

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ –
ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑ –
ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ»

Διευθυντής ΠΜΣ : Καθηγητής ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μελέτη πολυμορφισμών σε γονίδια επιδιόρθωσης των μονοπατιών NER και DSBR σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη

ΡΟΪΔΟΥ- ΑΝΙΣΟΓΛΟΥ ΜΑΡΙΝΑ
ΒΙΟΛΟΓΟΣ

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης

ΛΑΡΙΣΑ

Μάρτιος 2021

"Βεβαιώνω ότι η παρούσα διπλωματική εργασία είναι αποτέλεσμα δικής μου δουλειάς και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά και όπου απαιτείται έχω παραθέσει τις πηγές τους στο τμήμα της βιβλιογραφίας.

Υπογραφή: "

Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής:

1^{ος} Εξεταστής **Σαμαρά Μαρία**
(Επιβλέπων) Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής με έμφαση στη Μοριακή
Ιστοπαθολογία, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

2^{ος} Εξεταστής **Σάτρα Μαρία**
Ε.ΔΙ.Π. Βιολογίας-Μοριακής Βιολογίας, Εργαστήριο
Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

3^{ος} Εξεταστής **Αλέξανδρος Ι. Δαπόντε**
Διευθυντής Μαιευτικής- Γυναικολογικής Κλινικής,
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ιατρική Σχολή, Σχολή
Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, του τμήματος Ιατρικής της σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Βιολογία της Αναπαραγωγής - Βιοδείκτες στη Μαιευτική και Γυναικολογία - Περιγεννητική Ιατρική». Υπεύθυνη και επιβλέπουσα της διπλωματικής μου εργασίας ήταν η κ. Σαμαρά Μαρία, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής με έμφαση στη Μοριακή Ιστοπαθολογία την οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά. Αρχικά θα ήθελα να την ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου το συγκεκριμένο θέμα, αλλά και για το ότι παρά το ιδιαίτερα φορτωμένο πρόγραμμά της ήταν πάντα εκεί, πρόθυμη, ακούραστη και πάντα με όρεξη να βοηθήσει ανά πάσα στιγμή και να μου μεταφέρει τις γνώσεις της . Δεν θα μπορούσαν να μην αναφερθώ και στα άλλα δύο μέλη της τριμελούς επιτροπής, στην κ. Μαρία Σάτρα και τον Διευθυντή του Μεταπτυχιακού Προγράμματος κ. Αλέξανδρο Δαπόντε για την στήριξη, τις πολύτιμες συμβουλές , και τον χρόνο τους καθ' όλη την διάρκεια. Ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην υποψήφια διδάκτορα κ. Μαρία Παπαθανασίου, που από την πρώτη στιγμή ήταν δίπλα μου καθοδηγώντας με σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες , μου μετέδωσε πολλές γνώσεις και στις δύσκολες στιγμές μου υπενθύμιζε δυο πολύτιμες αρετές , την υπομονή και την επιμονή. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου την υποψήφια διδάκτορα κ. Μαρία Αναγνώστου και τις μεταπτυχιακές φοιτήτριες κ. Ελένη Κυρμανίδου και κ. Φαρμακιώτη Ιωάννα καθώς υπήρχε ένα άψογο και ιδιαίτερα ευχάριστο κλίμα συνεργασίας, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό σε ένα εργαστήριο. Θα ήθελα να τους ευχαριστήσω όλους τους, αλλά και τον κάθε έναν ξεχωριστά, διότι ήταν τιμή μου το να γίνω μέλος μιας τέτοιας ακούραστης ερευνητικής ομάδας με όρεξη και αγάπη για το αντικείμενο της. Επιπλέον, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού προγράμματος για τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέφεραν ,καθώς επίσης να ευχαριστήσω και τον κ. Γεώργιο Κουκούλη, Καθηγητή Παθολογικής Ανατομικής – Διευθυντή για την αποδοχή μου στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής. Τέλος οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και τους φίλους γιατί την συνεχή στήριξη τους και για το ότι δεν έπαψαν να πιστεύουν σε μένα. Ευχαριστώ!

Ροΐδου- Ανίσογλου Μαρίνα

Μελέτη πολυμορφισμών σε γονίδια επιδιόρθωσης των μονοπατιών NER και DSBR σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη.

ΡΟΪΔΟΥ- ΑΝΙΣΟΓΛΟΥ ΜΑΡΙΝΑ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Σχολή Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής, 2021

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- Επιβλέπων:** **Σαμαρά Μαρία**
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής με έμφαση στη Μοριακή Ιστοπαθολογία, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- Σύμβουλος :** **Σάτρα Μαρία**
Ε.ΔΙ.Π. Βιολογίας-Μοριακής Βιολογίας, Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- Μέλος :** **Αλέξανδρος Ι. Δαπόντε**
Διευθυντής Μαιευτικής- Γυναικολογικής Κλινικής, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας, Ιατρική Σχολή, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περίληψη

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη κακοήθεια στους άνδρες και πέμπτη σε συχνότητα αιτία θανάτου από κακοήθεια. Το 95% των περιπτώσεων αφορά σε αδενοκαρκινώματα. Η σταδιοποίηση γίνεται με το σύστημα TNM και η διαφοροποίηση του όγκου εκτιμάται με το Gleason score. Η ηλικία, η φυλή και το οικογενειακό ιστορικό αποτελούν κύριους παράγοντες κινδύνου. Μεταλλάξεις και πολυμορφισμοί σε γονίδια επιδιορθωτικών μηχανισμών επηρεάζουν ενδεχομένως τη δραστικότητα των ενζύμων και συμβάλλουν στην γενωμική αστάθεια. Υπάρχει μεγάλη γεωγραφική ετερογένεια και αποκλίνοντα ευρήματα. Μελετήσαμε τους πολυμορφισμούς γονιδίων που μετέχουν στις οδούς NER και BER, καθώς δεν υπάρχει σχετική μελέτη στον ελληνικό πληθυσμό για την κατανομή και το ρόλο τους στην καρκινογένεση του προστάτη. Αναλύσαμε 39 ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και 49 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) για τους πολυμορφισμούς *XPC PAT* +/- (polyAT), rs861539 του *XRCC3*, rs13181 του *ERCC2/XPD23* και rs1799793 του *ERCC2/XPD10* γονιδίου. Απομονώσαμε γενωμικό DNA από περιφερικό αίμα κι ακολούθησε PCR και RFLP ανάλυση των PCR προϊόντων με ειδικά περιοριστικά ένζυμα. Για την πλειοψηφία των ασθενών συλλέξαμε κλινικές πληροφορίες για τις τιμές του δείκτη PSA και το Gleason score. Τα αποτελέσματά μας αναλύθηκαν στατιστικά με το λογισμικό πρόγραμμα IBM SPSS έκδοση v22 χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία chi-square ($p < 0.05$, 95% CI). Δεν αναδείχθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ του κινδύνου εμφάνισης της νόσου και του rs861539 πολυμορφισμού του *XRCC3* γονιδίου. Αντιθέτως, οι πολυμορφισμοί PAT+/- του *XPC* γονιδίου, rs13181 και rs1799793 του *ERCC2/XPD23* και *ERCC2/XPD10* γονιδίου αντίστοιχα ανέδειξαν στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις ($p < 0.001$). Συγκεκριμένα, στον πολυμορφισμό *XPC PAT*+/- η παρουσία της ένθεσης είναι περισσότερο συχνή στους ασθενείς, υποδεικνύοντας έναν πιθανό ρόλο βιοδείκτη για τον κίνδυνο εμφάνισης του καρκίνου του προστάτη (OR=3.3, 95% CI=1.4-7.9). Αντίστοιχη συσχέτιση έδειξε και ο πολυμορφισμός rs13181, όπου το πολυμορφικό C εμφανίζεται συχνότερα στους ασθενείς (OR= 2.99, 95% CI=1.13-7.86). Όσον αφορά στον πολυμορφισμό rs1799793, η παρουσία του πολυμορφικού αλληλομόρφου A είναι λιγότερο συχνή στους ασθενείς, υποδεικνύοντας έναν προστατευτικό ρόλο έναντι του κινδύνου εμφάνισης του καρκίνου του προστάτη (OR=0.05, 95% CI = 0.01 – 0.19). Οι τιμές του PSA σε περιορισμένο αριθμό των ασθενών της μελέτης δεν επέτρεψε περαιτέρω συσχετίσεις. Η μελέτη των εξεταζόμενων πολυμορφισμών σε συνδυασμό με το Gleason score των ασθενών δεν ανέδειξε στατιστικώς σημαντικές συσχετίσεις. Από την εργασία αυτή προκύπτουν κάποιες πρώτες ενδείξεις για την κατανομή των εν λόγω πολυμορφισμών στον ελληνικό πληθυσμό. Χρειάζεται ανάλυση σε μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων προκειμένου να εξαχθούν στατιστικώς ασφαλή συμπεράσματα.

Λέξεις κλειδιά: καρκίνος του προστάτη, γονίδια επιδιόρθωσης του DNA, NER,DSBR, πολυμορφισμός

Summary

Prostate cancer is the second most common malignancy in men and fifth most common cause of death among cancers. 95% of cases are classified as adenocarcinomas. Tumor staging is based on the TNM system and tumor differentiation is evaluated with the Gleason grading system. Age, race and family history are considered as the main risk factors. Polymorphisms in DNA repair genes affect protein expression and contribute to genomic instability. Geographical heterogeneity is high, leading to diverse research findings. We studied NER and BER pathways polymorphisms, as no prior research exists on the distribution and their role in prostate carcinogenesis in Greeks. We analyzed 39 patients with prostate cancer and 49 healthy individuals (control group) for the XPC PAT -/+ (polyAT), XRCC3 rs861539, ERCC2/XPD23 rs13181 and ERCC2/XPD10 rs1799793 SNPs. DNA extraction from peripheral blood was performed, followed by PCR and product RFLP analysis with specific restriction enzymes. Clinical data on PSA levels and Gleason scoring was acquired for the majority of patients. Statistical analysis was performed with IBM SPSS v.22 software, using chi-square testing ($p < 0.05$, 95% CI). No statistically significant correlation for the risk of prostate cancer development and the distribution of XRCC3 rs861539 was observed. Statistically significant correlations were observed for XPC PAT -/+ (polyAT) and ERCC2/XPD23 rs13181, the polymorphic allele conferring increased risk towards prostate cancer development (OR=3.3, 95% CI=1.4-7.9) and (OR= 2.99, 95% CI=1.13-7.86) each. ERCC2/XPD10 rs1799793 provided a statistically significant, inverse correlation with prostate cancer risk for the polymorphic allele (OR=0.05, 95% CI = 0.01 – 0.19). Restrictions on PSA levels data availability didn't allow for further correlations. Correlations of the two studied polymorphisms with patient Gleason scoring were not statistically significant. The present study provides primary evidence on the distribution of the studied polymorphisms in Greeks. Further analysis with greater sample sizes is required for quality statistical hypothesis testing.

Key words: prostate cancer, DNA repair genes, NER, DSBR, polymorphism

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ADT Androgen Deprivation Therapy
Ala Alanine
AR Androgen Receptor
BCC Basal Cell Carcinoma
BCL2 B-cell lymphoma 2
BER Base Excision Repair
BMPs Bone Morphogenetic Proteins
Bp. Base pairs
BRAC1,2 Breast Cancer type 1,2
CDC Centers for Disease Control and Prevention
CHECK2 Checkpoint Kinase 2
CTCs Circulating Tumor Cells
CT Scan Computed Tomography
DBD DNA – Binding domain
DHT Dihydrotestosterone
DRE Digital Rectal Examination
DSBR Double Strand Break Repair
EMT Epithelial–mesenchymal transition
EphB2 EPH Receptor B2
FSH Follicle-Stimulating Hormone
FGF Fibroblast Growth Factor
GG-NER Global Genomic Nucleotide Excision Repair
GnRH Gonadotropin-Releasing Hormone
HG PIN High Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia
HIFU High Intensity Focused Ultrasound
HOXB13 Homeobox B13
HPC Hereditary Prostate Cancer 1
HR Homologous Recombination
IGF-1 Insulin-Like Growth Factor-1
ISUP International Society of Urological Pathology
JAK Janus Kinase

LBD Ligand Binding domain
Leu Leucine
LH Luteinizing Hormone
LHRH Luteinizing Hormone-Releasing Hormone
LS Lynch Syndrome
MLH MutL Homolog 1
MMR Mismatch Repair
MRI Magnetic Resonance Imaging
MSH2,6 MutS Homolog 2,6
NCI National Cancer Institute
NER Nucleotide Excision Repair
NHEJ Non-homologous end joining
NKX3-1 NK3 Homeobox 1
NTD N- Terminal domain
PAH Polycyclic aromatic hydrocarbon
PCP Planar Cell Polarity
PCR Polymerase Chain Reaction
PIA Proliferative Inflammatory Atrophy
PIN Prostatic Intraepithelial Neoplasia
PKcs Protein kinase catalytic subunit
PGE2 Prostaglandin E2
PSA Prostate Specific Antigen
RNASEL Ribonuclease L
ROS Reactive Oxygen Species
RPA Replication Protein A
Ser Serine
Smad2 Smad family member 2
SNP Single Nucleotide Polymorphism
STAT Signal transducer and activator of transcription
TBE Tris-borate-EDTA
TC-NER Transcription- Coupled Nucleotide Excision Repair
TGF- β Transforming growth factor-beta
Thr Threonine
TURP Transurethral resection of the prostate

TRUS Transrectal Ultrasound

WCFR World Cancer Research Fund International

WHO World Health Organization

XP Xeroderma pigmentosum

XPA-G Xeroderma pigmentosum Group A-G

XRCC3 X-Ray Repair Cross Complementing 3

Πίνακας Περιεχομένων

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	10
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	16
A. Προστάτης Αδένας.....	16
A.1 Ανατομία- Θέση.....	16
A.2. Ιστολογία.....	19
A.3 Φυσιολογία προστάτη αδένα.....	21
B.1 Επιδημιολογικά δεδομένα	21
B. 2 Παράγοντες κινδύνου	24
B.2.1 Ηλικία.....	24
B.2.2 Φυλή / εθνικότητα/ γεωγραφία	25
B.2.3 Οικογενειακό ιστορικό.....	25
B.2.4 Γενετική του Καρκίνου του προστάτη	26
B.2.5 Δευτερογενείς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη.....	28
B.2.5.1 Διατροφή	28
B.2.5.2 Κάπνισμα.....	29
B.2.5.3 Φλεγμονή του προστάτη	29
B.3 Ιστοπαθολογία του όγκου	30
B.4 Βαθμός διαφοροποίησης κατά Gleason.....	35
B.5 Σταδιοποίηση καρκίνου του προστάτη κατά TNM (Tumor-Node-Metastasis)	37
B.6 Συμπτώματα	39
B.7 Διάγνωση.....	39
B.7.1 DRE- Δακτυλική εξέταση.....	39
B.7.2 Ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA).....	40
B.7.3 Διορθωτικό υπερηχογράφημα του προστάτη (transrectal ultrasound TRUS)	40

B.7.4 Βιοψία του προστάτη	40
B.8 Θεραπεία	41
Γ. Σηματοδοτικά μονοπάτια και επιδιορθωτικοί μηχανισμοί που μετέχουν στον καρκίνο του προστάτη.....	42
Γ.1 Σηματοδοτικά μονοπάτια	42
Γ.2 Μηχανισμοί Επιδιόρθωσης	46
Γ.2.1 Επιδιορθωτικό μονοπάτι NER	47
Γ.2.2 Επιδιορθωτικό μονοπάτι DSBR (DNA Double Strand Break repair –DSBR).....	49
Γ.3 Επιδιορθωτικά μονοπάτια και καρκινογένεση	51
Γ.3.1 Πολυμορφισμοί στα γονίδια του NER και καρκίνος του προστάτη	52
Γ.3.2 Πολυμορφισμοί στα γονίδια του DSBR και καρκίνος του προστάτη	54
ΣΚΟΠΟΣ.....	55
Δ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	56
Δ.1 Υπό μελέτη πληθυσμός	56
Δ.2. Απομόνωση γενωμικού DNA από περιφερικό αίμα (NucleoSpin® Blood).....	56
Δ.3.Ποσοτικός προσδιορισμός γενωμικού DNA - Φωτομέτρηση.....	57
Δ.4. Ποιοτικός προσδιορισμός του γενωμικού DNA με ηλεκτροφόρηση.	58
Δ.5 Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης	58
Δ.6 Επιλεκτική ενίσχυση συγκεκριμένων τμημάτων με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης	59
Δ.7 . Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων.....	62
Δ.8 Πέψεις με περιοριστικά ένζυμα.....	62
Ε. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	65
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	78
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	85

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

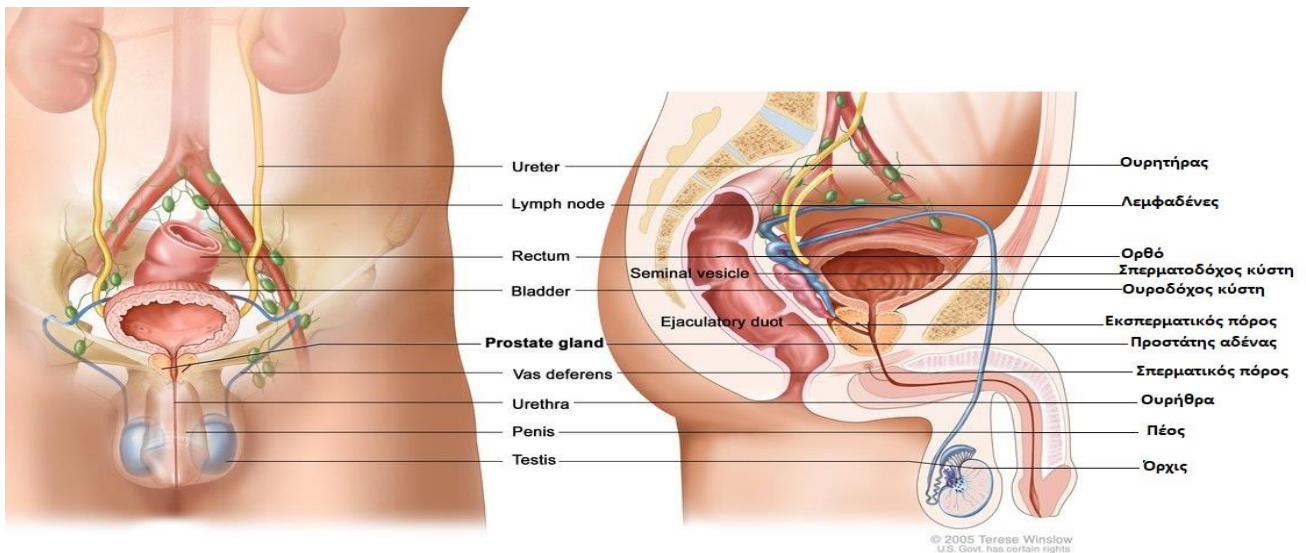
A. Προστάτης Αδένας

A.1 Ανατομία- Θέση

Ο προστάτης αδένας είναι ένα μικρό όργανο της ελάσσονας πυέλου σε μέγεθος καρυδιού στα άρρενα άτομα. Αποτελεί μέρος του γεννητικού-αναπαραγωγικού συστήματος του άρρενος το οποίο περιλαμβάνει το όσχεο, τους όρχεις, το πέος, τον σπερματικό πόρο, τον προστάτη αδένα, την επιδιδυμίδα, τις σπερματοδόχους κύστες και τους βολβουρηθραίους αδένες. Ο προστάτης αδένας έχει κατά τα 2/3 αδενική μοίρα και το υπόλοιπο 1/3 είναι ινομυώδες στρώμα. Περικλείεται από μια ινώδη κάψα αγγειοβριθούς, πυκνού, ακανόνιστου κολλαγόνου συνδετικού ιστού με διάσπαρτες λείες μυϊκές ίνες στην εσωτερική της στοιβάδα. Ο φυσιολογικός προστάτης διασχίζεται από την προστατική ουρήθρα, ζυγίζει περίπου 18-25 γραμμάρια και έχει διαστάσεις 3 εκ (κάθετη/ επιμήκης διάμετρος) x 4 εκ (εγκάρσια διάμετρος στη βάση) x 2 εκ (προσθιοπίσθια διάμετρος). Εμφανίζει ανατομικές επιφάνειες που χωρίζονται στην πρόσθια, την οπίσθια και τις πλάγιες, ενώ κεφαλικά αναγνωρίζεται η βάση και η ουραία κορυφή του οργάνου [1].

Με τη πάροδο του χρόνου και ειδικά μετά την μέση ηλικία η μεγέθυνση του προστάτη λόγω ανάπτυξη αδενώματος είναι συχνή, γεγονός που προκαλεί απόφραξη της ουρήθρας, εμποδίζοντας την ούρηση και οδηγώντας μερικές φορές σε κατακράτηση ούρων (καλοήθης υπερπλασία του προστάτη) (CDC, 2020). Σε περιπτώσεις υπερτροφίας μπορεί να φτάσει και τα 100-200 γραμμάρια.

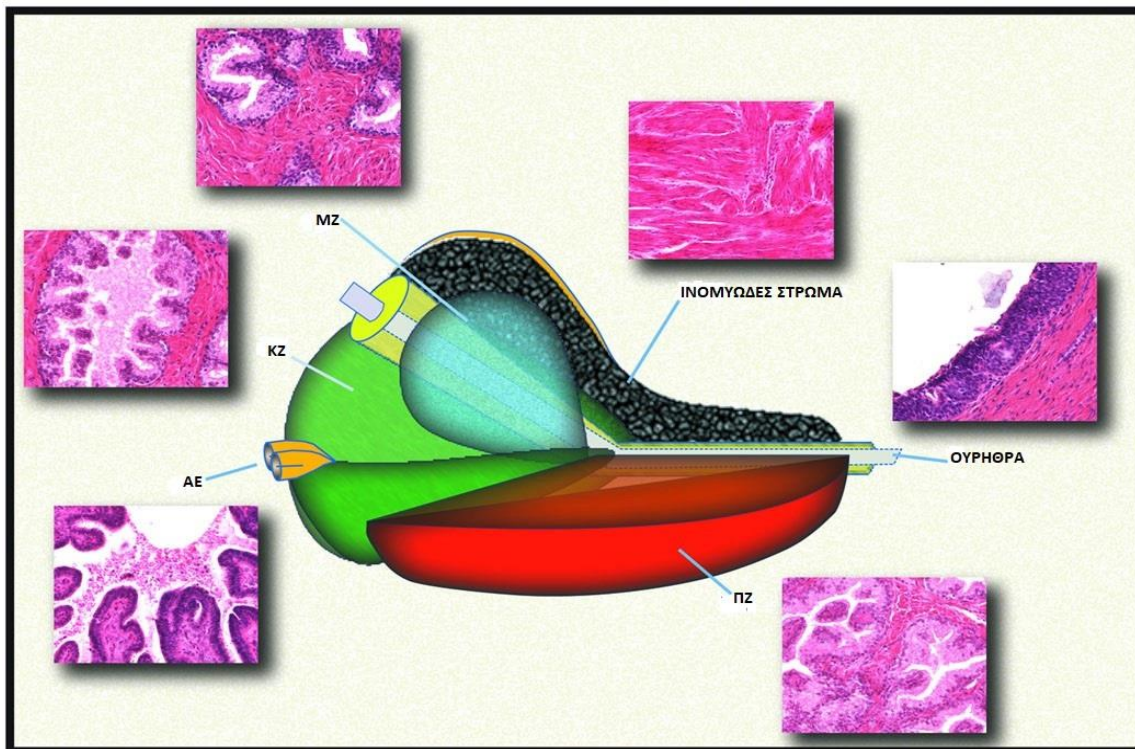
Τοπογραφικά ο προστάτης αδένας βρίσκεται ακριβώς κάτω από τον αυχένα της κύστης, περιβάλλει το πρόσθιο τμήμα της ουρήθρας, πίσω από την ηβική σύμφυση και πάνω από το ουρογεννητικό διάφραγμα, μπροστά από το ορθό (Εικόνα 1). Πήρε το όνομά του από τη θέση που βρίσκεται (προΐσταται, δηλαδή βρίσκεται μπροστά και κάτω από την ουροδόχο κύστη). Η βασική λειτουργία του προστάτη αδένος είναι η παραγωγή ενός γαλακτώδους, πυκνού, ελαφρά αλκαλικού υγρού (προστατικό έκκριμα), το οποίο αποτελεί το 20-30% του σπέρματος μαζί με τα σπερματοζωάρια που παράγονται από τους όρχεις και το υγρό των σπερματοδόχων κύστεων που σχηματίζουν το σπέρμα. Η εύρυθμη λειτουργία του προστάτη αδένος συμβάλλει στον εμπλουτισμό του σπέρματος με τα απαραίτητα συστατικά, στη σωστή λειτουργία εκσπερμάτισης και στον έλεγχο της ούρησης. Παράγει επίσης, μία πρωτεΐνη που ονομάζεται ειδικό προστατικό αντιγόνο (Prostate Specific Antigen - PSA) το οποίο συμβάλλει στη ρευστοποίηση του σπερματικού υγρού και κατ' επέκταση στην απελευθέρωση των σπερματοζωαρίων.



