1-antichymotrypsin before diagnosis of prostate cancer. *Lancet* 1994; 344:1594-1598.
202. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998; 279(19):1542-1547. doi:10.1001/jama.279.19.1542
203. Boegemann M, Stephan C, Cammann H, et al. The percentage of prostate-specific antigen (PSA) isoform [-2]proPSA and the Prostate Health Index improve the diagnostic accuracy for clinically relevant prostate cancer at initial and repeat biopsy compared with total PSA and percentage free PSA in men aged ≤ 65 years. *BJU Int* 2016; 117(1):72-79. doi:10.1111/bju.13139
204. Sokoll LJ, Chan DW, Mikolajczyk SD, et al. Proenzyme psa for the early detection of prostate cancer in the 2.5-4.0 ng/ml total psa range: preliminary analysis. *Urology* 2003; 61(2):274-276. doi:10.1016/s0090-4295(02)02398-1
205. Sokoll LJ, Sanda MG, Feng Z, et al. A prospective, multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network study of [-2]proPSA: improving prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(5):1193-1200. doi:10.1158/1055-9965.EPI-10-0007
206. Hatakeyama S, Yoneyama T, Tobisawa Y, Ohyama C. Recent progress and perspectives on prostate cancer biomarkers. *Int J Clin Oncol* 2017; 22(2):214–221. doi:10.1007/s10147-016-1049-y
207. Perdona S, Bruzzese D, Ferro M, Autorino R, Marino A, Mazzarella C, Perruolo G, Longo M, Spinelli R, Di Lorenzo G, Oliva A, De Sio M, Damiano R, Altieri V, Terracciano D. Prostate health index (phi) and prostate cancer antigen 3 (PCA3) significantly improve diagnostic accuracy in patients undergoing prostate biopsy. *Prostate* 2013;73:227-235.

208. de la Calle C, Patil D, Wei JT, et al. Multicenter Evaluation of the Prostate Health Index to Detect Aggressive Prostate Cancer in Biopsy Naive Men. *J Urol* 2015;194(1):65-72.
209. C.J. Harvey, J. Pilcher, J. Richenberg, U. Patel, F. Frauscher. Applications of transrectal ultrasound in prostate cancer *Br J Radiol* 2012; S3-S17.
210. Junker D., De Zordo T., Quentin M., Ladurner M., Bektic J., Horniger W., Jaschke W., Aigner F. Real-time elastography of the prostate. *Biomed Res Int* 2014; 2014:180804. doi:10.1155/2014/180804 Epub 2014 May 22
211. Drost, F.J.H., et al. Prostate MRI, with or without MRI-targeted biopsy, and systematic biopsy for detecting prostate cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2019; In press. Retrieved from: <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/> 02.05.2020
212. Zappala SM, Scardino PT, Okrongly D, Linder V, Dong Y. Clinical performance of the 4Kscore Test to predict high-grade prostate cancer at biopsy: A meta-analysis of us and European clinical validation study results. *Reviews in Urology* 2017; 19(3):149-155. doi:10.3909/riu0776.
213. Russo GI, Regis F, Castelli T, et al. A Systematic Review and Meta-analysis of the Diagnostic Accuracy of Prostate Health Index and 4-Kallikrein Panel Score in Predicting Overall and High-grade Prostate Cancer. *Clinical Genitourinary Cancer* 2017; Aug;15(4):429-439.e1. doi: 10.1016/j.clgc.2016.12.022.
214. Kirby RS, Fitzpatrick JM, Irani J. Prostate cancer diagnosis in the new millennium: strengths and weaknesses of prostate-specific antigen and the discovery and clinical evaluation of prostate cancer gene 3 (PCA3). *BJU Int.* 2009; Feb 103(4):441-5.
215. Nicholson A, Mahon J, Boland A, et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of the PROGENSA® prostate cancer antigen 3 assay and the Prostate Health Index in the diagnosis of prostate cancer: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2015;19(87):i-191. doi:10.3310/hta19870