Εικόνα 1. Ανατομία του ανδρικού γεννητικού και ουροποιητικού συστήματος, που απεικονίζει τον προστάτη αδένα. Πηγή: <http://www.karagiannisathanasios.gr/tupoi-karkinou/karkinos-tou-prostate/>

Ο προστάτης αδένας διαιρείται σε 4 λοβούς και 4 ζώνες. Σύμφωνα με τα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας των Η.Π.Α. (National Institutes of Health, NIH) ο προστάτης διαιρείται σε 4 δυσδιάκριτους λοβούς: Ο πρόσθιος λοβός είναι το πρόσθιο τμήμα του αδένου, βρίσκεται μπροστά από την ουρήθρα και σχηματίζεται πλήρως από ινομυώδη ιστό. Ο διάμεσος λοβός έχει σφηνοειδές-κωνικό σχήμα και εντοπίζεται μεταξύ της ουρήθρας και των εκσπερματιστικών πόρων. Οι πλευρικοί λοβοί (δεξιά και αριστερά) σχηματίζουν την κύρια μάζα του αδένου, βρίσκονται εκατέρωθεν της ουρήθρας και διαχωρίζονται μεταξύ τους με μια κάθετη αύλακα της οπίσθιας επιφάνειας του προστάτη. Ο οπίσθιος λοβός βρίσκεται πίσω από την ουρήθρα, κάτω από τους εκσπερματικούς πόρους και μπορεί να ψηλαφείται μέσω του ορθού κατά τη διάρκεια της δακτυλικής εξέτασης του προστάτη.

Ο διαχωρισμός του προστάτη σε ζώνες κατά τον McNeal το 1984 βοήθησε να καταλάβουμε καλύτερα την παθοφυσιολογία του αδένου. Η δομή στο εσωτερικό του προστάτη αδένου κατά τον McNeal αποτελείται από τέσσερις κύριες ανατομικά και ιστολογικά διακριτές περιοχές (Εικόνα 2). Αυτές οι περιοχές είναι το μη-αδενικό ινομυώδες στρώμα που περιβάλλει το όργανο, δύο αδενικού τύπου περιοχές που καλούνται περιφερική και κεντρική ζώνη, καθώς και μία μικρότερη που παρεμβάλλεται και περιβάλλει την προστατική ουρήθρα, καλούμενη μεταβατική ζώνη [2].



Εικόνα 2. Οι ζώνες του προστάτη αδένος κατά McNeal : Η κεντρική ζώνη (ΚΖ) περιβάλλει τους αγωγούς εκσπερμάτωσης (ΑΕ). Η περιφερική ζώνη (ΠΖ) περιβάλλεται από το ινομυώδες στρώμα, ενώ η μεταβατική ζώνη (ΜΖ) περιβάλλει την ουρήθρα κάτω από την ουροδόχο κύστη. Πηγή: [2] <https://doi.org/10.1016/j.diff.2011.05.008>

- ✓ Η **περιφερική ζώνη** καλύπτει τα τμήματα του αδένος που βρίσκονται πίσω ή πλάγια. Αποτελεί το 70-75% του αδενικού τμήματος του προστάτη και περιέχει αδένια που εκβάλλουν στην περιφερική προστατική ουρήθρα από το σπερματικό λοφίδιο ως την κορυφή του αδένος. Στη ζώνη αυτή αναπτύσσονται φλεγμονές, όπως η χρόνια προστατίτιδα, αλλά και έως το 80% των περιπτώσεων καρκίνου του προστάτη. Στην περιφερική ζώνη εντοπίζεται ο προπροστατικός σφιγκτήρας, ένα κυλινδρικό περίβλημα λείου μυός που εκτείνεται από τη βάση της ουροδόχου κύστης έως το σπερματικό λοφίο και αποτελεί το 5% της συνολικής μάζας του προστάτη. Συγκριτικά με τις υπόλοιπες ζώνες, στην περιφερική ζώνη το συνδετικό υπόστρωμα είναι πιο χαλαρό, το σύστημα των πόρων απλούστερο και οι σακκοειδείς σχηματισμοί με τα διαφράγματα λιγότερο αναπτυγμένοι.
- ✓ Η **κεντρική ζώνη** αποτελεί το 20-25% της αδενικής μοίρας του προστάτη, έχει σχήμα σφηνοειδές και τα αδένια της εκβάλλουν στην ουρήθρα πλαγίως και προς τη βάση του προστάτη. Περιβάλλει τους εκσπερματικούς αγωγούς. Στην ζώνη αυτή οι αδενικοί

σχηματισμοί είναι πιο συμπαγείς από την περιφερική ζώνη, η διακλάδωση των πόρων πιο περίπλοκη και το επιθήλιο είναι πιο σαφές. Στη συγκεκριμένη ζώνη αναπτύσσεται ένα μικρό ποσοστό κακοήθων νεοπλασιών – μικρότερο από 5% - ωστόσο, θεωρούνται ιδιαίτερα επιθετικοί όγκοι.

- ✓ Η **μεταβατική ζώνη** αποτελεί το 5-10% του αδενικού τμήματος του προστάτη, βρίσκεται κεντρικά του σπερματικού λοφιδίου, εκατέρωθεν της ουρήθρας, και εκτείνεται μέχρι τον προπροστατικό σφιγκτήρα. Σχηματίζεται από τους δύο πλάγιους λοβούς του προστάτη, οι οποίοι μαζί με τους περιουρηθρικούς αδένες αποτελούν την κυρίως εστία ανάπτυξης του προστατικού αδενώματος. Ένα ποσοστό της τάξης του 20% περίπου των αδενοκαρκινωμάτων προέρχονται από τη μεταβατική ζώνη.
- ✓ Το **πρόσθιο ινομυώδες στρώμα** στερείται πλήρως το αδενικό στοιχείο. Σπάνια διηθείται από καρκινώματα και καλύπτει την πρόσθια επιφάνεια του προστάτη.

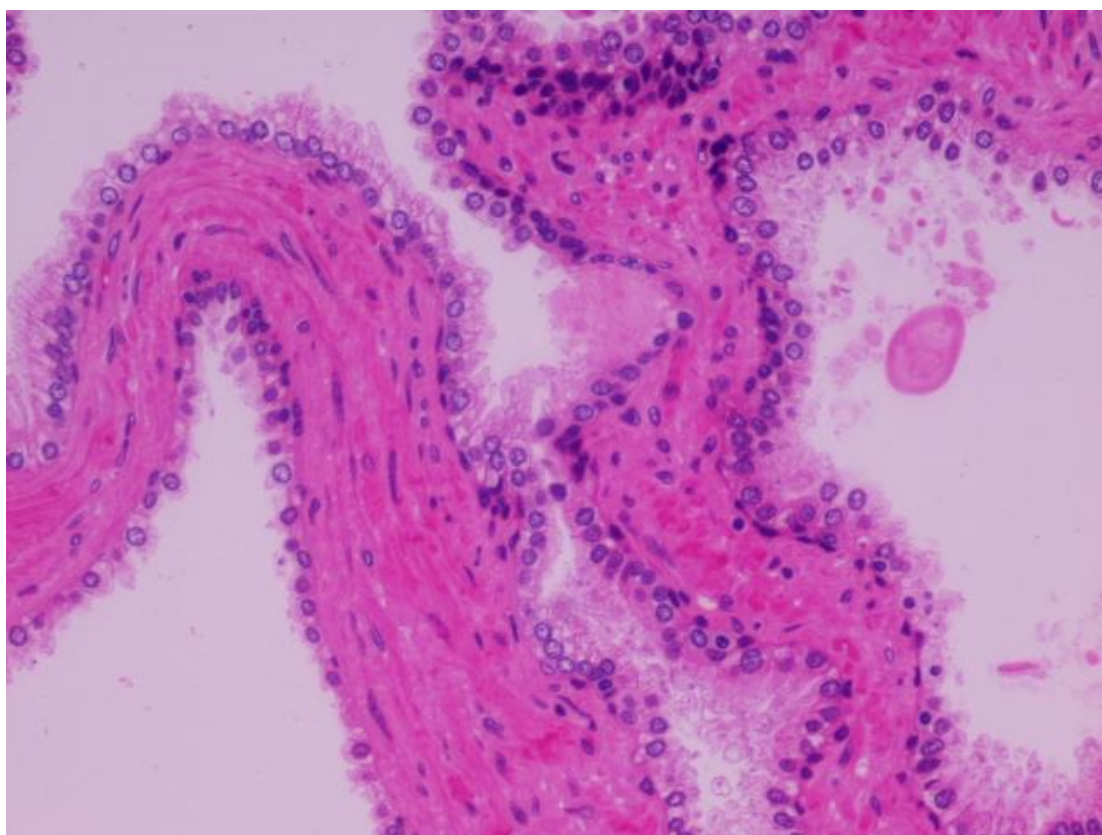
A.2. Ιστολογία

Ο προστάτης είναι συνάθροιση 30-50 σύνθετων σωληνοκυψελοειδών αδένων, που ο καθένας διαθέτει το δικό του εκφορητικό πόρο. Πρόκειται για εξωκρινή αδένια, που αποτελείται από αδενικό και ινομυώδες στρώμα κατά 70% και 30% αντίστοιχα. Βρίσκεται σε συνέχεια με την προστατική κάψα, αποτελείται από κολλαγόνο και διάσπαρτες λείες μυϊκές ίνες. Το προστατικό επιθήλιο περιέχει βασικά επιθηλιακά κύτταρα, ενδιάμεσα κύτταρα, νευροενδοκρινή, εκκριτικά κύτταρα και πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα. Το στρώμα προσφέρει στήριξη και αποτελείται κυρίως από συνδετικό ιστό, λεία μυϊκά κύτταρα και ινοβλάστες.

Τα επιθηλιακά κύτταρα σχηματίζουν τους αδένες του προστάτη οι οποίοι επενδύονται από δύο στίχους κυττάρων: τα βασικά κύτταρα (μεταξύ των οποίων βρίσκονται τα ενδιάμεσα κύτταρα, τα σπάνια βλαστικά κύτταρα, και τα λίγα σε αριθμό νευροενδοκρινή κύτταρα) και τα εκκριτικά κύτταρα. [Εικόνα 3].

Τα βασικά κύτταρα είναι επιμήκη και αποπλατυσμένα κύτταρα, φέρουν πυκνόχρωμους πυρήνες με ελάχιστο ή καθόλου διακριτό κυτταρόπλασμα. Αποτελούν το πολλαπλασιαζόμενο τμήμα του προστατικού επιθηλίου, διαιρούνται φυσιολογικά και ωριμάζουν σε εκκριτικά κύτταρα. Η ικανότητα προσδιορισμού της παρουσίας ή απουσίας βασικών κυττάρων σε ένα δείγμα προστατικού ιστού είναι εξαιρετικής σημασίας, καθώς στα νεοπλασματικά αδένια απουσιάζουν τα βασικά κύτταρα.

Τα εκκριτικά κύτταρα είναι κυλινδρικά, πολικά κύτταρα με τον πυρήνα τους να είναι τοποθετημένος προς τη βάση του πόρου και το πλούσιο κυτταρόπλασμα τους να συγκεντρώνεται αντιδιαμετρικά προς τον αυλό. Το τελικό τμήμα του κυτταροπλάσματος των εκκριτικών κυττάρων προβάλλει εντός του αυλού απελευθερώνοντας τις προστατικές εκκρίσεις εντός των προστατικών πόρων.



Εικόνα 3. Ιστολογικά στοιχεία προστάτη αδένου. Απεικονίζονται αδενικοί σχηματισμοί. Φαίνονται σαφώς τα βασικά και τα εκκριτικά κύτταρα του προστατικού επιθηλίου, καθώς και στοιχεία του στρώματος (συνδετικός ιστός, μυοϊνοβλάστες). Πηγή: Υλικό αρχείου του εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής, του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Τα ενδιάμεσα κύτταρα εμφανίζουν φαινοτυπικά και μοριακά χαρακτηριστικά ενδιάμεσα των βασικών και εκκριτικών κυττάρων και θεωρείται ότι αποτελούν ένα ενδιάμεσο στάδιο της ωρίμασης των βασικών κυττάρων σε εκκριτικά κύτταρα. Τα νευροενδοκρινή κύτταρα αποτελούν εξειδικευμένα επιθηλιακά κύτταρα. Αναγνωρίζονται σπάνια με απλές χρώσεις αιματοξυλίνης - ηωσίνης (H/E) και η λειτουργία τους δεν είναι πλήρως κατανοητή.

Όσον αφορά το ινομυώδες στρώμα, περιέχει συνδετικό ιστό και μυοϊνοβλάστες που διαθέτουν ικανότητα συστολής, ιδιότητα σημαντική κατά την εκσπερμάτιση και μεταφορά του σπέρματος στην ουρήθρα.

A.3 Φυσιολογία προστάτη αδένου

Ο προστάτης είναι ένα ιδιαίτερα σύνθετο ως προς την ορμονική του ρύθμιση όργανο, με σημαντική ετερογένεια ως προς τη συμπεριφορά του σε επίπεδο λοβού, κυτταρικής ζώνης και αναπτυξιακής φάσης. Ο κύριος ρυθμιστής της φυσιολογική ανάπτυξης, ομοιόστασης και λειτουργίας του προστάτη αδένου είναι τα ανδρογόνα και κυρίως η τεστοστερόνη στο πλάσμα. Η εύρυθμη λειτουργία αυτών εξαρτάται από τη φυσιολογική λειτουργία του άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Όρχεις. Η τεστοστερόνη προέρχεται κατά 95% από τους όρχεις (κύτταρα Leydig) και κατά 5% από τα επινεφρίδια (κύτταρα δικτυωτής ζώνης).

Για την παραγωγή τεστοστερόνης, αρχικά νευροδιαβιβαστικές ουσίες από περιοχές εκτός του υποθαλάμου ρυθμίζουν την έκκριση της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH). Η GnRH με τη σειρά της διεγείρει την έκκριση ορμονών της υπόφυσης και συγκεκριμένα της θυλακιοτρόπου ορμόνης FSH και της ωχρινοτρόπου ορμόνης LH. Η LH διεγείρει τα κύτταρα Leydig των όρχεων για την παραγωγή τεστοστερόνης. Η τεστοστερόνη δρα στη συνέχεια στα κύτταρα Sertoli.

Η αλληλεπίδραση όλων αυτών των ορμονών κατά μήκος του άξονα από τον υποθάλαμο μέχρι την παραγωγή ανδρογόνων, ελέγχεται από βρόγχο αρνητικής ανάδρασης (negative feedback control loop). Στον προστάτη αδένου η τεστοστερόνη μετατρέπεται σε ένα ακόμη πιο ισχυρό ανδρογόνο, τη διϋδροτεστοστερόνη (DHT), μέσω του ενζύμου 5α- αναγωγάση. Η DHT ευθύνεται για τη διαφοροποίηση των δευτερογενών χαρακτηριστικών του φύλου [3]. Ο ανδρογονικός υποδοχέας (AR) έχει πενταπλάσια ειδικότητα σύνδεσης για τη διϋδροτεστοστερόνη έναντι της τεστοστερόνης [4]. Η DHT, προκειμένου να ασκήσει τη δράση της, συνδέεται με την πυρηνική πρωτεΐνη του ανδρογονικού υποδοχέα (AR)[5].

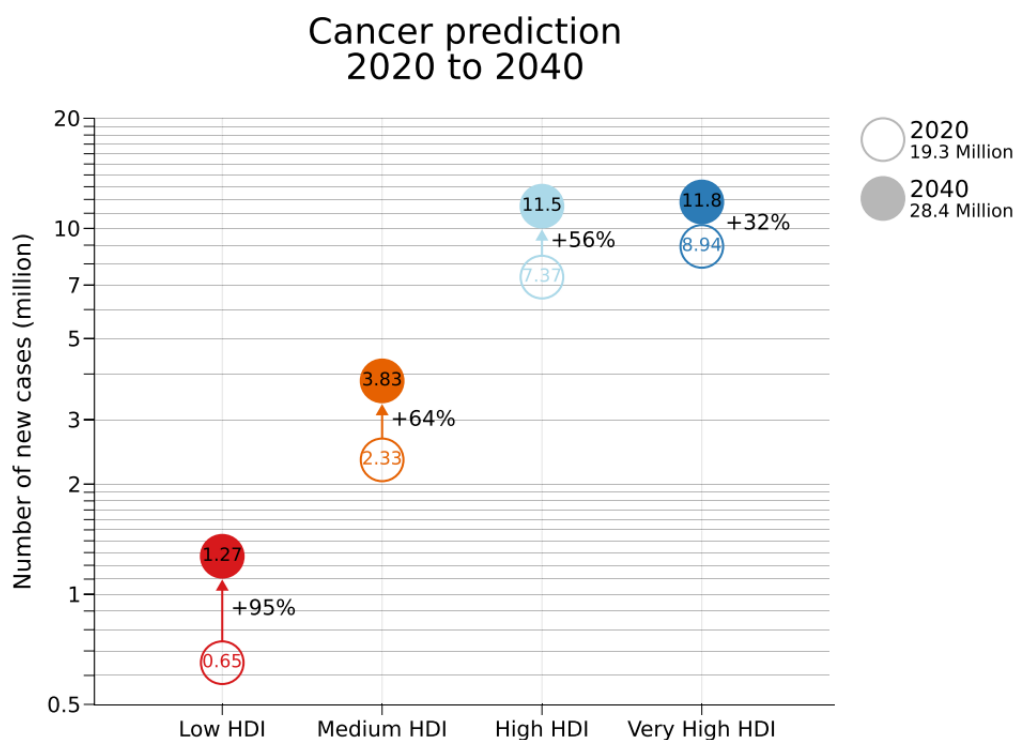
Η ανδροστενδιόνη, όπως και η τεστοστερόνη, υπόκειται σε αρωματοποίηση για την παραγωγή οιστρονών. Η υπερπαραγωγή ανδροστενδιόνης, που μπορεί να οφείλεται και σε περιπτώσεις συγγενούς υπερπλασίας των επινεφριδίων, ενδέχεται να προκαλέσει υπερτροφία του προστάτη αδένου.

B. Καρκίνος του προστάτη

B.1 Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος του προστάτη κατέχει τη δεύτερη θέση σε συχνότητα παγκοσμίως, μετά τον καρκίνο του πνεύμονα και αποτελεί την πέμπτη αιτία θανάτου από καρκίνο. Το 2018 νόσησαν παγκοσμίως 1.3 εκατομμύρια άτομα με μέσο όρο ηλικίας τα 66 έτη [6]. Το 99% των περιπτώσεων καρκίνου του προστάτη εμφανίζονται σε άτομα άνω των 50 ετών. Η εμφάνιση σε άρρενα άτομα κάτω των 50 ετών

σχετίζεται με πιο επιθετικές μορφές νόσου. Ορισμένοι ασθενείς εμφανίζουν επιθετική μορφή της νόσου με συνεχείς υποτροπές και μεταστάσεις, ενώ άλλοι ασθενείς εμφανίζουν πιο ήπια νόσο, με χαμηλό μεταστατικό δυναμικό [7]. Εκτιμάται ότι μέχρι το 2040 θα υπάρξει αύξηση της τάξης του 47% όσον αφορά τις νέες περιπτώσεις καρκίνων συνολικά, που αναμένονται να φτάσουν τα 28.4 εκατομμύρια, έναντι των 19.3 εκατομμυρίων νέων περιπτώσεων το 2020 (Εικόνα 4).

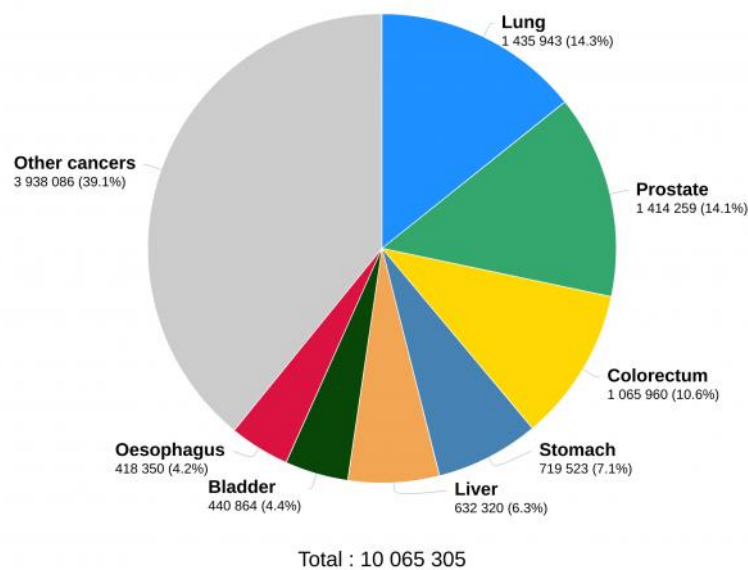


Εικόνα 4. Προβλεπόμενος αριθμός νέων περιπτώσεων για το σύνολο των καρκίνων (και τα δύο φύλα) το 2040 σύμφωνα με τον δείκτη ανθρώπινης ανάπτυξης 4 επιπέδων (Human Development Index, HDI). Πηγή: GLOBOCAN 2020.

Η επίπτωση και η θνησιμότητα από καρκίνο του προστάτη συνδέεται άμεσα με την ηλικία. Το 1992 ξεκίνησε ο έλεγχος του ειδικού προστατικού αντιγόνου (Prostate-Specific Antigen, PSA), που συνέβαλε στη μείωση των ποσοστών θανάτου από καρκίνο του προστάτη [8]. Τα άρρενα άτομα Αφροαμερικανής προέλευσης παρουσιάζουν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη και ενδέχεται να αναπτύξουν καρκίνο του προστάτη νωρίτερα ηλικιακά σε σύγκριση με άλλες φυλές [9]. Υψηλή συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη παρατηρείται επίσης σε άρρενες με καταγωγή από την Καραϊβική, αλλά και Αφρικανικής προέλευσης, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία κοινού γενετικού υποβάθρου, που ευνοεί την ανάπτυξη καρκίνου του

προστάτη. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες τα ποσοστά εμφάνισης καρκίνου του προστάτη σε Αφροαμερικανούς ήταν 40 φορές υψηλότερα από εκείνα των ανδρών στην Αφρική, γεγονός που καταδεικνύει την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων στην αιτιολογία της νόσου [10]. Ο καρκίνος του προστάτη είναι λιγότερο συχνός σε άνδρες Ασιατικής και Ισπανικής καταγωγής συγκριτικά με άλλες γεωγραφικές περιοχές [11]. Στην Ευρώπη, το 2020, ο καρκίνος του προστάτη, αποτελεί τον δεύτερο σε συχνότητα καρκίνο με 1.414.259 νέες περιπτώσεις (14.1%) (Εικόνα 5). Στην Ελλάδα αντίστοιχα για το 2020, έχουν σημειωθεί 6.217 νέες περιπτώσεις (17.1%) και καταλαμβάνει κι εδώ τη δεύτερη σε συχνότητα θέση.

Estimated number of new cases in 2020, worldwide, males, all ages

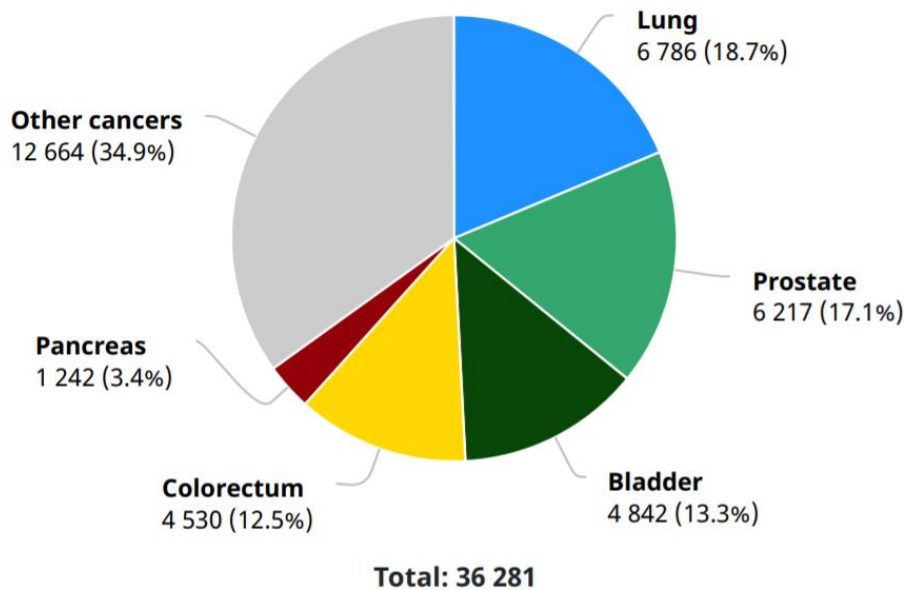


Data source: Globocan 2020
Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>)

International Agency for Research on Cancer
World Health Organization

Εικόνα 5. Νέες περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη παγκοσμίως το 2020, σε άρρενα άτομα ανεξαρτήτως ηλικίας. Πηγή GLOBOCAN 2020

Number of new cases in 2020, males, all ages



Εικόνα 6. Νέες περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη στην Ελλάδα το 2020, σε άνδρες όλων των ηλικιών (GLOBOCAN 2018)

B. 2 Παράγοντες κινδύνου

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί μια πολυπαραγοντική νόσο. Τα ακριβή αίτια εμφάνισής της αποτελούν αντικείμενο πολλών μελετών και παραμένουν σε μεγάλο βαθμό άγνωστα σε σύγκριση με άλλους τύπους καρκίνου. Ωστόσο, έχουν προσδιοριστεί ορισμένοι ενοχοποιητικοί παράγοντες κινδύνου. Ένας παράγοντας κινδύνου αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι θα προκληθεί σίγουρα καρκίνος [12, 13]. Στους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου του προστάτη συγκαταλέγονται η ηλικία, η φυλή-εθνικότητα, ο τρόπος ζωής (διατροφή), γενετικοί παράγοντες και το οικογενειακό ιστορικό [14]. Τα τελευταία χρόνια, σύμφωνα με τα πρόσφατα επιδημιολογικά δεδομένα παρατηρείται τάση μείωσης της θνησιμότητας, γεγονός που αντικατοπτρίζει την ανάπτυξη βελτιωμένων θεραπειών σε συνδυασμό με αυξημένους ελέγχους του δείκτη PSA.

B.2.1 Ηλικία

Ο καρκίνος του προστάτη είναι η πιο συχνά διαγνωσμένη κακοήθεια μεταξύ των ηλικιωμένων ανδρών. Ο συγκεκριμένος καρκίνος σπάνια εμφανίζεται σε άνδρες κάτω των 40 ετών, ενώ ο κίνδυνος

εμφάνισης φαίνεται να αυξάνει εκθετικά μετά τα 50 έτη [15]. Ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη είναι υψηλότερος σε άρρενα άτομα Αφρικανικής καταγωγής και ενδέχεται μάλιστα να εκδηλωθεί σε ηλικία μικρότερη των 40 ετών [16]. Ο ακριβής μηχανισμός που οδηγεί σε αυτό δεν είναι απόλυτα σαφής, αν και φαίνεται να οφείλεται σε γήρανση των κυττάρων και κατ' επέκταση σε αλλαγές στο DNA τους [17]. Η μέση ηλικία διάγνωσης της νόσου είναι τα 70 έτη, αν και θεωρείται ότι άνω των 80 ετών, οι 8 στους 10 άνδρες έχουν έστω και μικρές νεοπλασματικές εστίες.

B.2.2 Φυλή / εθνικότητα/ γεωγραφία

Ο επιπολασμός του καρκίνου του προστάτη παρουσιάζει μεγάλη ποικιλομορφία μεταξύ των διαφόρων φυλετικών ομάδων. Ως επιπολασμός σύμφωνα με το National Institute of Mental Health ορίζεται το ποσοστό ενός πληθυσμού που έχει ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό σε μια δεδομένη χρονική περίοδο [18]. Τα επιδημιολογικά στοιχεία καταδεικνύουν ότι ο καρκίνος του προστάτη εμφανίζεται συχνότερα σε περιοχές όπως η Βόρεια Αμερική, η Βορειοδυτική Ευρώπη και η Αυστραλία. Αντιθέτως, σε περιοχές ανά τον παγκόσμιο χάρτη, όπως η Κεντρική και Νότια Αμερική, η Αφρική και η Ασία παρατηρείται μειωμένη συχνότητα εμφάνισης. Ανά τον κόσμο το υψηλότερο ποσοστό επίπτωσης παρατηρείται σε Αφροαμερικανούς και μάλιστα σε μικρότερη ηλικία έναντι των υπολοίπων φυλετικών ομάδων. Ακόμη και στις ανεπτυγμένες χώρες, τα άτομα Αφρικανικής καταγωγής άνδρες έχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη συγκριτικά με άλλες φυλές. Σε αυτό μπορεί να συμβάλλουν γενετικοί παράγοντες, αλλά και κοινωνικοοικονομικές συνθήκες (χαμηλότερης ποιότητας υγειονομική περίθαλψη και κατ' επέκταση λιγότερες πιθανότητες να υποβληθούν σε διαγνωστικό έλεγχο PSA) [19, 20].

Αρκετές μελέτες δείχνουν ότι τα άτομα Αφρικανικής καταγωγής παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα PSA στο αίμα τους ανεξαρτήτως παρουσίας ή απουσίας καρκίνου του προστάτη [21]. Η γενετική προδιάθεση φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτό. Επιπρόσθετα, η συγκεκριμένη φυλή εμφανίζει πιο επιθετικές μορφές της νόσου [22]. Οι Αφροαμερικανοί παρουσιάζουν συχνά παραλλαγές στο χρωμόσωμα 8q24 οι οποίες έχει αποδειχθεί ότι σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη [23].

B.2.3 Οικογενειακό ιστορικό

Ο καρκίνος του προστάτη συγκαταλέγεται στους πιο συχνά κληρονομήσιμους καρκίνους, με ποσοστό της τάξης του 57% της διακύμανσης του κινδύνου εμφάνισης, να οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες [24]. Εκτιμάται ότι ένα ποσοστό της τάξης του 20% ασθενών με καρκίνο του προστάτη

είχαν οικογενειακό ιστορικό και ότι αυτό ενδέχεται να οφείλεται σε κοινά γονίδια αλλά και έκθεση σε παρόμοιες περιβαλλοντικές συνθήκες. Η πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη διπλασιάζεται σε περιπτώσεις με οικογενειακό ιστορικό, που υπάρχει δηλαδή συγγενής πρώτου βαθμού ο οποίος νοσεί [25].

B.2.4 Γενετική του Καρκίνου του προστάτη

Ο καρκίνος χαρακτηρίζεται ως μια ετερογενής νόσος και μπορεί να προκληθεί από πλήθος γενετικών και επιγενετικών αλλαγών. Οι μεταλλάξεις στο DNA μπορεί να είναι κληρονομήσιμες (βλαστικής σειράς) ή να αποκτηθούν *de novo* κατά τη διάρκεια ζωής ενός ατόμου. Σύμφωνα με το American Cancer Society όσο αναφορά τον καρκίνο του προστάτη ποσοστό της τάξης του 10-15% των περιπτώσεων θεωρείται οικογενής και το 85% περίπου είναι σποραδικού τύπου. Αρκετά είναι τα γονίδια τα οποία έχουν συνδεθεί με τον κληρονομικό καρκίνο του προστάτη, όπως τα ογκοκατασταλτικά γονίδια *BRAC1* και *BRAC2*, που λαμβάνουν μέρος σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης βλαβών του DNA. Οι κληρονομικές μεταλλάξεις στα γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* έχουν συσχετιστεί κατά κύριο λόγο με καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών στις γυναίκες αλλά και με τον καρκίνο του προστάτη στους άντρες. Υπάρχουν επίσης στοιχεία που υποδηλώνουν ότι οι ασθενείς με καρκίνο προστάτη που φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο *BRCA1* και κυρίως στο γονίδιο *BRAC2* φέρουν πιο επιθετικούς όγκους [26-28]. Συγκεκριμένα, το γονίδιο *BRAC1* που εδράζεται στο χρωμόσωμα 17 σχετίζεται πέρα από τον καρκίνο του μαστού και με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη [29].

Το *CHEK2* (Checkpoint kinase 2) είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί μια κίνηση στο σημείο ελέγχου G2 του κυτταρικού κύκλου και παίζει κρίσιμο ρόλο στην αντιγραφή και επιδιόρθωση βλαβών του DNA [30]. Είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής του p53 στον μηχανισμό επιδιόρθωσης. Μεταλλάξεις του *CHECK2* γονιδίου σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού και τα τελευταία χρόνια φαίνεται να σχετίζονται και με τον καρκίνο του προστάτη [31]. Συγκεκριμένα η μετάλλαξη 1100delC του *CHEK2* γονιδίου φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο θανατηφόρου καρκίνου του προστάτη σε Ευρωπαίους και Αμερικανούς άνδρες [32]. Πιο συγκεκριμένα, αν και ο επιπολασμός της μετάλλαξης 1100delC του *CHEK2* γονιδίου ποικίλλει, ο κίνδυνος για εμφάνιση καρκίνου του προστάτη είναι διπλάσιος για λευκούς άνδρες της Βορειοανατολικής Ευρώπης με ετερόζυγο γονότυπο για τη συγκεκριμένη μετάλλαξη. Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη σε άνδρες που φέρουν μεταλλάξεις του γονιδίου *CHECK2* εκτιμάται σε ποσοστό της τάξης του 27% [33].

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο *TP53* είναι ένα από τα πιο συχνά μεταλλαγμένα γονίδια. Οι μεταλλάξεις ή οι ελλείψεις που οδηγούν στην αδρανοποίησή του σχετίζονται με πολλές μορφές καρκίνου [34]. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο *TP53* θεωρούνται γενικά δυσοίωνο εύρημα στον καρκίνο του προστάτη και εμφανίζονται πιο συχνά σε καρκίνο προχωρημένου σταδίου ή μεταστατικό καρκίνο.

Το 2012 για πρώτη φορά αναφέρθηκε μια σπάνια μετάλλαξη στο γονίδιο *HOXB13*, η οποία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καρκίνου του προστάτη τόσο κληρονομικού όσο και σποραδικού. Η μετάλλαξη αυτή θεωρείται σπάνια, συνδέεται όμως με καρκίνο του προστάτη πρώιμης έναρξης [35]. Στους ασθενείς που φέρουν την εν λόγω μετάλλαξη, το γλουταμινικό οξύ αντικαθίσταται από τη γλυκίνη στη δεύτερη θέση του κωδικονίου 84 (G84E) [36].

Μεταλλάξεις σε διάφορες χρωμοσωμικές θέσεις έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Πιο συγκεκριμένα, μετάλλαξη στο χρωμόσωμα 1 στην χρωμοσωμική θέση 1q24-25 φαίνεται να σχετίζεται με τον καρκίνο του προστάτη και οι ερευνητές ονόμασαν την περιοχή αυτή ως περιοχή κληρονομικού καρκίνου του προστάτη 1 (Hereditary Prostate Cancer 1, HPC1). Στη συγκεκριμένη περίπτωση το γονίδιο που ενοχοποιείται κωδικοποιεί τη ριβονουκλεάση L (RNASEL), η φυσιολογική λειτουργία της οποίας είναι να προστατεύει τα κύτταρα μέσω ανοσοποιητικών αμυντικών μηχανισμών. Παίζει επίσης καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση) [37, 38]. Οι μεταλλάξεις της ριβονουκλεάσης L σχετίζονται με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης επιθετικότερων και πρωιμότερων μορφών καρκίνου του προστάτη. Σύμφωνα με μελέτες, ασθενείς με καρκίνο προστάτη που έφεραν μετάλλαξη της RNASEL, παρουσίαζαν χρόνια λοίμωξη από ρετροϊό, και φλεγμονή του συγκεκριμένου ιστού [39, 40].

Επιπρόσθετα, απώλειες στο χρωμόσωμα 8 έχουν σχετιστεί με τον καρκίνο του προστάτη. Το γονίδιο *NKX3.1*, η έκφραση του οποίου εντοπίζεται κυρίως στο επιθήλιο του προστάτη, εδράζεται στο χρωμόσωμα 8. Χρωμοσωμικές διαταραχές στη θέση 8p21.2 σχετίζονται με απώλεια ετεροζυγωτίας στο 37% των περιπτώσεων υψηλόβαθμης προστατικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας (PIN) και στο 46% των περιπτώσεων προστατικών αδενοκαρκινωμάτων. Επιπλέον, έλλειψη στη θέση 8p22 σχετίζεται σε ποσοστό της τάξης του 32-69% με πρώιμο καρκίνο του προστάτη και σε ποσοστό της τάξης του 65-100% με μεταστατική νόσο [41].

Στο χρωμόσωμα 17, στη θέση 11 βρέθηκε ένα άλλο γονίδιο HPC (HPC2/ELAC2) που σχετίζεται με την εμφάνιση καρκίνου του προστάτη. Η ELAC2 πρωτεΐνη έχει ενεργό ρόλο στην επιδιόρθωση του DNA αλλά και την ωρίμανση του mRNA, δεσμεύει το Smad family member 2 (Smad2), το οποίο ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού TGF-β και ενδέχεται να σχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Μελέτες πολυμορφισμών στις θέσεις που κωδικοποιούν τα αμινοξέα Ser217Leu και Ala541Thr του γονιδίου HPC2/ELAC2

υποδεικνύουν πιθανή συσχέτιση, ωστόσο τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα [42]. Αξίζει να σημειωθεί επίσης ότι σε ορισμένες περιπτώσεις σποραδικού και κληρονομικού καρκίνου του προστάτη βρέθηκαν μικρές διαγραφές νουκλεοτιδίων στη χρωμοσωμική θέση Xq26.3-q27.3. Το X χρωμόσωμα πιστεύεται ότι παίζει ρόλο στον κληρονομικό καρκίνο του προστάτη, επειδή εκεί εδράζεται το γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα ανδρογόνων (AR) [43].

Μεταλλάξεις σε γονίδια επιδιορθωτικών μηχανισμών, όπως τα γονίδια MSH2, MSH6, MLH1 και PMS2 ενδέχεται να ενοχοποιούνται για τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Τα εν λόγω γονίδια σχετίζονται με τον κληρονομικό καρκίνο του παχέος εντέρου γνωστό και ως σύνδρομο Lynch (LS). Το LS αυξάνει τον κίνδυνο και για άλλους καρκίνους, μεταξύ των οποίων και ο καρκίνος του προστάτη [44].

B.2.5 Δευτερογενείς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη

B.2.5.1 Διατροφή

Μελέτες δείχνουν, σύμφωνα με το American Cancer Society, ότι ορισμένα τρόφιμα σχετίζονται με υψηλότερο κίνδυνο, ενώ άλλα μπορεί να έχουν προστατευτική δράση έναντι της ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη. Υπάρχουν ορισμένα στοιχεία που υποδηλώνουν ότι η κατανάλωση επεξεργασμένων κρεάτων και τροφών πλούσιων σε κορεσμένο ζωικό λίπος αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη [45]. Η πρόσληψη αυξημένης ποσότητας λίπους αυξάνει τα επίπεδα των ROS και του οξειδωτικού στρες, προκαλούν υπεροξειδωση των κυττάρων και κατά συνέπεια βλάβη στο DNA. Άλλοι βιολογικοί μηχανισμοί με σημαντικό ρόλο φαίνεται να είναι η αύξηση του βασικού μεταβολισμού και του αυξητικού παράγοντα της ινσουλίνης, αλλά και η δράση των ανδρογόνων [46].

Η μεγάλη κατανάλωση κρέατος και συγκεκριμένα πέντε ή και περισσότερες μερίδες την εβδομάδα, σχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, αλλά και αυξημένη θνησιμότητα [47]. Το κόκκινο κρέας, το οποίο ψήνεται σε αρκετά υψηλές θερμοκρασίες (125 - 300°C), ενδέχεται να προκαλέσει το σχηματισμό αρωματικών υδρογονανθράκων και μεταλλαξιογόνων ετεροκυκλικών αμινών, όπως επίσης να οδηγήσει σε υπεροξειδωση των λιπιδίων και κατά συνέπεια παραγωγή ελεύθερων ριζών [48]. Ανάλογες μελέτες έδειξαν ότι η υψηλή κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων και γενικώς μια διατροφή πλούσια σε ασβέστιο (>2000mg/ημέρα), ενδέχεται να αυξήσει τον κίνδυνο καρκίνου του προστάτη [49].

Διατροφή που περιέχει ωμέγα-3 λιπαρά οξέα, ως γνωστόν δρα προστατευτικά έναντι της καρκινογένεσης. Ωστόσο, το αραβοσιτέλαιο και κυρίως η συχνή χρήση αυτού, μπορεί να προκαλέσει καρκινογένεση μέσω του λινολεϊκού οξέος (ω-6) [50].

Όσο αφορά την κατανάλωση λαχανικών, υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, καθώς κάποιες μελέτες υποστηρίζουν ότι τα λαχανικά και ειδικά του είδους Brassica έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες, ενώ σε άλλες μελέτες αυτό δεν αποδεικνύεται [51, 52].

Η Ασία, συγκριτικά με άλλες ηπείρους φαίνεται να παρουσιάζει σημαντικά μικρότερα ποσοστά εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, γεγονός που οδήγησε σε μια σειρά μελετών σχετικά με τη διατροφή των Ασιατών. Οι έρευνες έδειξαν ότι η σόγια που καταναλώνουν σε μεγάλη ποσότητα, περιέχει το χημικό συστατικό ισοφλαβόνη, που έχει αντικαρκινικές ιδιότητες [53]. Επιπλέον, το πράσινο τσάι που καταναλώνουν περιέχει τις κατεχίνες, ουσίες με αντικαρκινική δράση, καθώς και πολυφαινόλες που προκαλούν μείωση των επιπέδων IGF-1 (Αυξητικός Παράγοντας ομοιάζων στην Ινσουλίνη-1) [54]. Θεωρείται πως μία διατροφή πλούσια σε λαχανικά, Βιταμίνη E (α-Τοκοφερόλη), λυκοπένιο (περιέχεται στις ντομάτες), σελήνιο, δημητριακά και αυγά μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη.

B.2.5.2 Κάπνισμα

Το κάπνισμα αποτελεί γενικά έναν από τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου. Τόσο η ενεργητική όσο και η παθητική έκθεση στον καπνό θεωρείται καρκινογόνος. Δεν έχει ωστόσο επιβεβαιωθεί ότι σχετίζεται συγκεκριμένα με την εμφάνιση καρκίνου του προστάτη [55, 56]. Μία πιθανή συσχέτιση θα μπορούσε να οφείλεται στο γεγονός ότι οι άρρενες καπνιστές έχουν υψηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης και μειωμένα επίπεδα οιστραδιόλης, προκαλώντας διαταραχές στα επίπεδα ορμονών [57].

Επιπρόσθετα, ο καπνός του τσιγάρου περιέχει πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAH), οι οποίοι είναι χημικά καρκινογόνα και μπορούν να αποτελέσουν παράγοντα κινδύνου [58]. Η έκθεση στα χημικά αυτά μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης του καρκίνου του προστάτη, διότι οι PAH μπορούν να δράσουν ως αγωνιστές στον ανδρογονικό υποδοχέα, προκαλώντας μέσω της οδού αυτής διέγερση των ανδρογόνων.

B.2.5.3 Φλεγμονή του προστάτη

Επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η προστατίτιδα ενδέχεται να αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη λόγω των προβλημάτων που προκαλεί η χρόνια φλεγμονή στον

προστάτη. Η διαδικασία της χρόνιας φλεγμονής συνδέεται με την εμφάνιση παραγόντων, όπως είναι οι ιντερλευκίνες και οι χημειοκίνες. Η φλεγμονή προκαλεί κυτταρικές και γενετικές βλάβες μέσω του οξειδωτικού μηχανισμού, αλλά και υψηλή πυκνότητα λευκοκυττάρων [59]. Σύμφωνα με μελέτες σε ορισμένες περιπτώσεις ασθενών με επιθετικές μορφές καρκίνου του προστάτη υπήρχε αυξημένη πυκνότητα λευκοκυττάρων [60]. Μέχρι στιγμής έχει αποδειχθεί ότι η χρόνια φλεγμονή του προστάτη οδηγεί σε PIA (πολλαπλασιαστική φλεγμονώδη ατροφία) και κατ' επέκταση σε PIN (προστατική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία) [61].

B.3 Ιστοπαθολογία του όγκου

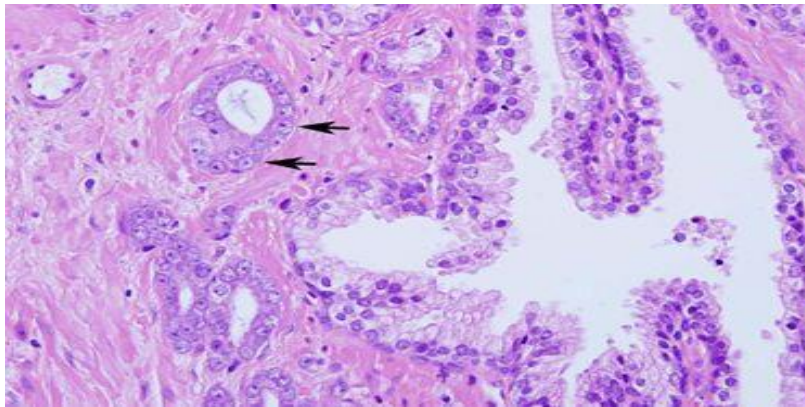
Ο καρκίνος του προστάτη παρουσιάζει μεγάλη ετερογένεια. Ωστόσο, πάνω από το 95% των περιπτώσεων είναι αδενοκαρκινώματα, καθώς αναπτύσσονται κυρίως από το αδενικό τμήμα του οργάνου και παρουσιάζουν τυπικά αδενικά μοτίβα στη μικροσκοπική εξέταση. Οι λοιποί ιστολογικοί τύποι αφορούν στο 5% του πρωτοπαθούς καρκίνου προστάτη. Ο καρκίνος του προστάτη είναι πιο συχνός στην περιφερική ζώνη (70%), η οποία μπορεί να ψηλαφηθεί μέσω της δακτυλικής εξέτασης DRE. Ο κακοήθης μετασχηματισμός του προστάτη ακολουθεί κάποια στάδια, ξεκινώντας ως ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία του προστάτη (PIN), εξελίσσεται σε εντοπισμένο καρκίνο του προστάτη και στη συνέχεια αναπτύσσεται σε αδενοκαρκίνωμα προστάτη με τοπική εισβολή, που ενδέχεται να δώσει μεταστάσεις [62].

Η PIN αποτελεί πρόδρομη αλλοίωση, και χαρακτηρίζεται ιστολογικά από την εμφάνιση υπερπλασίας του κυλινδρικού επιθηλίου τη μείωση των βασικών κυττάρων, τη μεγέθυνση των πυρήνων και πυρηνίων, την κυτταροπλασματική υπερχρωμάτωση αλλά και την πυρηνική ατυπία. Σε αντίθεση με τον καρκίνο του προστάτη, στην PIN τα βασικά κύτταρα μειώνονται σε αριθμό αλλά δεν απουσιάζουν. Επειδή πληροί σχεδόν όλες τις προϋποθέσεις για μια προ-κακοήθη κατάσταση, η υψηλόβαθμη PIN (high-grade HGPIN) είναι ευρέως αποδεκτή ως πρόδρομη μορφή του καρκίνου του προστάτη. Διακρίνεται σε ήπια (PIN1), μέτρια (PIN2) και σοβαρού βαθμού (PIN3). Η μεσαίου βαθμού PIN θεωρείται ως προ-καρκινική αλλοίωση και μπορεί κατά 50% να οδηγήσει σε καρκίνο του προστάτη. Η σοβαρού βαθμού PIN συνυπάρχει με καρκίνο του προστάτη σε ποσοστό που κυμαίνεται από 50-85% και ταυτίζεται με το ενδοεπιθηλιακό καρκίνωμα in situ [63].

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization, WHO), οι βασικοί ιστολογικοί τύποι του καρκίνου του προστάτη είναι οι εξής: Νεοπλάσματα του αδενικού επιθηλίου (Glandular neoplasms), ουροληθιακό καρκίνωμα (urolethial carcinoma), πλακώδες νεόπλασμα (squamous neoplasm), βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (basal cell carcinoma), νευροενδοκρινείς όγκοι (neuroendocrine tumors) [64].