216. Jakobsen NA, Hamdy FC, Bryant RJ. Novel biomarkers for the detection of prostate cancer. *J Clin Urol* 2016; 9(2 Suppl):3-10.
doi:10.1177/2051415816656121
217. 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. doi:10.1016/j.eururo.2015.04.039
218. Mosquera JM, Mehra R, Regan MM, et al. Prevalence of TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer among men undergoing prostate biopsy in the United States. *Clin Cancer Res* 2009; 15:4706-11.
219. Leyten GH, Hessels D, Jannink SA, et al. Prospective multicenter evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers for prostate cancer. *Eur Urol* 2014; 65: 534–542.
220. Morgan R, Boxall A, Bhatt A, et al. Engrailed-2 (EN2): A tumor specific urinary biomarker for the early diagnosis of prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1090–1098.
221. Hamelin-Peyron C, Vlaeminck-Guillem V, Haidous H, et al. Prostate cancer biomarker annexin A3 detected in urines obtained following digital rectal examination presents antigenic variability. *Clin Biochem* 2014; 47: 901–908
222. Sreekumar A, Poisson L, Rajendiran T, Khan A, Cao Q, Yu J et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature* 2009; 457:910-914
223. Carneiro, A., Priante Kayano, P., Gomes Barbosa, Á. R., Langer Wroclawski, M., Ko Chen, C., Cavlini, G. C., Bianco, B. Are localized prostate cancer biomarkers useful in the clinical practice? *Tumor Biology*. 2018.<https://doi.org/10.1177/1010428318799255>
224. Knezevic D, Goddard AD, Natraj N et al Analytical validation of the Oncotype DX prostate cancer assay—a clinical RTPCR assay optimized for

prostate needle biopsies. BMC Genom 2013; 14:690 doi:10.1186/1471-2164-14-690

225. Carroll PR, Parsons JK, Andriole G et al NCCN Guidelines Insights: Prostate Cancer Early Detection, Version 2.2016. J Natl Compr Canc Netw 2016; 14(5):509–519

226. Crawford ED, Scholz MC, Kar AJ et al Cell cycle progression score and treatment decisions in prostate cancer: results from an ongoing registry. Curr Med Res Opin 2014; 30(6):1025 – 1031.doi:10.1185/03007995.2014.899208

227. Karnes RJ, Bergstralh EJ, Davicioni E et al Validation of a genomic classifier that predicts metastasis following radical prostatectomy in an at risk patient population. J Urol 2013; 190(6):2047–2053. doi:10.1016/j.juro.2013.06.017

228. Makri A, Pissimissis N, Lembessis P, Polychronakos C, Koutsilieris M. The kisspeptin (KiSS-1)/GPR54 system in cancer biology. Cancer Treat Rev. 2008; 34(8): 682-692.

229. Beck BH, Welch DR. The KISS1 metastasis suppressor: a good night kiss for disseminated cancer cells. Eur J Cancer. 2010; 46(7): 1283-1289

230. Kirby HR, Maguire JJ, Colledge WH, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXVII. Kisspeptin receptor nomenclature, distribution, and function. Pharmacol Rev 2010; 62(4): 565-578.

231. Ciaramella V, Della Corte CM, Ciardiello F, Morgillo F. Kisspeptin and Cancer: Molecular Interaction, Biological Functions, and Future Perspectives. Front Endocrinol (Lausanne) 2018; 9:115. doi: 10.3389/fendo.2018.00115

232. Papaoiconomou E, Msaouel P, Makri A, Diamanti-Kandarakis E, Koutsilieris M. The role of kisspeptin/GPR54 in the reproductive system. In Vivo 2011; 25(3): 343-354.

233. Hu, K. L. et al. Kisspeptin/kisspeptin receptor system in the ovary, Frontiers in Endocrinology 2018; doi: 10.3389/fendo.2017.00365.

234. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, et al. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem* 2001; 276(31): 28969-28975. PMID: 11387329. doi: 10.1074/jbc.M102743200
235. Goldberg SF, Miele ME, Hatta N, et al. Melanoma metastasis suppression by chromosome 6: evidence for a pathway regulated by CRSP3 and TXNIP. *Cancer research* 2003; 63:432-40.
236. Lehman, M. N., Coolen, L. M. and Goodman, R. L. Minireview: Kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) cells of the arcuate nucleus: A central node in the control of gonadotropin-releasing hormone secretion, *Endocrinology* 2010; doi: 10.1210/en.2010-0022.
237. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 2001; 276(37): 34631-34636, PMID: 11457843. doi: 10.1074/jbc.M104847200.
238. Oakley AE, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin signaling in the brain. *Endocr Rev.* 2009;30(6):713-743. doi:10.1210/er.2009-0005
239. Sonigo, C. and Binart, N. 'Overview of the impact of kisspeptin on reproductive function', *Annales d'Endocrinologie*. 2012; Elsevier Masson SAS, 73(5), pp. 448–458. doi: 10.1016/j.ando.2012.07.680.
240. Roa J, Navarro VM, Tena-Sempere M. Kisspeptins in reproductive biology: consensus knowledge and recent developments. *Biol Reprod.* 2011; 85(4):650-660. doi:10.1095/biolreprod.111.091538
241. García-Galiano D, Pinilla L, Tena-Sempere M. Sex steroids and the control of the Kiss1 system: developmental roles and major regulatory actions. *J Neuroendocrinol.* 2012;24(1):22-33. doi:10.1111/j.1365-2826.2011.02230.x.
242. Navarro VM, Castellano JM, Fernández-Fernández R, et al. Characterization of the potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1