- **Νεοπλάσματα του αδενικού επιθηλίου (Glandular neoplasms)**

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα **κυψελιδικά αδενοκαρκινώματα (acinar adenocarcinoma)** που αποτελούν και την πλειοψηφία των αδενοκαρκινωμάτων. Αποτελούνται από κυβικά κύτταρα διατεταγμένα σε κυψέλες, ενώ παρουσιάζονται μικροί και μερικές φορές μεσαίοι αδένες με διηθητική ανάπτυξη. Σε αντίθεση με την PIN, που έχουμε μειωμένο αριθμό βασικών κυττάρων, στην περίπτωση του κυψελιδικού αδενοκαρκινώματος έχουμε απουσία των βασικών κυττάρων. Άλλα χαρακτηριστικά είναι η διόγκωση των πυρήνων, τα εμφανή πυρήνια, το λεπτό κοκκώδες κυτταρόπλασμα, η υπερχρωμασία των πυρήνων και οι ροζ άμορφες εκκρίσεις (Εικόνα 7). Τα στοιχεία μίτωσης εμφανίζονται σπάνια εκτός και αν έχουμε υψηλού βαθμού νεόπλασμα.



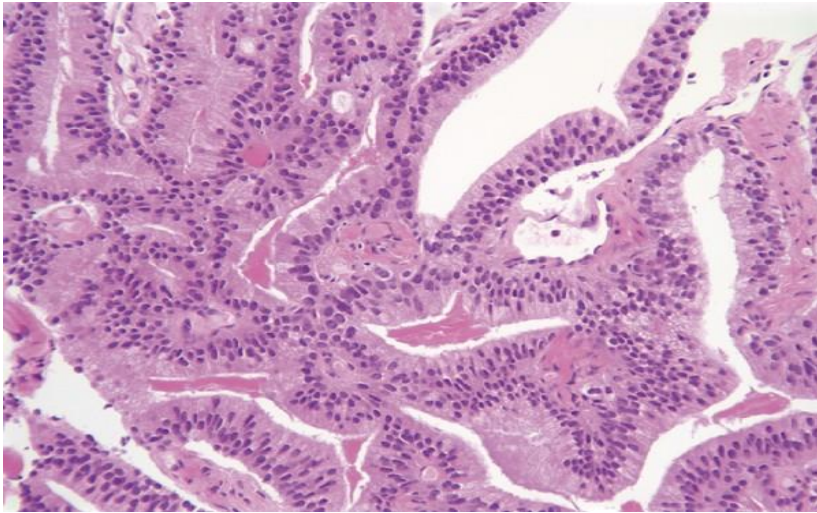
Εικόνα 7. Κυψελιδικό αδενοκαρκίνωμα (acinar adenocarcinoma). Τα βέλη απεικονίζουν το εμφανές πυρήνιο και το αμφίφιλο κυτταρόπλασμα.

(<https://somepomed.org/articulos/contents/mobipreview.htm?17/51/18229>)

- **Ενδοπορικό καρκίνωμα (Intraductal carcinoma) και Πορογενές αδενοκαρκίνωμα (Ductal carcinoma)**

Το πορογενές αδενοκαρκίνωμα είναι ο δεύτερος συχνότερος τύπος καρκίνου του προστάτη και ανιχνεύεται κυρίως σε ηλικιωμένους άντρες. Η πλειονότητα των πορογενών αδενοκαρκινωμάτων βρίσκεται σε συνδυασμό με τα κυψελοειδή αδενοκαρκινώματα, ενώ η πιθανότητα να υπάρχει μόνο του το πορογενές αδενοκαρκίνωμα είναι ιδιαίτερα χαμηλή (0.2-0.4%). Συχνά, αυτού του τύπου τα αδενοκαρκινώματα εντοπίζονται στην περιουρηθρική περιοχή με κύριο σύμπτωμα την αιματουρία. Το πορογενές αδενοκαρκίνωμα μοιάζει με το κυψελιδικό αδενοκαρκίνωμα, τα κύτταρα έχουν μεγάλους πυρήνες, με την διαφορά ότι τα πορογενή αδενοκαρκινώματα σχηματίζουν συχνά ψευδο-στρωματοποιημένους πυρήνες και αμφίφιλο κυτταρόπλασμα. Με βάση τα μορφολογικά

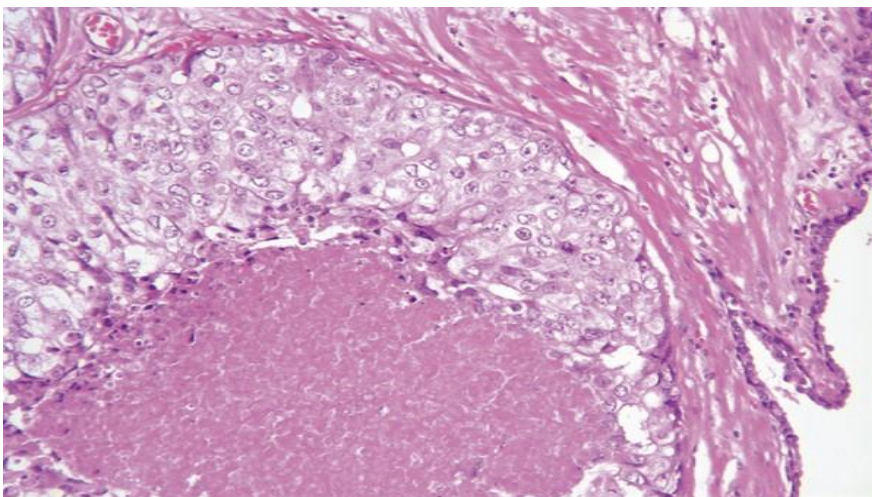
χαρακτηριστικά η διαβάθμιση του πορογενούς αδενοκαρκινώματος βαθμολογείται με Gleason score 4 [64, 65].



Εικόνα 8. Πορογές Αδενοκαρκίνωμα. Παρατηρείται μια πολύπλοκη, διακλαδισμένη αρχιτεκτονική

- **Ουροθηλιακό καρκίνωμα (urothelial carcinoma)**

Το ουροθηλιακό καρκίνωμα του προστάτη κατατάσσεται στους υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκίνους. Συνήθως η εμφάνισή του σχετίζεται με ένα πρωτοπαθές καρκίνωμα στην ουρήθρα ή στην ουροδόχο κύστη. Τα νεοπλασματικά κύτταρα εμφανίζουν έντονο πυρηνικό πλειομορφισμό με πολλές μιτώσεις. Επίσης παρατηρείται νέκρωση τύπου comedo.



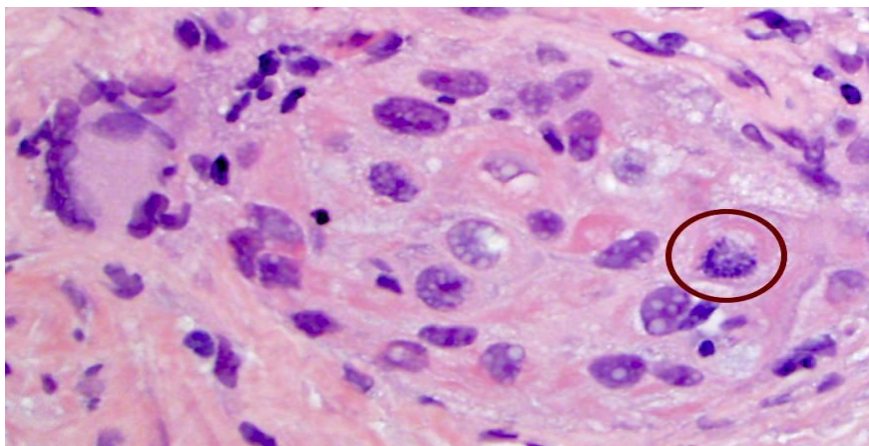
Εικόνα 9. Ουροθηλιακό καρκίνωμα προστάτη. Παρατηρείται νέκρωση τύπου comedo, αλλά και ο βαθμός του πυρηνικού πλειομορφισμού.

- **Πλακώδες νεόπλασμα (squamous neoplasm)**

Μία ιδιαίτερα σπάνια περίπτωση θεωρείται το πλακώδες καρκίνωμα. Αυτός ο τύπος καρκίνου αναπτύσσεται από επίπεδα κύτταρα που καλύπτουν τον προστάτη αδένα και τείνει να αναπτύσσεται πιο γρήγορα από τα αδενοκαρκινώματα.

1. Πλακώδες καρκίνωμα (Squamous cell carcinoma)

Τα πλακώδη καρκινώματα του προστάτη αντιπροσωπεύουν ποσοστό μικρότερο από 0.6% των περιπτώσεων καρκίνου του προστάτη. Το 50% των περιπτώσεων εμφανίζονται σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα προστάτη, μετά από ADT. Ενδέχεται να προέρχεται από τους περιουρηθρικούς αδένες, από τα προστατικά λόβια ή από το ενδοθήλιο των βασικών κυττάρων. Το μέγεθος των όγκων είναι συνήθως μεγάλο και φτάνει περίπου τα 65 mm.

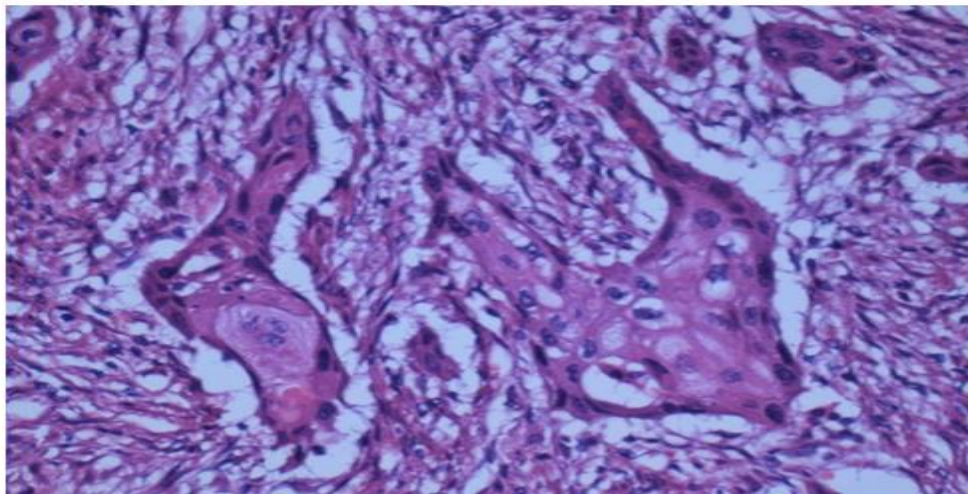


Εικόνα 10. Πλακώδες καρκίνωμα προστάτη. Παρατηρείται ακραίος κυτταρικός πλειομορφισμός και στον κύκλο απεικονίζεται μιτωτική δραστηριότητα.

<http://www.pathologyoutlines.com/topic/prostatesquamous.html>

2. Αδενοπλακώδες καρκίνωμα (Adenosquamous carcinoma)

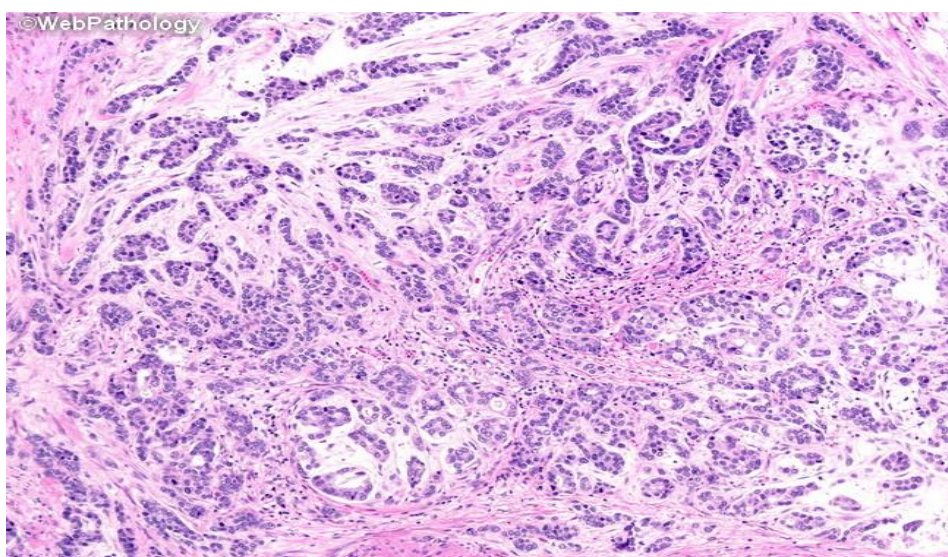
Εμφανίζεται ακόμη σπανιότερα και ορίζεται από την παρουσία υψηλού βαθμού κακοηθείας κυψελιδικού αδενοκαρκινώματος αλλά και την παρουσία πλακωδών καρκινωμάτων του προστάτη.



Εικόνα 11. Αδενοπλακώδες καρκίνωμα του προστάτη (<https://www.ivyunion.org/index.php/ajccr/index>)

- **Βασικοκυτταρικό καρκίνωμα (basal cell carcinoma)**

Το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα του προστάτη είναι εξαιρετικά σπάνιο. Μικροσκοπικά, οι τυπικές δομές ανάπτυξης του βασικοκυτταρικού καρκινώματος περιλαμβάνουν αδενοειδή σχήματα κυστικής /κρυσταλλικής μορφής και μικρές συμπαγείς κοκκιωματικές φωλιές. Το BCC χαρακτηρίζεται τυπικά από υπερχρωματικούς πυρήνες, υψηλή πυρηνική προς κυτταροπλασματική αναλογία και αυλούς που περιλαμβάνουν ηωσινόφιλα κύτταρα και δεσμοπλαστικό ή μυξοειδές στρώμα.



Εικόνα 12. Βασικοκυτταρικό καρκίνωμα του προστάτη (<https://www.webpathology.com/image>)

- **Νευροενδοκρινείς όγκοι (neuroendocrine tumors)**

1. Το **αδενοκαρκίνωμα με νευροενδοκρινική διαφοροποίηση (Adenocarcinoma with neuroendocrine differentiation)** ορίζεται ως τυπικό κυψελιδικό ή πορογενές αδενοκαρκίνωμα χωρίς ανιχνεύσιμη νευροενδοκρινική μορφολογία.
2. **Μικροκυτταρικό νευροενδοκρινικό καρκίνωμα (Small cell neuroendocrine carcinoma):** είναι εξαιρετικά επιθετικό και είναι ανθεκτικό στη θεραπεία στέρησης ανδρογόνων (ADT). Χαρακτηρίζεται από ελάχιστο κυτταρόπλασμα, υπερχρωματικούς πυρήνες χωρίς εμφανή πυρήνια, συχνές μιτώσεις, ευθραυστότητα, πυρηνική ράβδωση και νέκρωση.
3. **Μεγαλοκυτταρικό νευροενδοκρινικό καρκίνωμα (Large cell neuroendocrine carcinoma):** αποτελεί έναν επιθετικό και εξαιρετικά σπάνιο όγκο, ο οποίος παρουσιάζει ομοιότητες με το μικροκυτταρικό νευροενδοκρινικό καρκίνωμα. Στις περισσότερες περιπτώσεις προκύπτει από ένα προϋπάρχον αδενοκαρκίνωμα με ιστορικό μακροχρόνιας ADT.

Ο μεταστατικός καρκίνος προστάτη αποτελεί την κύρια αιτία θανάτων σχετιζόμενων με καρκίνο του προστάτη. Σημαντικό ρόλο στη διήθηση και στη μετάσταση παίζει η επιθήλιο-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT), κατά την οποία τα επιθηλιακά κύτταρα χάνουν τις μεσοκυττάρειες γέφυρες σύνδεσης και αποκτούν μεσεγχυματικό φαινότυπο και αυξημένη ικανότητα μετανάστευσης [66, 67]. Τα καρκινικά κύτταρα του προστάτη υφίστανται EMT, αποδίδονται στην κυκλοφορία ως κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (CTCs) και ξεπερνώντας αρκετά φυσικά εμπόδια μεταναστεύουν στα οστά και μπορούν να φτάσουν μέχρι και στον μυελό των οστών [68].

B.4 Βαθμός διαφοροποίησης κατά Gleason

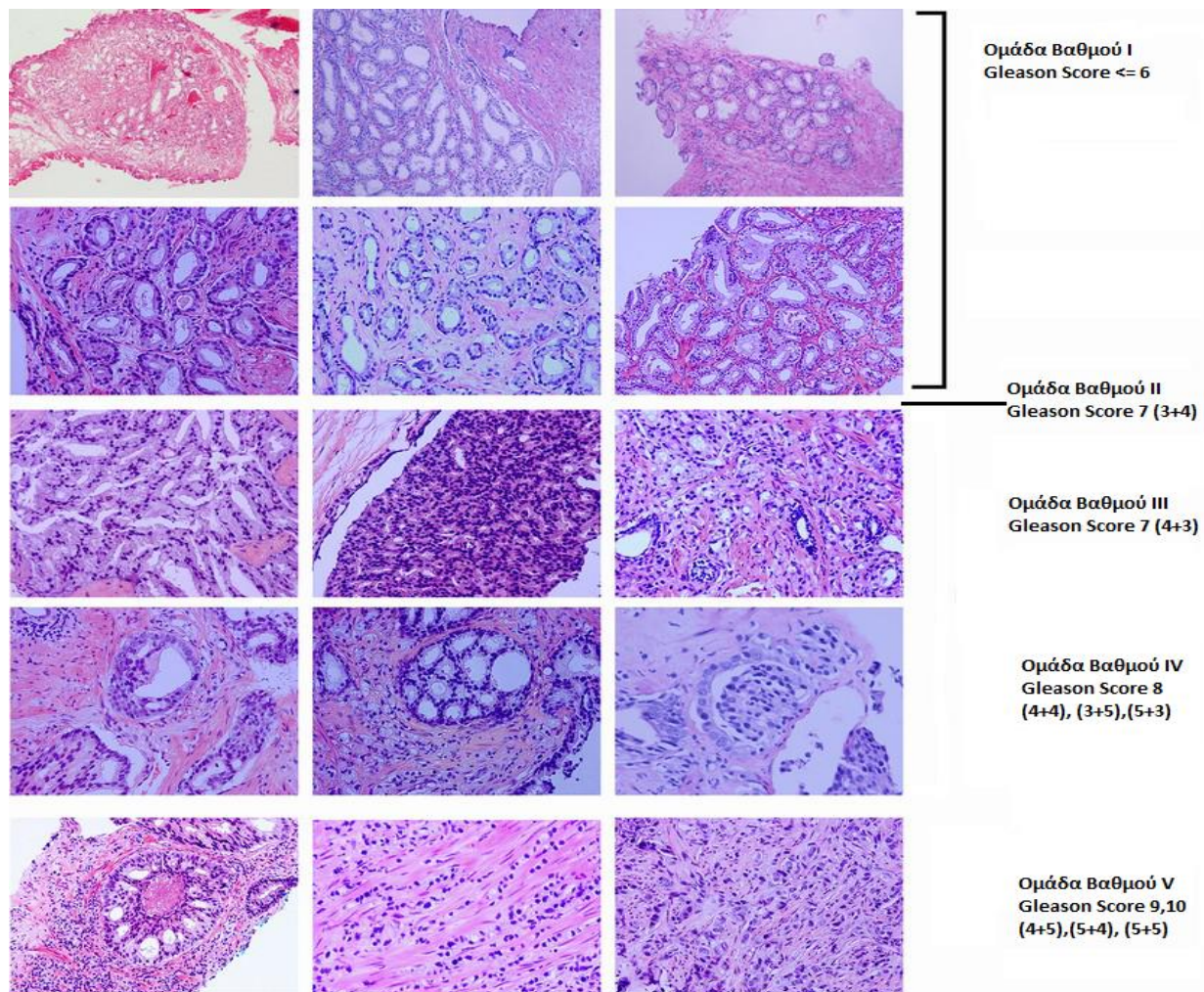
Το κύριο εργαλείο αξιολόγησης των ιστολογικών δειγμάτων αποτελεί η βαθμονόμηση κατά Gleason. Η συγκεκριμένη κλίμακα χρησιμοποιείται για τη βαθμολόγηση κακοηθειών του προστάτη και η προγνωστική της αξία είναι πολύ σημαντική, καθώς καθοδηγεί τους ειδικούς στην επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής [69]. Χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Donald Gleason τη δεκαετία του 1960 και από τότε υιοθετήθηκε παγκοσμίως [70]. Το σύστημα Gleason χρησιμοποιεί μια βαθμολογική κλίμακα που κυμαίνεται από 1 έως 5, όπου το 1 είναι η λιγότερο επιθετική μορφή καρκίνου και αντιπροσωπεύει την σχεδόν φυσιολογική αδενική αρχιτεκτονική, όπου τα κύτταρα μοιάζουν πολύ με τα φυσιολογικά. Το 5 σημαίνει ότι τα καρκινικά κύτταρα έχουν αναπτυχθεί με έναν

ανοργάνωτο τρόπο και έχει χαθεί η φυσιολογική αρχιτεκτονική του προστάτη αδένου [71]. Στην κλίμακα Gleason τα 2, 3 και 4 είναι μεταξύ των δύο άκρων και αντιπροσωπεύουν την ενδιάμεση κατάσταση.

Δεδομένου ότι οι προστατικοί όγκοι αποτελούνται συχνά από καρκινικά κύτταρα που έχουν διαφορετικούς βαθμούς, για κάθε ασθενή συνοψίζονται δύο βαθμοί κακοήθειας που αποτελούν το Gleason score. Το Gleason score κυμαίνεται από 2 όπου δεν υπάρχουν ιδιαίτερα επιθετικά κύτταρα, έως και 10 με πολύ επιθετικά κύτταρα. Αρχικά δίνεται μια βαθμολογία για τα κύτταρα που αποτελούν τη μεγαλύτερη περιοχή του όγκου, ενώ η δεύτερη βαθμολογία περιγράφει τα κύτταρα της αμέσως επόμενης μεγαλύτερης περιοχής. Πιο συγκεκριμένα εάν έχουμε ένα Gleason score $2+3=5$, αυτό σημαίνει ότι το μεγαλύτερο μέρος του όγκου είναι βαθμού 2 και το αμέσως επόμενο μεγαλύτερο τμήμα του όγκου είναι βαθμού 3. Ένα Gleason score ≤ 6 θεωρείται ήπιος βαθμός κακοήθειας με καλύτερη προοπτική και είναι πιθανό να εξελιχθεί πιο αργά, ενώ αν είναι ≥ 7 έχουν χειρότερη πρόγνωση, καθώς όσο πιο ψηλό είναι το Gleason score τόσο πιο γρήγορα αναπτύσσεται ο όγκος.

Ένα Gleason score 7 θεωρείται ενδιάμεσου κινδύνου και το πρωταρχικό score του όγκου είναι 3 ή 4. Οι όγκοι με πρωταρχική βαθμολογία 3 και δευτερεύουσα 4 έχουν καλύτερη προοπτική, έναντι αυτών με πρωταρχική βαθμολογία 4 και δευτερεύουσα 3. Τέλος ένα Gleason score που κυμαίνεται από 8-10 περιγράφει υψηλού βαθμού κακοήθειας όγκους [72, 73].

Το 2014 η Διεθνής Εταιρία Ουρολογικής Παθολογίας (ISUP) πρότεινε με βάση τα όσα προαναφέραμε ένα νέο σύστημα διαβάθμισης κατά Gleason, το οποίο αποδέχτηκε και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) το 2016. Η πιο σημαντική αλλαγή ήταν ότι έγινε μια διαβάθμιση σε βαθμούς I-IV όπως φαίνεται και παρακάτω (Εικόνα 13). Στον βαθμό I, το Gleason score είναι ≤ 6 και ο καρκινικός ιστός παρουσιάζει ομοιότητες με τον φυσιολογικό. Ο βαθμός II έχει Gleason score 7 (3+4) και το καρκίνωμα φαίνεται να παρουσιάζει και πάλι ομοιότητες με τον φυσιολογικό ιστό, ωστόσο ορισμένοι αδένες φαίνονται μεγαλύτεροι σε μέγεθος και παρουσιάζουν ήπια διαταραχή. Στον Βαθμό III το Gleason score είναι 7 (4+3), η αδενική αρχιτεκτονική είναι αναγνωρίσιμη, αλλά υπάρχουν διαταραχές. Στον Βαθμό IV το Gleason score είναι 8 (4+4) ή (3+5) ή (5+3) και υπάρχει μεγάλος αριθμός διηθητικών κυττάρων. Τέλος, ο Βαθμός V έχει Gleason score 9 ή 10 (4+5) ή (5+4) ή (5+5). Εδώ δεν παρατηρούνται αναγνωρίσιμοι αδενικοί σχηματισμοί παρά μόνο διηθητικά κύτταρα στον γύρω ιστό [74]



Εικόνα 13. Σύστημα διαβάθμισης του καρκίνου του προστάτη κατά Gleason (Chen et al. 2016)

B.5 Σταδιοποίηση καρκίνου του προστάτη κατά TNM (Tumor-Node-Metastasis)

Για την σταδιοποίηση του καρκίνου του προστάτη χρησιμοποιείται κυρίως το σύστημα TNM της AJCC (Αμερικανικής Κοινής Επιτροπής για τον Καρκίνο), το οποίο ενημερώθηκε το 2018 (8^η Έκδοση). Στο σύστημα αυτό εκφράζεται η έκταση του όγκου (T- tumor), η κατάσταση των λεμφαδένων (N-node) και η παρουσία ή απουσία μεταστάσεων σε απομακρυσμένες θέσεις (M-metastasis). Για την ταξινόμηση του καρκίνου του προστάτη σύμφωνα με το American Cancer Society και το National Cancer Institute πρέπει να λάβουμε υπόψη την δακτυλική εξέταση DRE, προκειμένου να εκτιμηθεί η τοπική επέκταση του όγκου, το PSA, και τον βαθμό διαφοροποίησης κατά Gleason. Ο ρόλος της σταδιοποίησης είναι ιδιαίτερα σημαντικός, καθώς βοηθά στη διάγνωση, στον υπολογισμό της πρόγνωσης για την πορεία της νόσου και στην επιλογή της σωστής θεραπείας.

Πίνακας 1. Ταξινόμηση κατά TNM του καρκίνου του προστάτη σύμφωνα με το AJCC (2018)

Πρωτοπαθής Όγκος –T (Tumor)	
Tx	Όγκος που δεν μπορεί να αξιολογηθεί
T0	Απουσία ανιχνεύσιμου όγκου
T1	Κλινικά μη εμφανής όγκος, ο οποίος δεν μπορεί να ψηλαφηθεί.
T1a	Ο όγκος βρίσκεται τυχαία, σε ποσοστό μικρότερο από το 5% του ιστού που αφαιρέθηκε.
T1b	Ο όγκος βρίσκεται τυχαία, σε ποσοστό μεγαλύτερο από το 5% του ιστού που αφαιρέθηκε.
T1c	Ο καρκίνος βρίσκεται με την βελόνα της βιοψίας σε ένα ή και στους δύο λοβούς, αλλά δεν μπορεί να ψηλαφηθεί.
T2	Ο όγκος μπορεί να ψηλαφηθεί αλλά είναι ακόμα περιορισμένος στον προστάτη.
T2a	Ο καρκίνος είναι περιορισμένος στον έναν μόνο λοβό του προστάτη (δεξιό ή αριστερό) και καταλαμβάνει λιγότερο από τον μισό.
T2b	Ο καρκίνος είναι περιορισμένος στον έναν μόνο λοβό του προστάτη (δεξιό ή αριστερό) και καταλαμβάνει περισσότερο από τον μισό.
T2c	Ο όγκος καταλαμβάνει και τους 2 λοβούς
T3	Ο καρκίνος έχει αρχίσει να εξαπλώνεται έξω από τον προστάτη και μπορεί να εξαπλωθεί και στα σπερματικά κυστίδια
T3a	Ο καρκίνος εξαπλώνεται έξω από τον προστάτη αλλά όχι στα σπερματικά κυστίδια
T3b	Ο όγκος έχει εξαπλωθεί στα σπερματικά κυστίδια
T4	Ο καρκίνος έχει εξαπλωθεί σε ιστούς γειτονικούς ιστούς , όπως στον αυχένα της κύστης, στο ορθό, τον έξω σφιγκτήρα και τα τοιχώματα της πυέλου.
Λεμφαδένες-N (Nodes)	
Nx	Επιχώριοι λεμφαδένες δεν μπορούν να αξιολογηθούν
N0	Κανένας θετικός επιχώριος λεμφαδένας.
N1	Μετάσταση σε επιχώριο λεμφαδένα
Απομακρυσμένες μεταστάσεις –M (Metastasis)	
M0	Όχι απομακρυσμένες μεταστάσεις
M1	Απομακρυσμένες μεταστάσεις
M1a	Μακρινή μετάσταση σε μη επιχώριους λεμφαδένες
M1b	Οστικές μεταστάσεις
M1c	Μακρινή μετάσταση σ' άλλα όργανα, με ή χωρίς μετάσταση στα οστά.

B.6 Συμπτώματα

Η νόσος είναι συχνά ασυμπτωματική ή μπορεί να εμφανίσει συμπτώματα του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος, όπως είναι η πολουρία, η επείγουσα ανάγκη για ούρηση, η δυσκολία κατά την ούρηση, η νυκτουρία, τα συμπτώματα ουρολοίμωξης, η κακή ροή των ούρων, η στυτική δυσλειτουργία αλλά και η αιματουρία. Σπάνια, μπορεί να υπάρξει αίμα στο σπέρμα ή επώδυνη εκσπερμάτιση (ESMO, 2020) ή στην περίπτωση που ο καρκίνος έχει κάνει μετάσταση στα οστά να δημιουργηθεί εντοπισμένο ή γενικευμένο άλγος. Οι άνδρες με καρκίνο του προστάτη στα αρχικά στάδια συνήθως δεν παρουσιάζουν συμπτώματα, καθώς αυτά εμφανίζονται όταν ο όγκος είναι αρκετά μεγάλος και μπορεί να πιέσει την ουρήθρα. Υπάρχουν περιπτώσεις που είναι ιδιαίτερα δύσκολο να διακρίνουμε εάν πρόκειται για καρκίνο του προστάτη καθώς τα συμπτώματα είναι παρόμοια με αυτά της καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη ή με προστατίτιδα [75]. Υπάρχει αρκετά μεγάλος αριθμός ανδρών με μη διαγνωσμένο καρκίνο του προστάτη λόγω της έλλειψης συμπτωμάτων και αποτελέσματα διαφόρων ερευνών έδειξαν ότι άνω των 85 ετών έως και τα 3/4 των ανδρών είχαν καρκίνο του προστάτη που δεν είχε διαγνωστεί πριν τον θάνατο τους.

B.7 Διάγνωση

Η έγκαιρη διάγνωση έχει σημασία, αν και ο καρκίνος του προστάτη έχει κατά κανόνα αργή εξέλιξη. Από την ηλικία των 50 ετών και πάνω πρέπει να ξεκινά ο έλεγχος, ο οποίος περιλαμβάνει μέτρηση του ειδικού προστατικού αντιγόνου PSA, δακτυλική εξέταση DRE για τον έλεγχο του μεγέθους, της συνοχής και των ορίων του προστάτη, καθώς και διορθικό υπερηχογράφημα του προστάτη (transrectal ultrasound TRUS). Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος η μόνη εξέταση που μπορεί να επιβεβαιώσει τη διάγνωση είναι η βιοψία του προστάτη αδένου [76]. Άλλες διαγνωστικές εξετάσεις περιλαμβάνουν τη μαγνητική τομογραφία (MRI), αλλά και το CT scan κυρίως σε περιπτώσεις που έχουμε μετάσταση [77].

B.7.1 DRE- Δακτυλική εξέταση

Μέσω της δακτυλικής εξέτασης από το ορθό ο γιατρός μπορεί να ψηλαφήσει και να διαπιστώσει τυχόν σκληρές περιοχές ή ανωμαλίες στο μέγεθος αλλά και το σχήμα του προστάτη, που ίσως προκλήθηκαν από την εμφάνιση καρκίνου. Μέσω της DRE δεν μπορούν να αναγνωριστούν όγκοι μικρού μεγέθους αλλά ούτε να γίνει διαφοροποίηση καλοήθους από κακοήθη όγκο.

B.7.2 Ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA)

Το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται από τα φυσιολογικά κύτταρα του προστάτη [78]. Μία υψηλή τιμή PSA μπορεί να αποτελεί ένδειξη καρκίνου του προστάτη. Ο καρκίνος του προστάτη δεν αποτελεί την μόνη αιτία αύξησης της τιμής του PSA, καθώς αυξημένο PSA μπορεί να υπάρξει και σε περιπτώσεις καλοήθους υπερπλασίας του προστάτη ή σε άλλες παθολογικές και μη καταστάσεις. Παρόλα αυτά, αυξημένα επίπεδα PSA (>4 ng/mL) στο πλάσμα αποτελούν ισχυρή ένδειξη. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Εταιρία Ιατρικής Ογκολογίας (ESMO), η εξέταση PSA είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε περιπτώσεις όπου υπάρχει οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του προστάτη και μάλιστα από την ηλικία των 40 ετών και άνω. Οι περισσότεροι υγιείς άντρες έχουν επίπεδα PSA <4 ng/mL στο αίμα, ωστόσο, εάν ένας άντρας έχει PSA κατώτερο των 4 ng/mL δε σημαίνει απαραίτητα ότι δεν έχει καρκίνο του προστάτη. Το οριακό εύρος τιμών του PSA, σύμφωνα με το American Cancer Society, είναι 4-10ng/mL και σε περίπτωση που το PSA είναι >10 ng/mL τότε υπάρχει πιθανότητα πάνω από 50% να εμφανίσει ένας άντρας καρκίνο προστάτη. Το κύριο μειονέκτημα αυτής της εξέτασης είναι το γεγονός ότι δεν μπορεί να διακρίνει τον καλοήθη από τον κακοήθη καρκίνο. Η διάγνωση του καρκίνου του προστάτη μπορεί να επιβεβαιωθεί μόνο μετά από βιοψία, καθώς αυξημένο PSA μπορεί να βρεθεί και σε υγιείς άντρες.

B.7.3 Διορθοτικό υπερηχογράφημα του προστάτη (transrectal ultrasound TRUS)

Το διορθικό υπερηχογράφημα του προστάτη αποτελεί μια τεχνική με αρκετά καλή απεικόνιση των ανατομικών στοιχείων του προστάτη αδένου. Χρησιμοποιείται για τον έλεγχο του μεγέθους και του σχήματος του προστάτη. Το TRUS από μόνο του δεν μπορεί να ανιχνεύσει τους όγκους, αλλά εάν χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με τη βιοψία, μπορεί να φανερώσει την ύπαρξη ή όχι καρκίνου του προστάτη [79].

B.7.4 Βιοψία του προστάτη

Κατά τη βιοψία λαμβάνονται με τη χρήση μιας βελόνας, πολλαπλά μικρά δείγματα ιστού και από τους δύο λοβούς του προστάτη και εξετάζονται παθολογοανατομικά. Η λήψη γίνεται υπό απεικονιστική καθοδήγηση με διορθικό υπέρηχο είτε από το ορθό, είτε από το περίνεο, είτε από την ουρήθρα. Η κλινική έκβαση της νόσου προσδιορίζεται με βάση το PSA, το κλινικό στάδιο του καρκίνου και τον βαθμό κακοήθειας της νόσου (Gleason score) και προκύπτει από την ιστολογική εξέταση της βιοψίας του προστάτη. Το Gleason score μαζί με το PSA αποτελούν τα βασικά εργαλεία για την πρόγνωση του καρκίνου του προστάτη [80].

B.8 Θεραπεία

Οι θεραπευτικές επιλογές επιλέγονται με βάση το προσδόκιμο ζωής του κάθε ασθενούς καθώς και την επιθετικότητα και τον βαθμό κακοήθειας του όγκου [81]. Η συστηματική παρακολούθηση συνιστάται σε άνδρες προχωρημένης ηλικίας που δεν έχουν συμπτώματα αλλά και σε όσους ο καρκίνος βρέθηκε τυχαία, κατά τη διάρκεια μιας εξέτασης. Στην περίπτωση αυτή, πρέπει να ελέγχεται κάθε 6 μήνες το PSA του ασθενούς και να γίνεται δακτυλική εξέταση, χωρίς να παρέχεται κάποια θεραπεία εκτός και αν υπάρξει υποτροπή [82, 83].

Η κύρια χειρουργική επέμβαση που χρησιμοποιείται είναι η ριζική προστατεκτομή για την αφαίρεση του προστάτη, του περιβάλλοντος ιστού και των σπερματικών κυστιδίων, όπου ταυτόχρονα μπορεί να γίνει και η αφαίρεση των γειτονικών λεμφαδένων. Ένας από τους κύριους τύπους ριζικής προστατεκτομής είναι η ανοιχτή, όπου η επέμβαση πραγματοποιείται αφού γίνει μια τομή στην περιοχή κάτω από την κοιλιακή χώρα και σπάνια στην περιοχή του περινέου. Άλλη κατηγορία είναι η ριζική λαπαροσκοπική προστατεκτομή, όπου για την χειρουργική επέμβαση χρειάζεται να γίνουν αρκετές μικρές τομές στο τοίχωμα της κοιλιάς και στη συνέχεια, από μία τομή εισάγεται το λαπαροσκόπιο που θα καθοδηγήσει τον γιατρό.

Η πυελική λεμφαδεκτομή είναι μια χειρουργική επέμβαση που γίνεται με σκοπό την αφαίρεση των λεμφαδένων στην περιοχή της λεκάνης. Η διουρηθρική εκτομή του προστάτη (TURP) γίνεται με την βοήθεια ενός ρεζεκτοσκοπίου, που εισάγεται μέσω της ουρήθρας για την αφαίρεση ιστού από τον προστάτη και συνήθως γίνεται για την ανακούφιση του ασθενούς από τα συμπτώματα. Το TURP μπορεί να γίνει επίσης σε άνδρες των οποίων ο όγκος βρίσκεται μόνο στον προστάτη και δεν μπορούν να προχωρήσουν σε ριζική προστατεκτομή.

Η ορμονική θεραπεία ελαττώνει και μπλοκάρει τη δράση των ορμονών εμποδίζοντας με αυτόν τον τρόπο τα καρκινικά κύτταρα. Χρησιμοποιείται σε περιστατικά μεταστατικού καρκίνου του προστάτη. Για την ορμονική θεραπεία χρησιμοποιούνται αγωνιστές της ορμόνης απελευθέρωσης της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LHRH), οι οποίοι μπορούν να σταματήσουν την παραγωγή τεστοστερόνης στους όρχεις, αλλά και αντιανδρογόνα τα οποία μπλοκάρουν τη δράση των ανδρογόνων.

Άλλες αποτελεσματικές θεραπείες είναι η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία. Στη χημειοθεραπεία γίνεται χρήση φαρμάκων ώστε να σταματήσει η ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, είτε σκοτώνοντας τα κύτταρα είτε σταματώντας τη διαίρεσή τους. Από την άλλη, η ακτινοθεραπεία είναι μια θεραπεία καρκίνου που με τη χρήση ακτινών υψηλής ενέργειας καταστρέφει τα καρκινικά κύτταρα. Η θεραπεία με ακτινοβολία εξωτερικής δέσμης είναι ο πιο κοινός τύπος θεραπείας ακτινοβολίας. Σύμφωνα με την Αμερικανική Ουρολογική Εταιρεία, η θεραπεία αυτή μπορεί να

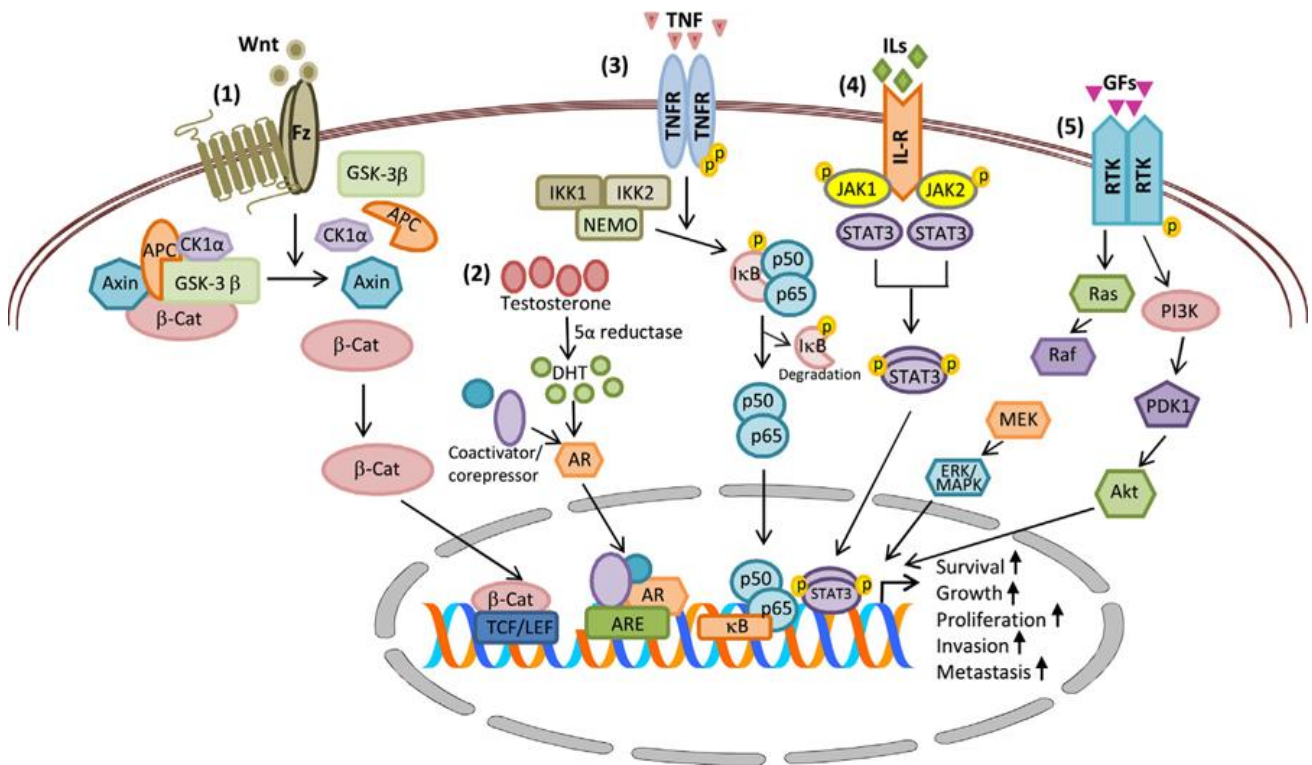
χρησιμοποιηθεί σε άτομα με καρκίνο του προστάτη σε πρώιμο στάδιο που δεν έχει εξαπλωθεί σε άλλα μέρη του σώματος.

Θεραπείες που βρίσκονται υπό μελέτη και φαίνεται να έχουν θετικά αποτελέσματα είναι οι εστιακές και στοχευμένες θεραπείες. Λιγότερο επεμβατικές θεραπείες που χρησιμοποιούνται κυρίως σε περιπτώσεις χαμηλού ή μεσαίου κινδύνου και καταστρέφουν τους μικρούς όγκους του προστάτη, χρησιμοποιώντας θερμότητα, ή ψύχος είναι οι εστιακές θεραπείες. Ένας τύπος εστιακής θεραπείας είναι η κρυοχειρουργική, στην οποία χρησιμοποιείται ένα όργανο που εισάγεται μέσω μιας μικρής τομής στην περιοχή μεταξύ του ορθού και του όσχεου, ώστε να παγώσει και να καταστρέψει τα καρκινικά κύτταρα στην περιοχή του προστάτη. Ο υπερηχογράφος υψηλής έντασης (HIFU) είναι ένας τύπος εστιακής θεραπείας με βάση τη θερμότητα, ο οποίος εγκρίθηκε το 2015 για τη θεραπεία του προστάτη. Στον HIFU εισάγεται στο ορθό ένας ανιχνευτής υπερήχων και στη συνέχεια μέσω ηχητικών κυμάτων κατευθύνεται προς τις καρκινικές εστίες του προστάτη ώστε να καταστρέψει τα καρκινικά κύτταρα. Η στοχευμένη θεραπεία στοχεύει σε συγκεκριμένα γονίδια, πρωτεΐνες ή στο περιβάλλον του όγκου, εμποδίζει την ανάπτυξη και εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων και περιορίζει τη βλάβη.

Γ. Σηματοδοτικά μονοπάτια και επιδιορθωτικοί μηχανισμοί που μετέχουν στον καρκίνο του προστάτη.

Γ.1 Σηματοδοτικά μονοπάτια

Υπάρχει μια πληθώρα σηματοδοτικών μονοπατιών που παίζουν σημαντικό ρόλο, τόσο στη λειτουργία του προστάτη όσο και στην ανάπτυξη καρκίνου του προστάτη. Σημαντικό ρόλο και στα δύο παίζει το σηματοδοτικό μονοπάτι του ανδρογονικού υποδοχέα (Androgen Receptor-AR), καθώς και άλλα ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μονοπάτια, όπως αυτά του παράγοντα NF-κB, το σηματοδοτικό μονοπάτι JAK/STAT, του υποδοχέα Κινάσης -Τυροσίνης, καθώς και το μονοπάτι Wnt /β-κατενίνης (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Κύρια σηματοδοτικά μονοπάτια που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου του προστάτη. (1) Σηματοδότηση Wnt/β-κατενίνη, (2) Σηματοδότηση Ανδρογονικού Υποδοχέα (AR), (3) Σηματοδότηση του παράγοντα NF-κΒ, (4) Σηματοδότηση JAK/STAT, (5) σηματοδότηση του υποδοχέα κινάσης τυροσίνης.

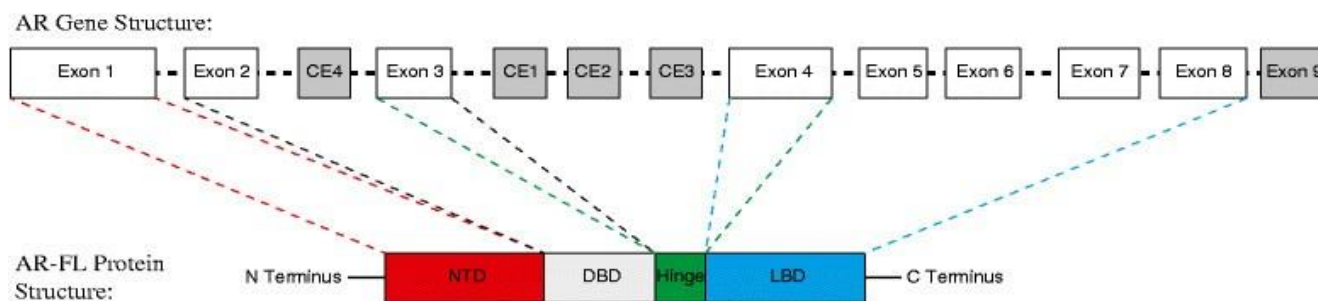
• Σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt / β-κατενίνης

Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/β-κατενίνης αποτελείται από γλυκοπρωτεΐνες που παίζουν καθοριστικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των κυττάρων, αλλά και τις επιθηλιακές-μεσεγχυματικές επικοινωνίες μεταξύ αυτών. Ο WNT σηματοδοτικός μηχανισμός βοηθά στη σταθεροποίηση και την πυρηνική μετατόπιση της πρωτεΐνης β-κατενίνης. Βάση αυτού, η σηματοδότηση Wnt διακρίνεται σε 2 κατηγορίες: την κανονική και τη μη κανονική Wnt σηματοδότηση. Η κανονική Wnt σηματοδότηση είναι εξαρτώμενη από την β-κατενίνη. Η μη κανονική Wnt σηματοδότηση είναι ανεξάρτητη της β-κατενίνης και έχει τη δυνατότητα να ακολουθήσει δυο διαδρομές την Wnt / Ca²⁺ και την επίπεδη κυτταρική πολικότητα (Planar Cell Polarity- PCP) [84]. Αυξημένη έκφραση της β-κατενίνης, αλλά και οι μεταλλαγμένες μορφές αυτής, φαίνεται να εμφανίζονται συχνά σε περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη. Από μελέτες προκύπτει σύνδεση της β-κατενίνης με τον ανδρογονικό υποδοχέα, γεγονός που οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης διαφόρων γονιδίων ανάπτυξης και κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Επίσης, έχει βρεθεί συσχέτιση της αυξημένης

έκφρασης των Wnt με υψηλότερη βαθμολογία κατά Gleason, αυξημένο PSA και μεταστάσεις σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη [85, 86].