peptide, the natural ligand of GPR54. *Endocrinology*. 2005;146(1):156-163.
doi:10.1210/en.2004-0836

243. Navarro VM, Fernández-Fernández R, Castellano JM, et al. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol*. 2004;561(Pt 2):379-386.
doi:10.1113/jphysiol.2004.072298

244. de Roux, N. et al. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; doi: 10.1073/pnas.1834399100.

245. Topaloglu AK, Tello J, Kotan D, Ozbek M, Yilmaz B, Erdogan S et al. Inactivating KISS1 mutation and hypogonadotropic hypogonadism. *New England Journal of Medicine*. 2012 Feb 16;366(7):629-635.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1111184>

246. Jayasena CN, Nijher GM, Chaudhri OB, et al. Subcutaneous injection of kisspeptin-54 acutely stimulates gonadotropin secretion in women with hypothalamic amenorrhea, but chronic administration causes tachyphylaxis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(11):4315-4323. doi:10.1210/jc.2009-0406

247. Cejudo Roman, A. et al. Analysis of the expression of neurokinin B, kisspeptin, and their cognate receptors NK3R and KISS1R in the human female genital tract, *Fertility and Sterility* 2012; doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.02.021.

248. Dorfman MD, Garcia-Rudaz C, Alderman Z, et al. Loss of Ntrk2/Kiss1r signaling in oocytes causes premature ovarian failure. *Endocrinology*. 2014;155(8):3098-3111. doi:10.1210/en.2014-1111

249. Hsu MC, Wang JY, Lee YJ, Jong DS, Tsui KH, Chiu CH. Kisspeptin modulates fertilization capacity of mouse spermatozoa. *Reproduction*. 2014;147(6):835-845. doi:10.1530/REP-13-0368

250. Hu KL, Chang HM, Zhao HC, Yu Y, Li R, Qiao J. Potential roles for the kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. *Hum Reprod Update* 2019;25(3):326-343. doi:10.1093/humupd/dmy046.
251. Horikoshi, Y. et al. 'Dramatic elevation of plasma metastatin concentrations in human pregnancy: Metastatin as a novel placenta-derived hormone in humans, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; doi: 10.1210/jc.2002-021235.
252. Harter CJL, Kavanagh GS, Smith JT. The role of kisspeptin neurons in reproduction and metabolism. *J Endocrinol.* 2018;238(3):R173-R183.
253. Tng EL. Kisspeptin signalling and its roles in humans. *Singapore Med J.* 2015;56(12):649-56.
254. Clarke H, Dhillon WS, Jayasena CN. Comprehensive Review on Kisspeptin and Its Role in Reproductive Disorders. *Endocrinology and Metabolism* 2015; Jun;30(2):124-141. DOI: 10.3803/enm.2015.30.2.124.
255. Comninou AN, Dhillon WS. Emerging Roles of Kisspeptin in Sexual and Emotional Brain Processing. *Neuroendocrinology.* 2018;106(2):195-202. doi:10.1159/000481137
256. Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene [published correction appears in *J Natl Cancer Inst* 1997 Oct 15;89(20):1549]. *J Natl Cancer Inst.* 1996; 88(23):1731-1737. doi:10.1093/jnci/88.23.1731
257. Miele ME, Robertson G, Lee JH, Coleman A, McGary CT, Fisher PB, Lugo TG, Welch DR. Metastasis suppressed, but tumorigenicity and local invasiveness unaffected, in the human melanoma cell line MelJuSo after introduction of human chromosomes 1 or 6. *Mol Carcinog.* 1996 Apr; 15(4):284-99
258. Stathaki M, Stamatiou ME, Magioris G, et al. The role of kisspeptin system in cancer biology. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2019;142:130-140. doi:10.1016/j.critrevonc.2019.07.015