- **Το μονοπάτι του Ανδρογονικού Υποδοχέα (AR)**

Ζωτικής σημασίας για τη φυσιολογική λειτουργία του προστάτη, αλλά και για την έναρξη και τη διατήρηση της σπερματογένεσης είναι η σηματοδότηση του Ανδρογονικού Υποδοχέα (Androgen Receptor –AR). Ο ανδρογονικός υποδοχέας είναι μια πρωτεΐνη 110-kDa. Το γονίδιο που την κωδικοποιεί εδράζεται στη χρωμοσωμική θέση Xq11-Xq12, αποτελείται από 920 αμινοξέα, ανήκει στην οικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων των στερεοειδών ορμονών και χωρίζεται σε τέσσερις διακριτές λειτουργικές περιοχές. Οι περιοχές αυτές είναι η N-τελική περιοχή [N-terminal domain (NTD)], η περιοχή πρόσδεσης DNA [DNA-binding domain (DBD)], η περιοχή άρθρωσης [hinge region] και τέλος η περιοχή σύνδεσης με τον συνδέτη [ligand-binding domain (LBD)] [87]. Το υπεύθυνο γονίδιο αποτελείται από 8 εξόνια, τα οποία κωδικοποιούν τις λειτουργικές περιοχές NTD, DBD, την περιοχή άρθρωσης και την LBD περιοχή (Εικόνα 15). Η N-τελική περιοχή κωδικοποιείται από το εξόνιο 1. Τα εξόνια 2 και 3 κωδικοποιούν την περιοχή δέσμευσης DNA, ενώ τα εξόνια 4-8 κωδικοποιούν την περιοχή της άρθρωσης και την περιοχή σύνδεσης με τον συνδέτη [88, 89].



Εικόνα 15. Οι 4 διακριτές λειτουργικές περιοχές του Ανδρογονικού Υποδοχέα στην χρωμοσωμική θέση Xq11-Xq12. Διακρίνονται τα 8 εξόνια, και οι 4 λειτουργικές περιοχές (NTD, DBD, την περιοχή άρθρωσης και την LBD περιοχή) που κωδικοποιούν [90]

Η τεστοστερόνη, η οποία παράγεται κυρίως από τους όρχεις, αλλά και από τα επινεφρίδια σε μικρότερη ποσότητα, αποτελεί τον κύριο εκπρόσωπο των ανδρογόνων. Με τη βοήθεια του ενζύμου του κυτοχρώματος P450, την 5α-αναγωγή, η τεστοστερόνη μετατρέπεται σε διυδροτεστοστερόνη (DHT). Η ειδικότητα του ανδρογονικού υποδοχέα είναι μεγαλύτερη για την διυδροτεστοστερόνη,

παρ' όλα αυτά, υπό φυσιολογικές συνθήκες, έχει την ικανότητα να συνδέεται τόσο με την τεστοστερόνη όσο και με την διυδροτεστοστερόνη.

Στον καρκίνο του προστάτη η απορυθμισμένη σηματοδότηση του ανδρογονικού υποδοχέα είναι συχνό φαινόμενο. Στα αρχικά στάδια του καρκίνου οι μεταλλάξεις στον ανδρογονικό υποδοχέα είναι ιδιαίτερα σπάνιες. Αντιθέτως, σε προχωρημένο στάδιο δρουν περισσότερα από 200 μόρια και αυξητικοί παράγοντες, όπως ο αυξητικός παράγοντας ομοιάζων στην ινσουλίνη-1 [Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)], ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β [transforming growth factor β (TGF-β)], ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών [fibroblast growth factor (FGF)], οι ιντερλευκίνες, οι κυτοκίνες, καθώς και οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες [bone morphogenetic proteins (BMPs)] [91].

- **Σηματοδοτικό μονοπάτι του παράγοντα NF-kB**

Το μονοπάτι αυτό περιέχει πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων που εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων, αλλά και στην ανάπτυξη των λεμφικών οργάνων [92]. Πρόσφατες μελέτες ανέδειξαν σύνδεση μεταξύ των σηματοδοτικών μονοπατιών NF-kB και AR. Σε περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη ο NF-kB στοχεύει στα ρυθμιστικά στοιχεία μεταγραφής του PSA, προκαλεί υπερέκφραση αυτού, ενώ παράλληλα διεγείρεται λόγω αυξημένων επιπέδων υποδοχέων του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF). Ο TNF-α είναι μια προφλεγμονώδης κυτοκίνη που επάγει την δράση του NF-kB [93].

- **Σηματοδοτικό μονοπάτι JAK/STAT (Janus Kinase/signal transducers and activators of transcription)**

Το σηματοδοτικό μονοπάτι JAK/STAT ξεκινά από τους υποδοχείς των κυτοκινών και καταλήγει μέσω ενδιάμεσων μορίων στον πυρήνα των κυττάρων. Όταν υπάρξει κάποιο ερέθισμα, συνήθως από κυτοκίνες ή αυξητικούς παράγοντες, μεταδίδονται σήματα που προάγουν τη φυσιολογική ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την ομοίωση των κυττάρων, αλλά και την απόπτωση. Η διάδοση του σήματος πραγματοποιείται μέσω φωσφορυλίωσης του υποδοχέα με τις JAK κινάσες τυροσίνης (JAK1, JAK2, JAK3 και Tyk2) [94]. Οι ενεργοποιημένες JAK κινάσες επάγουν τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών STAT. Αυτές με τη σειρά τους φθάνουν στον πυρήνα του κυττάρου, συνδέονται σε συγκεκριμένες αλληλουχίες στο DNA και ρυθμίζουν τη διεγερση ή την καταστολή της μεταγραφής των γονιδίων στόχων [95]. Η αναστολή της λειτουργίας του σηματοδοτικού μονοπατιού JAK/STAT3 καταστέλλει την ανάπτυξη των προστατικών καρκινικών κυττάρων και οδηγεί σε

προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Η ενεργοποίηση του STAT3 σε κύτταρα καρκίνου του προστάτη διεγείρει γονίδια που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο, την αγγειογένεση, την εισβολή του όγκου και την απόπτωση [96].

- **Σηματοδοτικό μονοπάτι του υποδοχέα κινάσης τυροσίνης**

Το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT (κινάσης της φωσφοϊνοσιτόλης-3/ πρωτεϊνική κινάση Β) αποτελεί ένα σύνθετο πλέγμα ενδοκυτταρικής σηματοδότησης, το οποίο ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη, τον κυτταρικό μεταβολισμό, την επιβίωση και την αγγειογένεση. Οι αυξητικοί παράγοντες διεγείρουν μόρια, όπως το PI3K και το ογκογόνο RAS, και αυτά με τη σειρά τους διεγείρουν τη δράση της ειδικής σερίνης/θρεονίνης πρωτεϊνικής κινάσης AKT μέσω φωσφορυλίωσης [97]. Η ενεργοποίηση της κινάσης της φωσφοϊνοσιτόλης-3 (PI3K), επιτυγχάνεται συνήθως μέσω απώλειας αντιγράφων του καταστολέα PTEN. Η ολική απώλεια του PTEN σχετίζεται με τον μεταστατικό καρκίνο του προστάτη. Η ενεργοποίηση της PI3K οδού στον καρκίνο του προστάτη σχετίζεται με την αντίσταση στη θεραπεία στέρησης ανδρογόνων και την εξέλιξη της νόσου [98-100].

Γ.2 Μηχανισμοί Επιδιόρθωσης

Οι ζωντανοί οργανισμοί είναι εκτεθειμένοι σε αμέτρητους παράγοντες που προκαλούν βλάβες στο DNA. Για τον λόγο αυτό υπάρχουν ισχυροί επιδιορθωτικοί μηχανισμοί του DNA [101]. Οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί αποτελούν ένα καλά οργανωμένο σύστημα άμυνας που σκοπό έχει την διατήρηση της γενωμικής σταθερότητας και ακεραιότητας στα κύτταρα και την προστασία από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Στην αποκατάσταση των βλαβών του DNA συμμετέχουν διάφορα γονίδια επιδιόρθωσης και ένζυμα μέσω των οποίων αποκόπτονται και αντικαθίστανται οι κατεστραμμένες περιοχές του DNA.

Οι κύριοι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί είναι η επιδιόρθωση λανθασμένων ζευγών βάσεων (Mismatch Repair-MMR), η επιδιόρθωση με εκτομή βάσεων (Base Excision Repair-BER), η επιδιόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίων (Nucleotide Excision Repair-NER) και η επιδιόρθωση δίκλωνων ρηγμάτων στο δίκλωνο DNA (DNA Double Strand Break repair –DSBR) [102]. Ο MMR επιδιορθωτικός μηχανισμός διορθώνει λάθη της αντιγραφής του DNA, τα οποία οδηγούν στην εισαγωγή συνήθως μίας λανθασμένης βάσης, η οποία δεν έχει υποστεί αλλοιώσεις. Τα στάδια του σηματοδοτικού αυτού μονοπατιού είναι τα εξής: αναγνώριση της βλάβης, διάκριση του θυγατρικού DNA κλώνου, αφαίρεση της βλάβης και επανασύνθεση του DNA.

Ο επιδιορθωτικός μηχανισμός BER επιδιορθώνει λάθη μίας μόνο βάσης νουκλεοτιδίου και θραύσεις της μίας αλυσίδας του DNA. Ο επιδιορθωτικός μηχανισμός εκτομής νουκλεοτιδίων (NER), επιδιορθώνει βλάβες που εκτείνονται σε δύο ή περισσότερα νουκλεοτίδια, αλλά και την προσθήκη μεγάλου όγκου μορίων. Ο επιδιορθωτικός μηχανισμός δίκλωνων ρηγμάτων στο DNA (DSB) ανιχνεύει τις βλάβες, οι οποίες αναστέλλουν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου μέχρι να αποκατασταθεί η βλάβη ή οδηγεί τα κύτταρα σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Ανάλογα με την περιοχή της βλάβης υπάρχουν δυο τρόποι επιδιόρθωσης των δίκλωνων ρηγμάτων, ο ένας είναι με ομόλογο ανασυνδυασμό (Homologous Recombination) και ο άλλος με μη ομόλογη σύνδεση των άκρων (Non Homologous End- Joining).

Γ.2.1 Επιδιορθωτικό μονοπάτι NER

Η επιδιόρθωση της βλάβης με εκτομή νουκλεοτιδίων (NER) είναι η κύρια οδός που χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση των διμερών πυριμιδινών και των εκτενών δομικών βλαβών του DNA, όπως αυτές που σχηματίζονται από περιβαλλοντικά μεταλλαξογόνα και την υπερϊώδη ακτινοβολία. Το μονοπάτι NER επιδιορθώνει τον κατεστραμμένο κλώνο με την αποκοπή περίπου 24-32 νουκλεοτιδίων DNA. Ο μηχανισμός επιδιόρθωσης ξεκινά με την αναγνώριση της βλάβης, το ξεδίπλωμα της διπλής έλικας, τη διάκριση του θυγατρικού κλώνου του DNA, την οριοθέτηση της βλάβης, την εκτομή και τέλος τη σύνθεση του DNA στο σημείο όπου έχει δημιουργηθεί κενό [103].

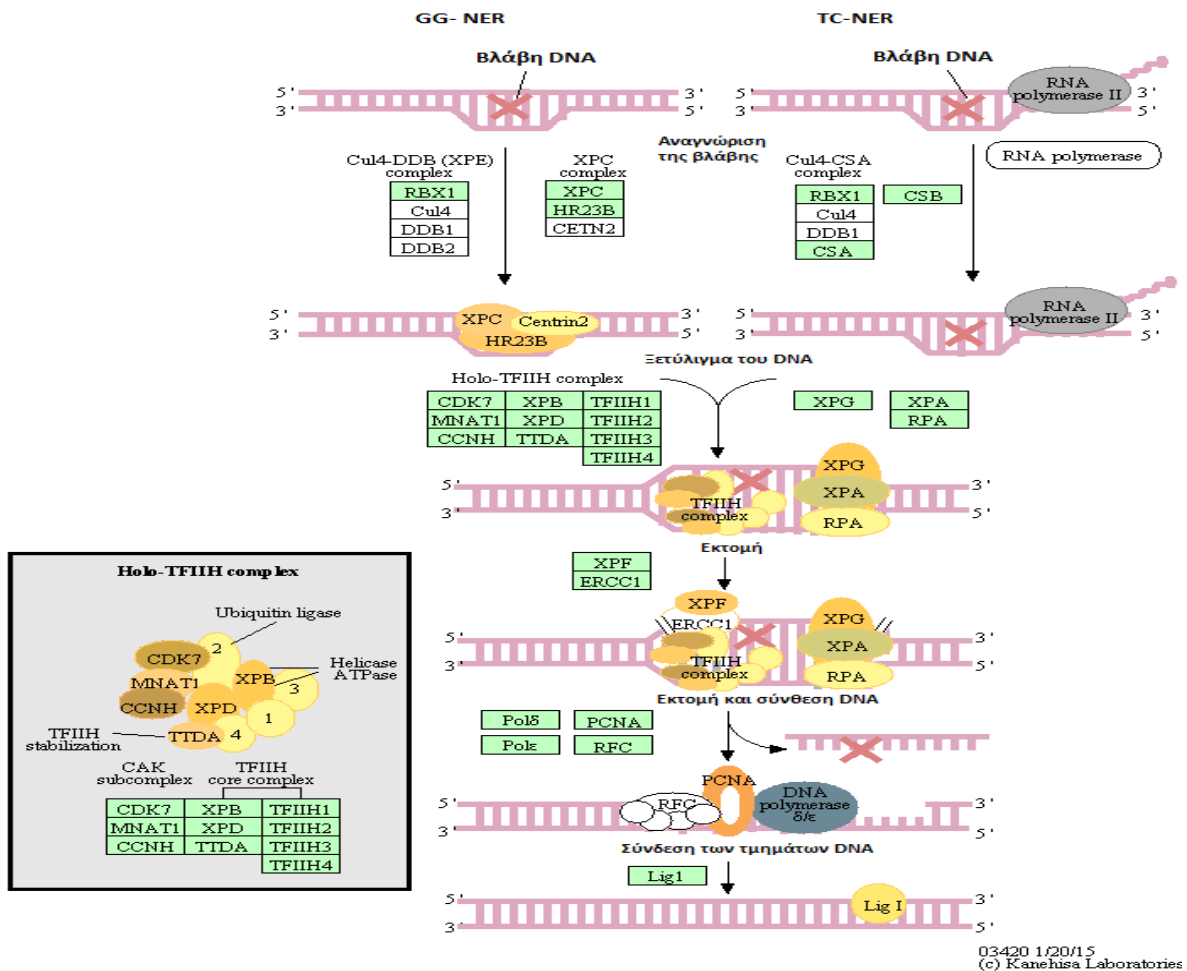
Στον μηχανισμό NER συμμετέχουν περίπου 30 πρωτεΐνες οι οποίες παίζουν καθοριστικό ρόλο σε ένα ή περισσότερα βήματα του μονοπατιού NER. Υπάρχουν δύο υποκατηγορίες μονοπατιών επιδιόρθωσης (Εικόνα 16), οι οποίοι διαφέρουν μόνο στις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στο στάδιο αναγνώρισης της βλάβης. Η πρώτη οδός είναι το συνδεδεμένο με τη μετάφραση μονοπάτι εκτομής νουκλεοτιδίου (Transcription Coupled – TC-NER), το οποίο διορθώνει τις βλάβες που εμποδίζουν την RNA πολυμεράση II και επιδιορθώνει τα γονίδια που εκφράζονται. Το δεύτερο μονοπάτι είναι αυτό του καθολικού γονιδιώματος (Global Genome – GG-NER), μέσω του οποίου εντοπίζονται τα σιωπηλά γονίδια και οι τοπικές βλάβες σε περιοχές του γονιδιώματος που δεν εκφράζονται (ετεροχρωματίνη).

Οι πρωτεΐνες XPA-G (Xeroderma Pigmentosum groups A–G) παίζουν καθοριστικό ρόλο στο επιδιορθωτικό μονοπάτι NER. Συγκεκριμένα το Xeroderma pigmentosum group C (XPC) παίζει βασικό ρόλο στο GG-NER και είναι λειτουργικό ως ετερο-τριμερές, όταν δηλαδή συνδέεται με την πρωτεΐνη RAD23B και την Centrin 2. Το XPC εμπλέκεται στην πρόιμη αναγνώριση λαθών του DNA, ενεργοποιώντας το μονοπάτι NER. Οι λειτουργικές περιοχές δέσμευσης DNA της XPC αλληλοεπιδρούν με την HR23B για να σχηματίσουν ένα σύμπλοκο που αναγνωρίζει και συνδέεται με

τις θέσεις βλάβης του DNA. Το γονίδιο XPC εδράζεται στο χρωμόσωμα 3 στην τοποθεσία 25, έχει 16 εξόνια και 15 ιντρόνια και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 940 αμινοξέων [104-106].

Τα γονίδια XPD και XPA θα επιβεβαιώσουν την ύπαρξη της βλάβης. Αφού γίνει αναγνώριση και επιβεβαίωση της βλάβης, η XPA προσδένεται στον κλώνο του DNA που έχει υποστεί τη βλάβη. Ο TFIIH μεταγραφικός παράγοντας βοηθά στο άνοιγμα της έλικας του DNA γύρω από την περιοχή. Ο παράγοντας αυτός αποτελείται από 10 υπομονάδες, που περιέχουν δύο DNA ελικάσες, την XPB και την XPD. Στη συνέχεια γίνεται εκτομή της βλάβης με την βοήθεια των XPG και ERCC1-XPF που τοποθετούνται στα 5' και 3' άκρα. Μετά την εκτομή, ο κλώνος που δεν περιέχει τη βλάβη χρησιμοποιείται ως καλούπι για τη δημιουργία μιας νέας συμπληρωματικής αλυσίδας. Η πρωτεΐνη PCNA συνδέεται στο κενό που έχει δημιουργηθεί και με την βοήθεια των πολυμερασών δ και ε επανασυντίθεται το DNA. Η σύνδεση των νέων τμημάτων του DNA με τα γειτονικά νουκλεοτίδια γίνεται μέσω της λιγάσης [107].

Στο επιδιορθωτικό μονοπάτι TC-NER αναγνωρίζονται εκτεταμένες βλάβες του DNA που εμποδίζουν τη δράση της RNA πολυμεράσης II και τη μεταγραφή με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο. Η πρωτεΐνη CSB αναγνωρίζει τη βλάβη και προσδένεται στην RNA πολυμεράση II. Σημαντική φαίνεται να είναι και η δράση της CSA πρωτεΐνης, η οποία βοηθάει στη δημιουργία ενός συμπλόκου ενεργοποίησης των υπολοίπων παραγόντων που συμβάλλουν στην επιδιόρθωση. Τα υπόλοιπα βήματα είναι κοινά με αυτά του GG-NER μονοπατιού.



Εικόνα 16. Επιδιόρθωση με Εκτομή Νουκλεοτιδίου (Nucleotide Excision Repair-NER). Το μονοπάτι GG-NER βρίσκεται αριστερά και το μονοπάτι TC-NER στα δεξιά.

Γ.2.2 Επιδιορθωτικό μονοπάτι DSBR (DNA Double Strand Break repair –DSBR)

Η θραύση του δίκλωνου DNA αποτελεί μια κυτταροτοξική βλάβη που αν δεν επιδιορθωθεί μπορεί να επιφέρει γενωμική αστάθεια και κυτταρικό θάνατο [108]. Για τη διατήρηση της γενωμικής ακεραιότητας ενεργοποιούνται δυο επιδιορθωτικά μονοπάτια: ο ομόλογος ανασυνδυασμός (Homologous Recombination, HR), ο οποίος εμφανίζεται κυρίως στις φάσεις S και G2 του κυτταρικού κύκλου και η μη ομόλογη σύνδεση των άκρων (Non Homologous End-Joining-NHEJ), η οποία συμβαίνει στις φάσεις G0, G1 του κυτταρικού κύκλου.

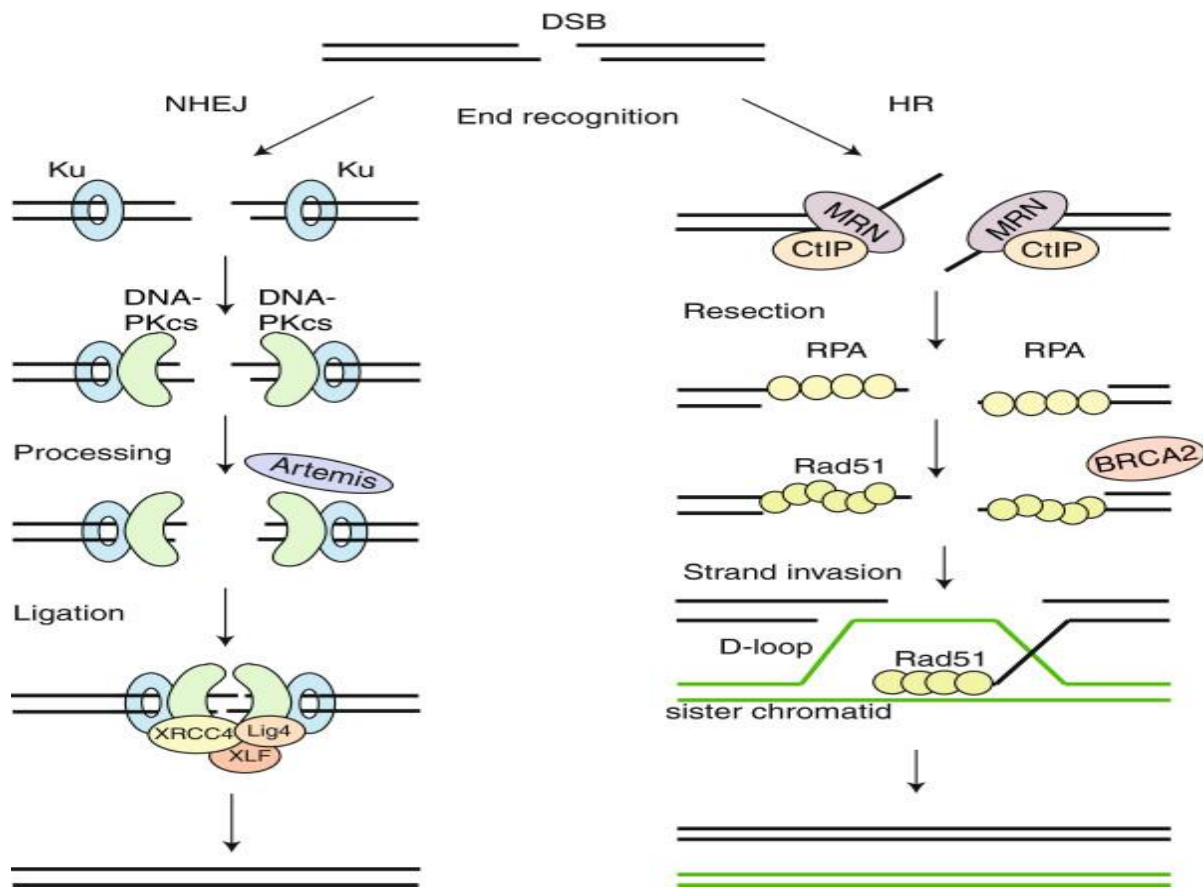
Η μη ομόλογη σύνδεση των άκρων (NHEJ) ξενικά με την δέσμευση του ετεροδιμερούς Ku70-Ku80 (XRCC6-XRCC5) στα άκρα του διπλού θραύσματος του DNA [109]. Η δέσμευση θα προσελκύσει στην περιοχή της βλάβης την καταλυτική υπομονάδα της DNA-εξαρτώμενης

πρωτεϊνικής κινάσης (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit -DNA-PKcs). Στην συνέχεια η ενεργοποιημένη DNA PKcs, προσελκύει στο σημείο και άλλα ένζυμα στην διαδικασία επιδιόρθωσης και σταθεροποιεί τα άκρα του διπλού θραύσματος. Σε περίπτωση που υπάρχουν άκρα τα οποία προεξέχουν, τότε δρα η ενδονουκλεάση Artemis, η οποία είναι επίσης υπεύθυνη και για τη σύνθεση της συμπληρωματικής αλληλουχίας [110]. Στη συνέχεια δημιουργείται ένα σύμπλοκο που θα ενώσει τα δυο άκρα των πρωτεϊνών XRCC4, XLF (XRCC4 like factor) και την DNA λιγάση IV (LIG4) [111].

Ο ομόλογος ανασυνδυασμός (HR) θεωρείται πιο ακριβής αλλά και πιο περίπλοκος μηχανισμός από τη μη ομόλογη σύνδεση άκρων. Στον HR μηχανισμό μετά τη θραύση που έχει υποστεί το DNA, τα άκρα του δεν μπορούν να επανασυγκολληθούν χωρίς επεξεργασία, επομένως, παραμένουν προεξοχές με προσανατολισμό 5'→3' ssDNA. Αρχικά στο σημείο της βλάβης προσδένεται το σύμπλοκο MRN το οποίο αποτελείται από τα MRE11, RAD50 και NBS1 και ενεργοποιεί την πρωτεΐνη ATM. Στο MRN σύμπλοκο προσδένεται η νουκλεάση CtIP και αλληλεπιδρούν με το γονίδιο BRAC1 ώστε να δημιουργηθούν μονόκλινα μόρια DNA [112].