259. Guzman S, Brackstone M, Radovick S, Babwah AV, Bhattacharya MM. KISS1/KISS1R in Cancer: Friend or Foe?. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 9:437. Published 2018 Aug 3. doi:10.3389/fendo.2018.00437
260. Lee JH, Welch DR. Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with the metastasis suppressor gene, KiSS-1. *Cancer Res.*1997; 57:2384–7.
261. Ringel MD, Hardy E, Bernet VJ, et al. Metastin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(5):2399. doi:10.1210/jcem.87.5.8626
262. Sousa, JF., Espreafico, EM., Suppression subtractive hybridization profiles of radial growth phase and metastatic melanoma cell lines reveal novel potential targets. *BMC Cancer*. 2008; 22;8:19. doi: 10.1186/1471-2407-8-19
263. Yan C, Wang H, Boyd DD. KiSS-1 represses 92-kDa type IV collagenase expression by down-regulating NF-kappa B binding to the promoter as a consequence of Ikappa Balpha -induced block of p65/p50 nuclear translocation. *J Biol Chem*. 2001;276(2):1164-1172. doi:10.1074/jbc.M008681200
264. Becker JA, Mirjolet JF, Bernard J, et al. Activation of GPR54 promotes cell cycle arrest and apoptosis of human tumor cells through a specific transcriptional program not shared by other Gq-coupled receptors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;326(3):677-686. doi:10.1016/j.bbrc.2004.11.094
265. Navenot JM, Fujii N, Peiper SC. Activation of Rho and Rho-associated kinase by GPR54 and KiSS1 metastasis suppressor gene product induces changes of cell morphology and contributes to apoptosis. *Mol Pharmacol*. 2009;75(6):1300-1306. doi:10.1124/mol.109.055095
266. Navenot JM, Fujii N, Peiper SC. KiSS1 metastasis suppressor gene product induces suppression of tyrosine kinase receptor signaling to Akt, tumor necrosis factor family ligand expression, and apoptosis. *Mol Pharmacol*. 2009;75(5):1074-1083. doi:10.1124/mol.108.054270

267. Pampillo M, Camuso N, Taylor JE, et al. Regulation of GPR54 signaling by GRK2 and β -arrestin. *Mol Endocrinol*. 2009;23(12):2060-2074. doi:10.1210/me.2009-0013
268. Lee JH, Welch DR. Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with the metastasis suppressor gene, KiSS-1. *Cancer Res*. 1997;57(12):2384-2387.
269. Papaoiconomou E, Lymperi M, Petraki C, et al. Kiss-1/GPR54 protein expression in breast cancer. *Anticancer Res*. 2014;34(3):1401-1407.
270. Kostadima L, Pentheroudakis G, Pavlidis N. The missing kiss of life: transcriptional activity of the metastasis suppressor gene KiSS1 in early breast cancer. *Anticancer Res*. 2007;27(4B):2499-2504.
271. Olbrich T, Ziegler E, Türk G, Schubert A, Emons G, Gründker C. Kisspeptin-10 inhibits bone-directed migration of GPR54-positive breast cancer cells: Evidence for a dose-window effect. *Gynecol Oncol*. 2010;119(3):571-578. doi:10.1016/j.ygyno.2010.08.018
272. Martin TA, Watkins G, Jiang WG, KiSS-1 expression in human breast cancer. *Clin Exp Metast*. 2005; 22:503–11. doi: 10.1007/s10585-005-4180-0
273. Cvetković D, Babwah AV, Bhattacharya M. Kisspeptin/KISS1R System in Breast Cancer. *J Cancer*. 2013;4(8):653-661. Published 2013 Sep 26. doi:10.7150/jca.7626
274. Marot D, Bieche I, Aumas C, Esselin S, Bouquet C, Vacher S, et al. High tumoral levels of Kiss1 and G-protein-coupled receptor 54 expression are correlated with poor prognosis of estrogen receptor-positive breast tumors. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14:691–702. doi: 10.1677/ERC-07-0012.
275. Blake A, Dragan M, Tirona RG, et al. G protein-coupled KISS1 receptor is overexpressed in triple negative breast cancer and promotes drug resistance. *Sci Rep*. 2017;7:46525. Published 2017 Apr 19. doi:10.1038/srep46525
276. Goertzen CG, Dragan M, Turley E, Babwah AV, Bhattacharya M. KISS1R signaling promotes invadopodia formation in human breast cancer

cell via β -arrestin2/ERK. *Cell Signal*. 2016;28(3):165-176.

doi:10.1016/j.cellsig.2015.12.010

277. Tian J, Al-Odaini AA, Wang Y, et al. KiSS1 gene as a novel mediator of TGF β -mediated cell invasion in triple negative breast cancer. *Cell Signal*.