Στη συνέχεια, η πρωτεΐνη RPA θα επικαλύψει αρχικά τα μονόκλινα τμήματα του DNA, ενώ στη συνέχεια, με την βοήθεια του γονιδίου BRAC2, η πρωτεΐνη RPA αντικαθίσταται από το σύμπλοκο της Rad51 (Rad51B, Rad51C, Rad51D, XRCC2, XRCC3), του οποίου τα νήματα εισβάλλουν στο κλώνο του DNA και σχηματίζεται μια θηλιά D (D-loop) [113]. Στην συνέχεια ο μηχανισμός μπορεί να ακολουθήσει διαφορετικές πορείες. Μία πιθανή πορεία είναι να αντιγραφεί όλο το DNA που χρησιμοποιήθηκε σαν καλούπι καθώς ο κλώνος εισχωρεί στο δίκλινο μόριο DNA, ώστε να δημιουργηθεί μια διχάλα αντιγραφής. Μια άλλη περίπτωση είναι να σταματήσει η νέα σύνθεση του DNA αφού πραγματοποιηθεί μιας μικρής έκτασης σύνθεση και το ένζυμο RTEL1 να διαλύσει τη θηλιά D. Τελικά προκύπτουν προϊόντα χωρίς επιχiasμό (non crossover).

Μια τελευταία περίπτωση είναι η δημιουργία διπλών διακλαδώσεων (double Holiday junction), όπου μπορεί να δεσμευτεί και το δεύτερο άκρο του DNA στην περιοχή του ρήγματος και να αρχίσει η σύνθεση του DNA. Τα τελικά προϊόντα σε αυτήν την περίπτωση είναι προϊόντα επιχiasμού (crossover) με τη βοήθεια είτε της τοποϊσομεράσης III, είτε της GEN1 ενδονουκλεάσης [114, 115].



Εικόνα 16. Μη Ομόλογη Σύνδεση των άκρων (Non Homologous End-Joining-NHEJ) αριστερά και Ομόλογος Ανασυνδυασμός (Homologous Recombination HR) δεξιά.

Γ.3 Επιδιορθωτικά μονοπάτια και καρκινογένεση

Η ανεπαρκής επιδιόρθωση του DNA μπορεί να οδηγήσει σε συσσώρευση βλαβών και μεταλλάξεων σε γονίδια, αναδιατάξεις χρωμοσωμάτων και γενωμική αστάθεια. Σε περίπτωση που υπάρξει κάποιος πολυμορφισμός σε γονίδια που συμμετέχουν σε μία επιδιορθωτική οδό μπορεί να προκληθεί ακόμη και καρκινογένεση.

Ως καρκίνος ορίζεται η ανεξέλεγκτη κακοήθης ανάπτυξη και κυτταρική διαίρεση, ενώ ως καρκινικά ορίζονται τα κύτταρα που δεν υπακούουν στην απόπτωση και έχουν μεγαλύτερο ρυθμό πολλαπλασιασμού από τα φυσιολογικά [116].

Ως πολυμορφισμός, σύμφωνα με το National Cancer Institute ορίζεται μια αλλαγή σε μια συγκεκριμένη περιοχή ενός γονιδίου και μπορεί να προκληθεί από την προσθήκη, έλλειψη ή αντικατάσταση ενός νουκλεοτιδίου. Οι πολυμορφισμοί σε επίπεδο ενός νουκλεοτιδίου (Single Nucleotide Polymorphisms-SNPs) είναι ένας από τους πιο συνηθισμένους τύπους γενετικών παραλλαγών στο ανθρώπινο γονιδίωμα. Στο γονιδίωμα υπάρχουν τουλάχιστον 10 εκατομμύρια SNPs κάθε 100-300 ζεύγη βάσεων περίπου με συχνότητα αλληλόμορφων μεγαλύτερη από 1% [117].

Μεταξύ των SNPs, οι μετατροπές A→G ή C→T, εμφανίζονται πιο συχνά από τις μετατροπές A→C ή T) και G→C ή T [118]. Οι πολυμορφισμοί SNP μπορεί να υπάρξουν σε διάφορες θέσεις του γονιδίου. Τα SNPs στην περιοχή του υποκινητή μεταβάλλουν τη δραστηριότητά του, επηρεάζουν την έκφραση του γονιδίου, τη διαδικασία πρόσδεσης του μεταγραφικού παράγοντα, αλλά και τη μεθυλίωση του DNA.

Πολυμορφισμοί σε γονίδια επιδιόρθωσης ενδέχεται να οδηγήσουν σε περιορισμένη ή ελαττωματική λειτουργία των επιδιορθωτικών ενζύμων, με αποτέλεσμα λανθασμένη ή μη αποτελεσματική επιδιόρθωση. Το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει σε συσσώρευση μεταλλάξεων και γενωμική αστάθεια, αυξάνοντας τον κίνδυνο για καρκινογένεση. Πλήθος μελετών σχετίζει την παρουσία απλών μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) σε γονίδια των επιδιορθωτικών μηχανισμών με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη [119].

Γ.3.1 Πολυμορφισμοί στα γονίδια του NER και καρκίνος του προστάτη

Το επιδιορθωτικό μονοπάτι εκτομής νουκλεοτιδίων είναι ένας από τους κυριότερους αμυντικούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης έναντι στους μεταλλαξογόνους παράγοντες, όπως είναι η υπεριώδη ακτινοβολία. Μεταλλάξεις στο GG-NER έχουν σχετιστεί με προδιάθεση για καρκίνο, ενώ μεταλλάξεις στο TC-NER σχετίζονται με διάφορες άλλα νοσήματα, όπως το σύνδρομο Cockayne [120]. Η XPC είναι μία από τις κύριες πρωτεΐνες της οδού, που εμπλέκονται στα πρώτα βήματα αναγνώρισης των βλαβών του DNA. Το γονίδιο XPC εδράζεται στο χρωμόσωμα 3p25.1, έχει 16 εξώνια και 15 ιντρόνια και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 940 αμινοξέων [121]. Με βάση τις λειτουργίες του στο επιδιορθωτικό μονοπάτι NER, το XPC παίζει σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση πιθανών καρκινογόνων βλαβών [122].

Πολλές μελέτες αναφέρουν την ύπαρξη μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών σε γονίδια επιδιόρθωσης DNA, όπως το γονίδιο XPC- Xeroderma Pigmentosum Complementation group C- που οδηγούν σε μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης, αδρανοποίηση της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53, γενωμική αστάθεια και μεγαλύτερη ευαισθησία για εμφάνιση καρκίνου του προστάτη [123, 124]. Ορισμένοι πολυμορφισμοί σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, ενώ σε άλλες περιπτώσεις έχουν προστατευτική δράση. Οι καλύτερα μελετημένοι πολυμορφισμοί του XPC γονιδίου είναι οι XPC Lys939Gln και XPC poly (AT) [125]. Ο XPC Lys939Gln (rs2228001) είναι ένας πολυμορφισμός A>C, που οδηγεί στην αμινοξική αντικατάσταση της λυσίνης από το γλουταμινικό στη θέση 939 [126]. Τα ευρήματα διαφόρων μελετών παρουσιάζουν αποκλίσεις, καθώς άλλες μελέτες υποστηρίζουν συσχέτιση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη κι άλλες όχι. Σε μια πρόσφατη μελέτη στον Ασιατικό πληθυσμό

ο πολυμορφισμός αυτός φαίνεται να σχετίζεται με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη [127].

Ο XPC-Poly (AT) (XPC-PAT +/-) είναι ένας πολυμορφισμός ένθεσης/διαγραφής 83 βάσεων A,T και διαγραφής 5 βάσεων (GTAAC) στο ιντρόνιο 9 στις θέσεις 1457-1461 [128, 129]. Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι ο μεταλλαγμένος γονότυπος (PAT +/-) σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για καρκίνο του προστάτη σε πληθυσμούς όπως οι Καυκάσιοι, οι Αμερικανοί, οι Κινέζοι, οι Ιάπωνες, οι Ινδοί και οι Ιρανοί [130]. Στον Ιρανικό πληθυσμό ο πολυμορφισμός XPC-PAT φάνηκε να έχει προστατευτικό ρόλο [131]. Σε μια πρόσφατη μελέτη στον πληθυσμό της Τυνησίας φάνηκε ότι η συνδυασμένη ανάλυση των πολυμορφισμών XPC Lys939Gln και XPC-PAT έδειξε ότι οι ασθενείς που κληρονόμησαν τους γονότυπους (Lys/Gln και PAT +/+) ήταν προστατευμένοι από τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη [132].

Το γονίδιο Xeroderma pigmentosum group D (XPD) γνωστό και ως Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency Group 2 (ERCC2) παίζει καθοριστικό ρόλο στο επιδιορθωτικό μονοπάτι NER. Εδράζεται στο χρωμόσωμα 19q13.3 και περιέχει 23 εξόνια. Η φυσιολογική λειτουργία του XPD είναι να ξετυλίγει την έλικα και να κόβει τα κατεστραμμένα θραύσματα του DNA. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο XPD αποτρέπουν την φυσιολογική αυτή λειτουργία και σχετίζονται με μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης [133].

Δύο από τους πιο μελετημένους πολυμορφισμούς του XPD γονιδίου είναι οι πολυμορφισμοί rs1799793 στο εξόνιο 10 και rs13181 στο εξόνιο 23. Στον πρώτο πολυμορφισμό έχουμε αντικατάσταση του Ασπαρτικού αμινοξέος (Asp) στη θέση 312 της πολυπεπτιδικής αλυσίδας από την Ασπαραγίνη (Asn) (Asp312Asn), λόγω της νουκλεοτιδικής αλλαγής G>A. Στον δεύτερο πολυμορφισμό έχουμε αντικατάσταση, στη θέση 751 της πολυπεπτιδικής αλυσίδας του αμινοξέος Λυσίνη από το Γλουταμινικό (Lys751Gln) λόγω της νουκλεοτιδικής αλλαγής A>C.

Ο πολυμορφισμός XPD Lys751Gln έχει φανεί να σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού ειδικά σε γυναίκες που βρίσκονται στην προεμμηνόπαυσιακή περίοδο [134]. Σε μια μετα- ανάλυση που έγινε σχετικά και με τους δυο αυτούς πολυμορφισμούς και τη σχέση τους με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη μελετήθηκαν ασθενείς με καρκίνο προστάτη διαφορετικών εθνικοτήτων (Καυκάσιοι, Ασιάτες, Αφρικανοί). Από την ανάλυση προέκυψε ότι οι Ασιάτες που φέρουν τον πολυμορφισμό XPD Asp312Asn έχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Στη συγκεκριμένη μελέτη αλλά και σε μερικές άλλες δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ του κινδύνου εμφάνισης της νόσου και του πολυμορφισμού XPD Lys751Gln [135, 136]. Οι πολυμορφισμοί στα εξόνια 10 και 23 του XPD γονιδίου, φαίνονται να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, κυρίως σε Αφρικανούς και Ασιάτες. Ωστόσο, η ύπαρξη αντικρουόμενων ευρημάτων συνιστά την ανάγκη για περαιτέρω μελέτες [137, 138].

Γ.3.2 Πολυμορφισμοί στα γονίδια του DSBR και καρκίνος του προστάτη

Το γονίδιο XRCC3 (X-ray repair cross complementing 3) παίζει σημαντικό ρόλο στο επιδιορθωτικό μονοπάτι ομόλογου ανασυνδυασμού των δίκλωνων θραυσμάτων του DNA. Εδράζεται στο χρωμόσωμα 14q32.3 και περιέχει 10 εξόνια. Είναι συμπαραγοντας της πρωτεΐνης Rad51, μαζί με τα XRCC2, RAD51B, RAD51C και RAD51D και όλα μαζί διασφαλίζουν την σωστή τοποθέτηση της RAD51 κατά την διάρκεια της επιδιόρθωσης [139]. Η RAD51 είναι η πρωτεΐνη που μεταφέρεται στην περιοχή που υπάρχει η βλάβη του DNA και δημιουργεί ένα νουκλεοπρωτεϊνικό πλέγμα στα μονόκλινα τμήματα του DNA στα οποία έχει προσδεθεί προηγουμένως η RPA πρωτεΐνη. Μεταλλάξεις στο γονίδιο XRCC3 προκαλούν σοβαρή γενωμική αστάθεια [140].

Ο πολυμορφισμός rs1799796 (A17893G) στο ιντρόνιο 5 του γονιδίου XRCC3 φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Στον Πολωνικό πληθυσμό υπήρξε συσχέτιση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού, της ηλικίας άνω των 71 και του Gleason score >7 σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη [141]. Στη συγκεκριμένη μελέτη φάνηκε ότι η παρουσία του πολυμορφικού G αλληλόμορφου αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, όπως επίσης και η παρουσία του γονότυπου GG.

Ο πολυμορφισμός rs861539 στο εξόνιο 7 του γονιδίου XRCC3 (C18067T) είναι ένας από τους πιο μελετημένους πολυμορφισμούς, που σχετίζεται με διάφορες μορφές καρκίνου [142]. Μελέτες στον Ασιατικό πληθυσμό έδειξαν τη συσχέτιση του συγκεκριμένου πολυμορφισμού με τον κίνδυνο εμφάνισης λευχαιμίας [143]. Πρόκειται για μία νουκλεοτιδική αντικατάσταση C>T που προκαλεί την αντικατάσταση του αμινοξέος Θρεονίνης (Thr) σε Μεθειονίνη (Met) [Thr241Met]. Και εδώ, υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα ως προς τον πιθανό ρόλο του εν λόγω πολυμορφισμού στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Σε μια μετα-ανάλυση που έγινε μεταξύ διαφορετικών εθνοτήτων βρέθηκε ότι ο πολυμορφισμός αυτός σχετίζεται με τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, με εξαίρεση τους Καυκάσιους στους οποίους φαίνεται να ασκεί προστατευτική δράση [144]. Σε μια άλλη μετα-ανάλυση στον Πολωνικό πληθυσμό, δεν βρέθηκε συσχέτιση των συγκεκριμένων πολυμορφισμών με την ευαισθησία έναντι του συγκεκριμένου καρκίνου [145].

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η μελέτη πολυμορφισμών σε γονίδια των μηχανισμών επιδιόρθωσης NER και DSBR και συγκεκριμένα στα γονίδια XPC, XRCC3 και XPD (εξώνια 10, 23) τόσο σε υγιή άτομα, όσο και σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Σκοπός μας είναι να εξετάσουμε τη συχνότητα εμφάνισής τους στον ελληνικό πληθυσμό, αλλά και τον πιθανό τους ρόλο ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Προηγούμενες μελέτες αναφέρουν τη συσχέτιση συγκεκριμένων πολυμορφισμών σε γονίδια των επιδιορθωτικών μονοπατιών με την καρκινογένεση. Πολλές μελέτες παραθέτουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, κυρίως λόγω της μεγάλης γεωγραφικής ετερογένειας και των διαφορών στον τρόπο ζωής κάθε λαού. Η παρουσία πολυμορφισμών σε γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα επιδιόρθωσης ενδέχεται να επηρεάσει τη δράση τους. Η μειωμένη επιδιορθωτική ικανότητα σημαίνει συσσώρευση βλαβών και μεταλλάξεων και κατ' επέκταση γενωμική αστάθεια, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο για καρκινογένεση.

Δ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Δ.1 Υπό μελέτη πληθυσμός

Στη μελέτη μας συμπεριλάβαμε 39 ασθενείς με καρκίνο προστάτη, οι οποίοι προσήλθαν στην Ουρολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Ως ομάδα ελέγχου (control group) χρησιμοποιήσαμε 49 υγιή ενήλικα άτομα. Συλλέξαμε περιφερικό αίμα από το σύνολο των ατόμων (ασθενείς – υγιή άτομα). Παράλληλα έγινε συλλογή κλινικοεργαστηριακών στοιχείων σχετικά με το στάδιο της νόσου και το βαθμό κακοηθείας, τον αριθμό και τη διάμετρο του όγκου, καθώς και την πιθανή υποτροπή, με την έγγραφη συγκατάθεση των ατόμων και διασφαλίζοντας την ανωνυμία των συμμετεχόντων.

Δ.2. Απομόνωση γενωμικού DNA από περιφερικό αίμα (NucleoSpin® Blood)

Η απομόνωση του γενωμικού DNA έγινε από περιφερικό αίμα και πραγματοποιήθηκε με το εμπορικό kit της εταιρείας Macherey-Nagel. Η μέθοδος της απομόνωσης βασίζεται στη χρήση στηλών/μεμβρανών από πηκτή σιλικόνης, που έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τα νουκλεϊκά οξέα.

Δ.2.1 Πειραματική διαδικασία:

1. Λύση δειγμάτων αίματος

- Σε σωληνάριο μικροφυγοκέντρησης του 1.5 mL προσθέτουμε 25 μL πρωτεΐνάσης K, 200 μL διαλύματος λύσης/πρόσδεσης (B3) και 200 μL δείγμα αίματος.
- Καλή ανάδευση των υλικών (vortex) και σύντομη φυγοκέντρηση
- 15 λεπτά επώαση σε θερμομαντική πλάκα στους 70°C

2. Προσαρμογή των συνθηκών δέσμευσης του DNA

- Προσθέτουμε 210 μL απόλυτης αιθανόλης (96–100%)
- Καλή ανάδευση των υλικών (vortex) και σύντομη φυγοκέντρηση

3. Δέσμευση του DNA

- Τοποθέτηση 600–650 μl δείγματος στην στήλη
- Φυγοκέντρηση στις 18.000 στροφές (rpm) για 2 λεπτά
- Μεταφορά της στήλης σε νέο σωληνάριο συλλογής

4. Πλύσεις

1η πλύση

- Προσθήκη 500 μL πρώτου διαλύματος πλύσης (BW) στην στήλη
- Φυγοκέντρηση στις 18.000 στροφές (rpm) για 1 λεπτό
- Μεταφορά της στήλης σε νέο σωληνάριο συλλογής

2η πλύση

- Προθήκη 600 μL δεύτερου διαλύματος πλύσης (B5) στην στήλη
- Φυγοκέντρηση στις 18.000 στροφές (RPM) για 1 λεπτό
- Μεταφορά της στήλης σε νέο σωληνάριο συλλογής

5. Dry silica membrane

- Φυγοκέντρηση για 2 λεπτά στις 18.000 στροφές για την απομάκρυνση της υπολειπόμενης αιθανόλης
- Απόρριψη του σωληναρίου συλλογής και τοποθέτηση της στήλης σε σωληνάριο τύπου Eppendorf

6. Έκλυση

- Προσθήκη 100 μL διαλύματος Έκλυσης (Elution Buffer) στη στήλη, το οποίο έχει προθερμανθεί στους 70°C
- Επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
- Φυγοκέντρηση στις 18.000 στροφές (rpm) για 2 λεπτά
- Επανατοποθέτηση του δείγματος στην στήλη
- Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά
- Φυγοκέντρηση στις 18.000 στροφές (rpm) για 2 λεπτά
- Αποθήκευση του δείγματος στους 4°C μέχρι τη χρήση του

Δ.3. Ποσοτικός προσδιορισμός γενωμικού DNA - Φωτομέτρηση

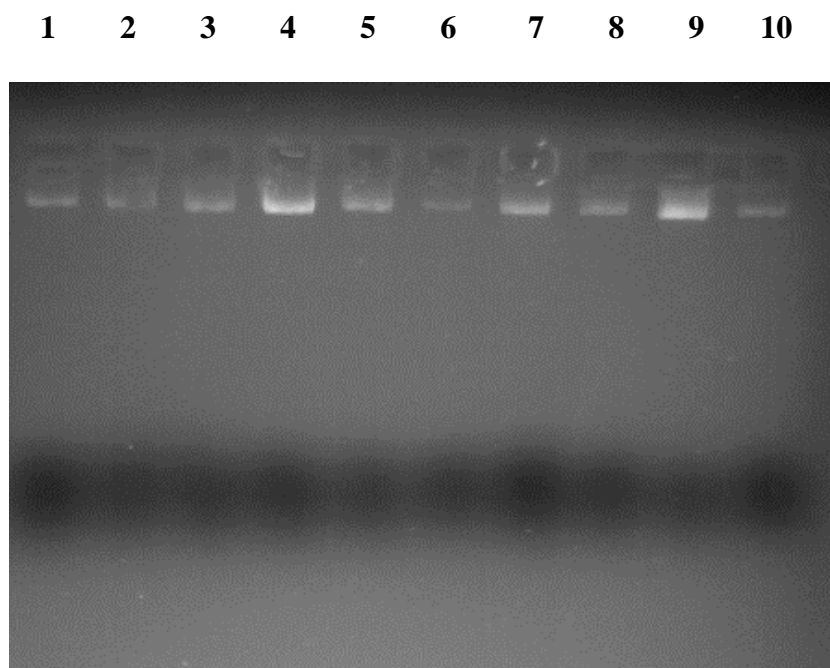
Το γενωμικό DNA των δειγμάτων φωτομετρήθηκε προκειμένου να εκτιμήσουμε τη συγκέντρωση και να αξιολογήσουμε την καθαρότητα τους. Η απαιτούμενη ποσότητα δείγματος που χρειάζεται να φωτομετρήσουμε είναι 1-2 μl και πρέπει να μετρήσουμε την απορρόφηση του ίδιου δείγματος στα 260nm και στα 280nm. Η καθαρότητα ενός δείγματος εκτιμάται από το λόγο $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$, ο οποίος

πρέπει να είναι περίπου 1.8-2, ώστε θεωρείται ένα υψηλής καθαρότητας DNA. Τιμές <1.7 υποδηλώνουν προσμίξεις πρωτεϊνών ή φαινόλης, ενώ τιμές >2 υποδηλώνουν πρόσμιξη με άλλα μακρομόρια.

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του δίκλωνου DNA χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος με βάση τον νόμο του Lambert-Beer: $C_{\text{double stranded DNA}}(\mu\text{g/ml}) = OD_{260\text{nm}} \times 50 \times \text{συντελεστής αραίωσης}$, όπου C= συγκέντρωση

Δ.4. Ποιοτικός προσδιορισμός του γενωμικού DNA με ηλεκτροφόρηση.

Η ηλεκτροφόρηση των DNA δειγμάτων έγινε σε πήκτωμα αγαρόζης 2% προκειμένου να ελέγξουμε την ακεραιότητα τους. Στην ηλεκτροφόρηση τα αρνητικά φορτισμένα μόρια DNA κινούνται προς τον θετικό πόλο της ηλεκτροφόρησης. Στην συνέχεια, η αξιολόγηση γίνεται με τοποθέτηση του πηκτώματος αγαρόζης υπό υπεριώδες φως (UV).



Εικόνα 17. Ηλεκτροφόρηση δειγμάτων γενωμικού DNA σε πήκτωμα αγαρόζης 2%.

Δ.5 Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης

Κατά την διάρκεια των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν πηκτώματα αγαρόζης διαφορετικής σύστασης. Για τον ποιοτικό προσδιορισμό του γενωμικού DNA παρασκευάσαμε πήκτωμα αγαρόζης

2%, για τον έλεγχο της επιτυχούς ενίσχυσης των PCR προϊόντων φτιάξαμε πήκτωμα αγαρόζης 3% και για την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων πέψης παρασκευάσαμε πήκτωμα αγαρόζης 4%.

Για την παρασκευή του πηκτώματος ζυγίζουμε σε ζυγό ακριβείας την απαραίτητη ποσότητα αγαρόζης και την προσθέτουμε σε συγκεκριμένη ποσότητα TBE ρυθμιστικού διαλύματος 1X (TRIS-BORIC-EDTA). Για το εκμαγείο που χρησιμοποιήσαμε, για την κατασκευή πηκτώματος αγαρόζης σύστασης 2% χρησιμοποιήσαμε 300ml TBE, και 6 γραμμάρια αγαρόζης. Για το πήκτωμα αγαρόζης σύστασης 3% χρησιμοποιήσαμε 300ml TBE, και 9 γραμμάρια αγαρόζης, ενώ για την παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης σύστασης 4% χρησιμοποιήσαμε 300ml TBE και 12 γραμμάρια αγαρόζης. Στη συνέχεια θερμαίνουμε το μίγμα σε φούρνο μικροκυμάτων μέχρι να διαλυθεί πλήρως η αγαρόζη και να γίνει διαυγές το διάλυμα. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 20ml βρωμιούχου αιθιδίου το οποίο έχει την ιδιότητα να εισέρχεται μεταξύ των βάσεων του DNA και παρουσία υπεριώδους φωτός UV φθορίζει. Τέλος το διάλυμα χύνεται στο εκμαγείο και να αφήνεται να πολυμεριστεί σε θερμοκρασία δωματίου. Μόλις πήξει, συλλέγεται προσεκτικά, τυλίγεται και αποθηκεύεται στο ψυγείο μέχρι να χρησιμοποιηθεί.