2018;42:1-10. doi:10.1016/j.cellsig.2017.10.002

278. Cho SG, Wang Y, Rodriguez M, Tan K, Zhang W, Luo J, et al.

Haploinsufficiency in the prometastasis Kiss1 receptor Gpr54 delays breast tumor initiation, progression, and lung metastasis. *Cancer Res*. 2011;

71:6535–46. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0329

279. Ikeguchi, M., Hirooka, Y. & Kaibara, N. Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction analysis for KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129, 531–535). doi.org:10.1007/s00432-003-0469-z

280. Schmid K, Wang X, Haitel A, et al. KiSS-1 overexpression as an independent prognostic marker in hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study. *Virchows Arch*. 2007;450(2):143-149.

doi:10.1007/s00428-006-0352-9

281. Song WJ, Mondal P, Wolfe A, et al. Glucagon regulates hepatic kisspeptin to impair insulin secretion. *Cell Metab*. 2014;19(4):667-681.

doi:10.1016/j.cmet.2014.03.005

282. Masui T, Doi R, Mori T, et al. Metastin and its variant forms suppress migration of pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*.

2004;315(1):85-92. doi:10.1016/j.bbrc.2004.01.021

283. Nagai K, Doi R, Katagiri F, et al. Prognostic value of metastin expression in human pancreatic cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009;28(1):9. Published 2009 Jan 21. doi:10.1186/1756-9966-28-9

284. Kostakis ID, Agrogiannis G, Vaiopoulos AG, Mylona E, Patsouris E, Kouraklis G, et al. A clinicopathological analysis of KiSS1 and KiSS1R expression in colorectal cancer. *APMIS* 2015; 123(7):629–37.

doi:10.1111/apm.12397

285. Canbay E, Ergen A, Bugra D, Yamaner S, Eraltan IY, Buyukuncu Y, et al. Kisspeptin-54 levels are increased in patients with colorectal cancer. *World J Surg.* 2012; 36:2218–24. doi: 10.1007/s00268-012-1636-7
286. Stathaki M, Armakolas A, Dimakakos A, Kaklamanis L, Vlachos I, Konstantoulakis MM, Zografos G and Koutsilieris M: Kisspeptin effect on endothelial monocyte activating polypeptide II (EMAP-II)-associated lymphocyte cell death and metastases in colorectal cancer patients. *Mol Med* 2014; 20: 80-92
287. Ikeguchi, M., K. Yamaguchi, et al. "Clinical significance of the loss of KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in esophageal squamous cell carcinoma." *Clin Cancer Res* 2004; 10(4): 1379-83.
288. Ergen, A., Canbay, E., Bugra, D., Zeybek, U., Yamaner, S., Bulut, T. Plasma Kisspeptin-54 levels in gastric cancer patients. *Int. J. Surg.* 2012; 10, 551–554.
289. Kostakis ID, Agrogiannis G, Vaiopoulos AG, et al. KISS1 and KISS1R expression in gastric cancer. *J BUON.* 2018;23(1):79-84.
290. Jakobsen JN, Sørensen JB. Intratumor heterogeneity and chemotherapy-induced changes in EGFR status in non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2012;69(2):289-299. doi:10.1007/s00280-011-1791-9.
291. Shoji, S., X. Y. Tang, et al. "Metastin inhibits migration and invasion of renal cell carcinoma with overexpression of metastin receptor." *Eur Urol* 2009;.55(2): 441-9.
292. Takeda T, Kikuchi E, Mikami S, et al. Prognostic role of KiSS-1 and possibility of therapeutic modality of metastin, the final peptide of the KiSS-1 gene, in urothelial carcinoma. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(4):853-863. doi:10.1158/1535-7163.MCT-11-0521
293. Sanchez-Carbajo M, Capodieci P, Cordon-Cardo C. Tumor suppressor role of KiSS-1 in bladder cancer: loss of KiSS-1 expression is associated with

bladder cancer progression and clinical outcome. *Am J Pathol.*

2003;162(2):609-617. doi:10.1016/S0002-9440(10)63854-0

294. Kang, H.S., Baba, T., Mandai, M., Matsumura, N., Hamanishi, J., Kharma, B., Kondoh, E., Yoshioka, Y., Oishi, S., Fujii, N., Murphy, S.K., Konishi, I., GPR54 is a target for suppression of metastasis in endometrial cancer. *Mol. Cancer Ther.* 2011; 10, 580–590

295. Prentice, Leah M., Klausen, Christian, Kalloger, Steve, Köbel, et al. Kisspeptin and GPR54 immunoreactivity in a cohort of 518 patients defines favourable prognosis and clear cell subtype in ovarian carcinoma. *BMC Med* 2007; 5, 33.

296. Wiiger MT, Bideli H, Fodstad O, Flatmark K, Andersson Y. The MOC31PE immunotoxin reduces cell migration and induces gene expression and cell death in ovarian cancer cells. *J Ovarian Res.* 2014;7:23. Published 2014 Feb 15. doi:10.1186/1757-2215-7-23.

297. Makri, A., Msaouel, P., Petraki, C., Milingos, D., Protopapas, A., Liapi, A., Antsaklis, A., Magkou, C., Koutsilieris, M., KISS-1/KISS-1R expression in eutopic and ectopic endometrium of women suffering from endometriosis. *In Vivo* 2012; 26, 119–127.

298. Ringel, M., Hardy, E., Bernet, V.J., et al., Metastin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2002b; 87, 2399

299. Savvidis, C., Papaiconomou, E., Petraki, C., et al. The role of KISS-1/KISS-1R system in tumor growth and invasion of differentiated thyroid cancer. *Anticancer Res.* 2015; 35, 819–826.

300. Stathatos, N., I. Bourdeau, et al. KiSS-1/G protein-coupled receptor 54 metastasis suppressor pathway increases myocyte-enriched calcineurin interacting protein 1 expression and chronically inhibits calcineurin activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(9): 5432-40.

301. Wang, Fa-Sheng, Chen, Hui, Wu, Zhao-Yang, Lin, Jian-Hua,.KISS-1 expression in osteosarcoma: high in chinese clinical cases, but lower in cell lines. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2011; 12, 3229–3234.
302. Ohta S, Lai EW, Pang AL, et al. Downregulation of metastasis suppressor genes in malignant pheochromocytoma. *Int J Cancer.* 2005;114(1):139-143. doi:10.1002/ijc.20670
303. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature.* 2001;411(6837):613-617. doi:10.1038/35079135
304. Wang H, Jones J, Turner T, et al. Clinical and biological significance of KISS1 expression in prostate cancer. *Am J Pathol.* 2012;180(3):1170-1178. doi:10.1016/j.ajpath.2011.11.020
305. Curtis AE, Murphy KG, Chaudhri OB, Ramachandran R, Young AM, Waxman J, et al. Kisspeptin is released from human prostate cancer cell lines but plasma kisspeptin is not elevated in patients with prostate cancer. *Oncol Rep.* 2010; 23:1729–34. doi: 10.3892/or_00000818
306. Kim TH, Cho SG. Kisspeptin inhibits cancer growth and metastasis via activation of EIF2AK2. *Mol Med Rep.* 2017; 16:7585–7590. doi: 10.3892/mmr.2017.7578
307. Cho, S.G., Yi, Z., Pang, X., Yi, T., Wang, Y., Luo, J., Wu, Z., Li, D., Liu, M., Kisspeptin-10, a KISS-1-derived decapeptide, inhibits tumor angiogenesis by suppressing Sp1-mediated VEGF expression and FAK/Rho GTPase activation. *Cancer Res.* 2009a; 69, 7062–7070.
308. Jacobsen M, Jacobsen GK. The influence of various fixatives on the immunohistochemical demonstration of a number of plasma proteins and oncofetal proteins in paraffin embedded material. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A.* 1984 Nov;92(6):461-8.
309. Larsson L. Tissue Preparation Methods for Light Microscopic Immunohistochemistry, *Applied Immunohistochemistry.* Apr 1993; 1(1):2–16,

310. Judkins AR, Montone KT, LiVolsi VA, van de Rijn M. Sensitivity and specificity of antibodies on necrotic tumor tissue. *Am J Clin Path.* 1998; 110:641-646.