Δ.6 Επιλεκτική ενίσχυση συγκεκριμένων τμημάτων με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης

Η Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) είναι μια μέθοδος που βασίζεται στη χρήση της ικανότητας της DNA πολυμεράσης να συνθέτει νέο κλώνο DNA συμπληρωματικό προς τον υπάρχον κλώνο. Επειδή η DNA πολυμεράση μπορεί να προσθέσει ένα νουκλεοτίδιο μόνο σε μια προϋπάρχουσα περιοχή 3'-OH, χρειάζεται έναν εκκινητή στον οποίο μπορεί να προσθέσει το πρώτο νουκλεοτίδιο και έτσι να οριοθετηθεί μια συγκεκριμένη περιοχή που πρέπει να ενισχυθεί.

Στα πλαίσια αυτής της εργασίας, μελετήθηκαν πολυμορφισμοί των γονιδίων XRCC3, XPC, XPD23 και XPD10. Οι PCR αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε θερμικό κυκλοποιητή τύπου Eppendorf.

Ο συνολικός τελικός όγκος δείγματος είναι 50μl, ενώ η ποσότητα DNA που χρησιμοποιήσαμε από κάθε δείγμα ήταν 8-10μl. Χρησιμοποιείται ειδικό για την PCR σωληνάριο χωρητικότητας 0.2 μl στο οποίο προστέθηκε αρχικά το γενωμικό DNA. Έπειτα προετοιμάζεται ένα μείγμα αντιδραστηρίων από το οποίο παίρνουμε συγκεκριμένη ποσότητα για να το αναμειξουμε με το DNA. Σε κάθε PCR χρησιμοποιείται και ένας αρνητικός μάρτυρας, ο οποίος περιέχει δις απεσταγμένο νερό αντί DNA για τον έλεγχο τυχόν επιμολύνσεων. Το μίγμα της αντίδρασης PCR περιέχει διω απεσταγμένο νερό, ρυθμιστικό διάλυμα, MgCl₂, τριφωσφορικά δεοξυνουκλεοτίδια [(dNTPs- dATP, dCTP, dGTP,

dTTP)], εκκινητές, DNA δείγμα και το ένζυμο της πολυμεράσης. Τα πρωτόκολλα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ανά αντίδραση παρατίθενται στη συνέχεια.

Η PCR για την ενίσχυση των τμημάτων των υπό εξέταση γονιδίων περιλαμβάνει 3 στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την Αρχική Αποδιάταξη, η οποία περιλαμβάνει έναν κύκλο διάρκειας 5 λεπτών στους 94°C. Στο στάδιο αυτό αποδιατάσσεται η διπλή έλικα του DNA και δημιουργούνται μονόκλωνες έλικες, οι οποίες αποτελούν εκμαγείο για την σύνθεση των νέων αλυσίδων DNA. Στη ακολουθούν 35 κύκλοι επαναλαμβανόμενων σταδίων που περιλαμβάνουν: αποδιάταξη στους 90°C για 1 λεπτό, υβριδοποίηση των εκκινητών για 1 λεπτό στους 64°C, όπου τα ολιγονουκλεοτίδια θα υβριδιστούν με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες στα μονόκλιωνα μόρια του DNA και τέλος την επιμήκυνση που γίνεται στους 72°C για 1 λεπτό. Το τελευταίο στάδιο περιλαμβάνει την τελική επιμήκυνση των δίκλωνων τμημάτων και διαρκεί 10 λεπτά στους 72°C.

Πίνακας 2. Αλληλουχίες εκκινητών (Eurofins Genomics) για την ενίσχυση τμημάτων των γονιδίων XRCC3, XPC, XPD10, XPD23

Εκκινητές	Αλληλουχίες εκκινητών 5'→3'
XRCC3-F πρόσθιος	GCC TGG TGG TCA TCG ACT C
XRCC3-F ανάστροφος	GAG GGC TCT GGA AGG CAC TGC TCA GCT CAC GCA CC
XPC-F πρόσθιος	TAG CAC CCA CGA GTC AAA
XPC-R ανάστροφος	TGT GAA TGT GCT TAA TGT TG
XPD23-F πρόσθιος	GCC CGC TCT GGA TTA TAC G
XPRD23-R ανάστροφος	CTA TCA TCT CCT GGG CCC C
XPD10-F πρόσθιος	TGG CCC CTG TCT GAC TTG TCC C
XPD10-R ανάστροφος	GAC GGG GAG GCG GGA AAG GGA CT

Πίνακας 3. Μείγμα αντίδρασης για την ενίσχυση τμήματος του XRCC3 γονιδίου με τη χρήση της FIREPol DNA πολυμεράσης (Solis BioDyne)

Μείγμα αντίδρασης	Ποσότητα ανά δείγμα (μl)
-------------------	--------------------------

10X ρυθμιστικό διάλυμα B	5
25mM MgCl ₂	5
dNTPs (40 mM)	3
XRCC3F εκκινητής (10 pm/μl)	3
XRCC3 R εκκινητής (10 pm/μl)	3
FIREPol DNA πολυμεράση (5 u/μl)	0,5
ddH ₂ O	Μέχρι τα 45 (ανάλογα με την ποσότητα του προστιθέμενου DNA)

Πίνακας 4. Μείγμα αντίδρασης για την ενίσχυση τμήματος του XPC γονιδίου με τη χρήση της BESTaq DNA πολυμεράσης (ABM)

Μείγμα αντίδρασης	Ποσότητα ανά δείγμα (μl)
10X ρυθμιστικό διάλυμα B	5
25mM MgCl ₂	3
dNTPs (40 mM)	3
XPCF εκκινητής (10 pm/μl)	3
XPCR εκκινητής (10 pm/μl)	3
Bestaq DNA πολυμεράση (5 u/μl)	0,5
ddH ₂ O	Μέχρι τα 45 (ανάλογα με το DNA που χρησιμοποιήθηκε)

Πίνακας 5. Μείγμα αντίδρασης για την ενίσχυση τμήματος του εξωνίου 23 του XPD γονιδίου με τη χρήση της KAPA Taq DNA πολυμεράσης (KAPABIOSYSTEMS)

Μείγμα αντίδρασης	Ποσότητα ανά δείγμα (μl)
10X ρυθμιστικό διάλυμα B	5
25mM MgCl ₂	4
dNTPs (40 mM)	3
XPD23F εκκινητής (10 pm/μl)	2
XPD23R εκκινητής (10 pm/μl)	3
Kapa Taq Polymerase (5 u/μl)	0,4
ddH ₂ O	Μέχρι τα 45 (ανάλογα με το DNA που χρησιμοποιήθηκε)

Πίνακας 6. Μείγμα αντίδρασης για την ενίσχυση τμήματος του εξωνίου 10 του XPD γονιδίου με τη χρήση της Taq DNA πολυμεράσης (Invitrogen)

Μείγμα αντίδρασης	Ποσότητα ανά δείγμα (μl)
10X ρυθμιστικό διάλυμα B	5
50 mM MgCl ₂	1.25
dNTPs (40 mM)	4
XPD10F εκκινητής (10 pm/μl)	4
XPD10R εκκινητής (10 pm/μl)	3
Taq DNA πολυμεράση (5 u/μl)	0.5
ddH ₂ O	Μέχρι τα 45 (ανάλογα με το DNA που χρησιμοποιήθηκε)

Δ.7 . Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων

Μετά το τέλος της PCR πραγματοποιούμε ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης σύστασης 3%. Ετοιμάζουμε το διάλυμα φόρτωσης, το οποίο περιέχει 10μl PCR προϊόντος και 7μl μιας ειδικής χρωστικής, η οποία περιέχει γλυκερόλη και μπλε της βρωμοφαινόλης. Η γλυκερόλη θα βοηθήσει στην καθίζηση του δείγματος και στην κράτησή του στο πηγαδάκι φόρτωσης, ενώ το μπλε της βρωμοφαινόλης καθιστά ορατή την ηλεκτροφόρηση. Σε κάθε ηλεκτροφόρηση ηλεκτροφορείται παράλληλα με τα δείγματα μάρτυρας γνωστού μοριακού βάρους - εδώ χρησιμοποιήθηκε μάρτυρας 100bp της εταιρείας Invitrogen (Life Sciences) - που επιτρέπει τον σαφή προσδιορισμό του μεγέθους των PCR προϊόντων. Στο τέλος της ηλεκτροφόρησης το πήκτωμα τοποθετείται υπό υπεριώδες φως και η εικόνα αποθηκεύεται σε υπολογιστή, ο οποίος είναι συνδεδεμένος με τη συσκευή υπεριώδους ακτινοβολίας.

Δ.8 Πέψεις με περιοριστικά ένζυμα

Τα PCR προϊόντα, υποβάλλονται σε πέψεις με κατάλληλα περιοριστικά ένζυμα για κάθε πολυμορφισμό. Για τον πολυμορφισμό XPC-PAT (polyAT) δεν χρησιμοποιήθηκε κάποιο περιοριστικό ένζυμο, καθώς η ένθεση/απαλοιφή των νουκλεοτιδίων είναι διακριτή με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης.

Για τον πολυμορφισμό rs861539 του γονιδίου *XRCC3* χρησιμοποιήθηκε το περιοριστικό ένζυμο NcoI HF της εταιρίας New England Biolabs που αναγνωρίζει και τέμνει την ακόλουθη αλληλουχία αναγνώρισης στο δίκλωνο DNA:

5'...C⁺CATG G...3'

3'...G GTAC⁺C...5'

Ο συνολικός όγκος της αντίδρασης είναι 50 μl, αποτελούμενος από 10 μl προϊόντος PCR και 40 μl μείγματος αντιδραστηρίων. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν για την πέψη απεικονίζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 7).

Πίνακας 7. Πρωτόκολλο πέψης με το περιοριστικό ένζυμο NcoI για τον πολυμορφισμό rs861539 του γονιδίου XRCC3

Μείγμα αντίδρασης	Ποσότητα ανά δείγμα (μl)
Cut Smart ρυθμιστικό διάλυμα	5
Ένζυμο NcoI (20 u/μl)	0.75
ddH ₂ O	34.25

Για τον πολυμορφισμό rs13181 στο γονίδιο *XPB23* χρησιμοποιήθηκε το περιοριστικό ένζυμο PstI της εταιρίας New England Biolabs που αναγνωρίζει και τέμνει την στο δίκλωνο DNA την αλληλουχία αναγνώρισης:

5'...CTGCA⁺G...3'

3'...G⁺ACGTC...5'

Ο συνολικός όγκος της αντίδρασης είναι 30 μl, αποτελούμενος από 15 μl προϊόντος PCR και 15 μl μείγματος αντιδραστηρίων. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Πρωτόκολλο πέψης με το περιοριστικό ένζυμο PstI για τον πολυμορφισμό rs13181 στο εξόνιο 23 του γονιδίου XPD

Μείγμα αντίδρασης	Ποσότητα ανά δείγμα (μl)
NF ρυθμιστικό διάλυμα	3
Ένζυμο PstI (20 u/μl)	0.75

ddH ₂ O	11.25
--------------------	-------

Για τον πολυμορφισμό rs1799793 του γονιδίου *XPDI0* χρησιμοποιήθηκε το περιοριστικό ένζυμο *StyI* της εταιρίας New England Biolabs που αναγνωρίζει και τέμνει την ακόλουθη αλληλουχία αναγνώρισης στο δίκλωνο μόριο DNA:

5'...G⁺CWWGG...3'

3'...GGWWC⁺C...5'

Ο συνολικός όγκος της αντίδρασης είναι 30μl, αποτελούμενος από 15 μl προϊόντος PCR και 15μl μείγματος αντιδραστηρίων. Οι ποσότητες των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 9).

Πίνακας 9. Πρωτόκολλο πέψης με το περιοριστικό ένζυμο *StyI* για τον πολυμορφισμό rs1799793 στο εξόνιο 10 του γονιδίου *XPDI*

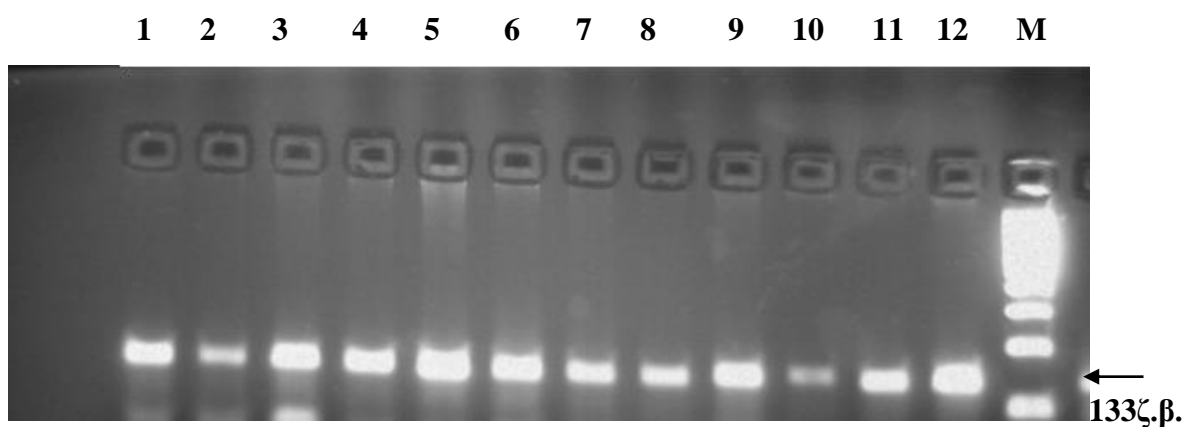
Μείγμα αντίδρασης	Ποσότητα ανά δείγμα (μl)
Cut Smart ρυθμιστικό διάλυμα	3
Ένζυμο <i>StyI</i> (20 u/μl)	1.5
ddH ₂ O	10.5

Οι αντιδράσεις των πέψεων επωάστηκαν για 16-19 ώρες στους 37°C σε υδατόλουτρο, ώστε να επιτευχθεί η πλήρης πέψη των προϊόντων της PCR. Τα προϊόντα των πέψεων ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 4%, σύσταση στην οποία είναι δυνατή η διάκριση ακόμη και μικρών τμημάτων DNA.

Ε. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήσαμε τους πολυμορφισμούς polyAT στο γονίδιο XPC, rs861539 στο γονίδιο XRCC3 και rs1799793, rs13181 στο γονίδιο XPD σε 39 ασθενείς με καρκίνο προστάτη και 49 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Για τον σκοπό αυτό συλλέξαμε περιφερικό αίμα και απομονώσαμε γενωμικό DNA. Στη συνέχεια, με τη χρήση κατάλληλων εκκινητών ενισχύθηκαν επιλεκτικά οι περιοχές που περιέχουν τους υπό εξέταση πολυμορφισμούς. Τα προϊόντα της PCR αντίδρασης ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης, ώστε να ελεγχθεί ότι ενισχύθηκε η σωστή γενετική περιοχή. Στην ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε ο μάρτυρας γνωστού μοριακού βάρους 100 ζ.β. της εταιρείας Invitrogen (Life Sciences). Στη συνέχεια παρατίθενται εικόνες από τις ηλεκτροφορήσεις των PCR προϊόντων.

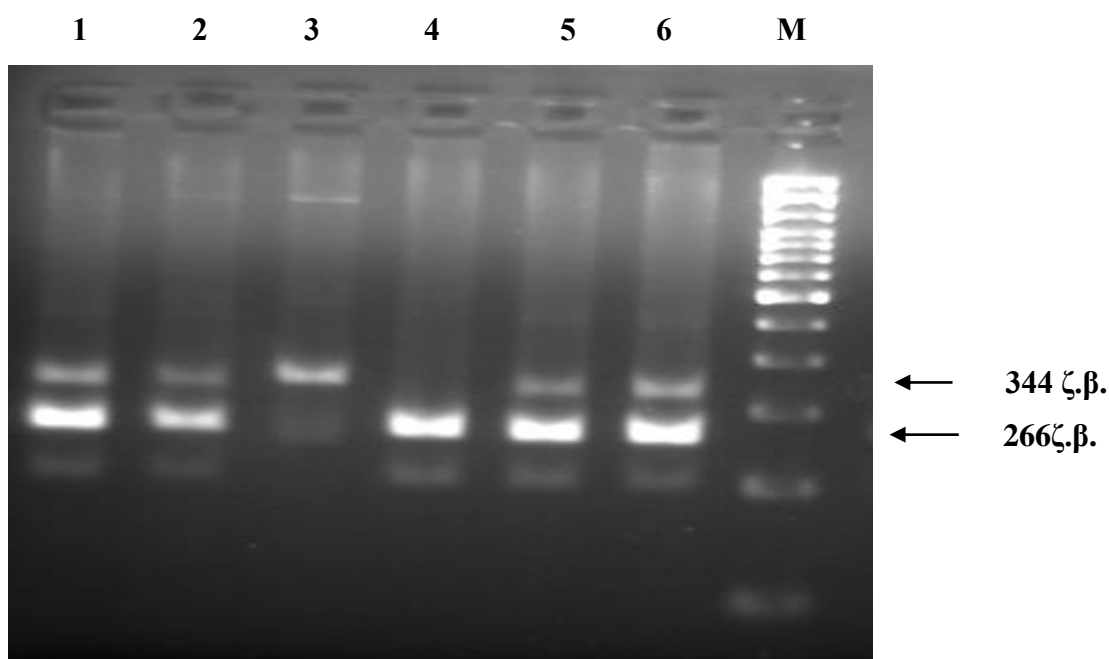
Το προϊόν PCR για τον πολυμορφισμό του γονιδίου XRCC3 έχει μέγεθος 133 ζ.β (Εικόνα 18). Το προϊόν PCR για τον πολυμορφισμό του γονιδίου XPC (polyAT) έχει μέγεθος 260/344 ζ.β. Για τον πολυμορφισμό του XPD γονιδίου (εξώνιο 10) το μέγεθος του PCR προϊόντος είναι 250 ζ.β. (Εικόνα 20) και για τον πολυμορφισμό του ίδιου γονιδίου στο εξώνιο 23 το μέγεθος του PCR προϊόντος είναι 436 ζ.β. (Εικόνα 21).



Εικόνα 18. Ηλεκτροφόρηση PCR προϊόντων μεγέθους 133 ζ.β., του πολυμορφισμού rs961539 του XRCC3 γονιδίου σε πηκτή αγαρόζη 3%. M: μάρτυρας 100 ζ.β. (Life Sciences).

Για τον πολυμορφισμό του γονιδίου XPC δεν χρησιμοποιήθηκε περιοριστικό ένζυμο, καθώς η ένθεση είναι αρκετά μεγάλη ώστε να διακρίνεται στην ηλεκτροφόρηση του PCR προϊόντος (Εικόνα 19).

- 1 ζώνη των 260 ζ.β για τον ομόζυγο γονότυπο (-/-)
- 2 ζώνες των 260ζ.β+ 344 ζ.β για τον ετερόζυγο γονότυπο (-/+)
- 1 ζώνη των 344 ζ.β για τον πολυμορφικό γονότυπο (+/+)

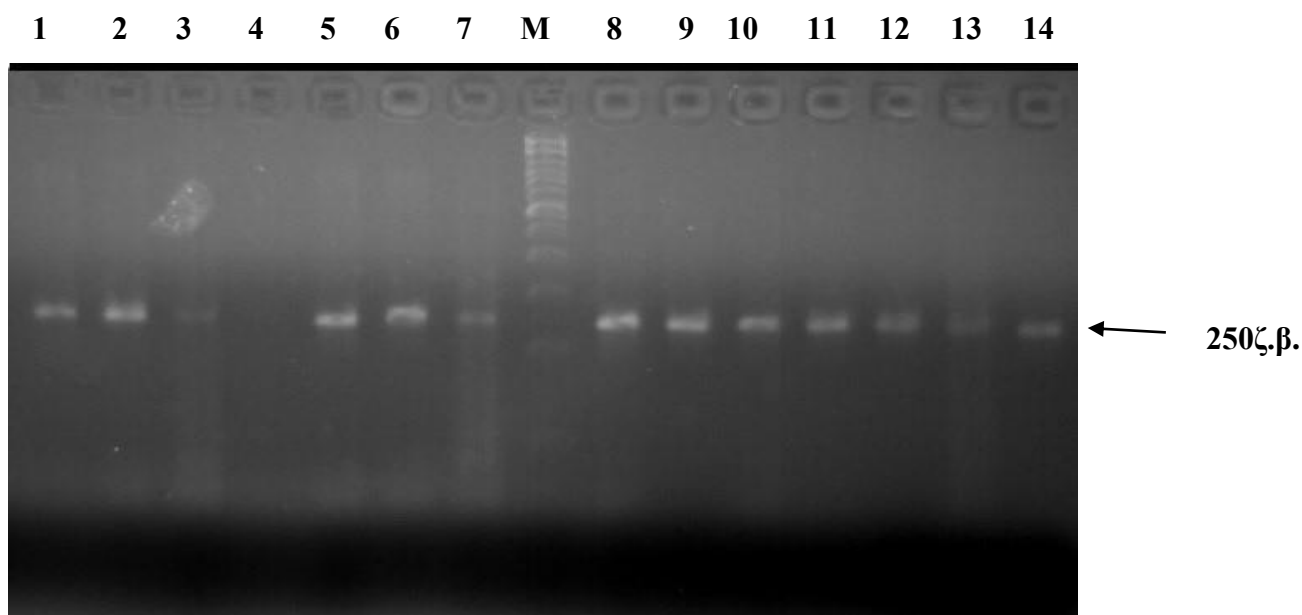


Εικόνα 19. Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων του πολυμορφισμού XPC PAT μεγέθους 266/344 ζευγών βάσεων σε πήκτωμα αγαρόζη 3%. M: μάρτυρας 100 ζ.β. (Life Sciences).

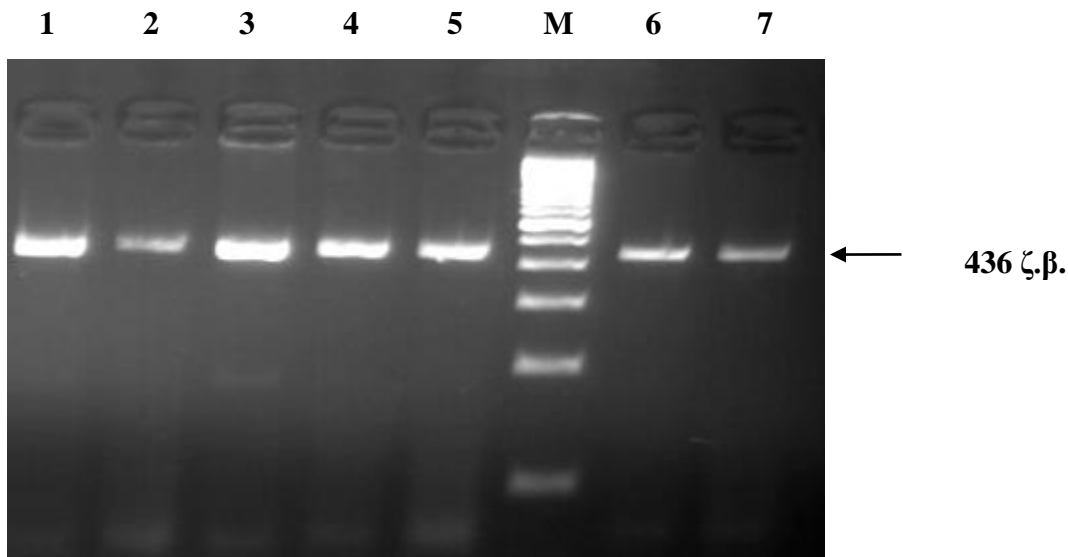
Ομόζυγος γονότυπος : 4 (-/-)

Ετερόζυγος γονότυπος: 1, 2, 5, 6 (+/-)

Πολυμορφικός γονότυπος: 3 (+/+)



Εικόνα 20. Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων του XPD10 γονιδίου, μεγέθους 250 ζ.β., σε πήκτωμα αγαρόζης 3%. M: μάρτυρας 100 ζ.β. (Life Sciences).

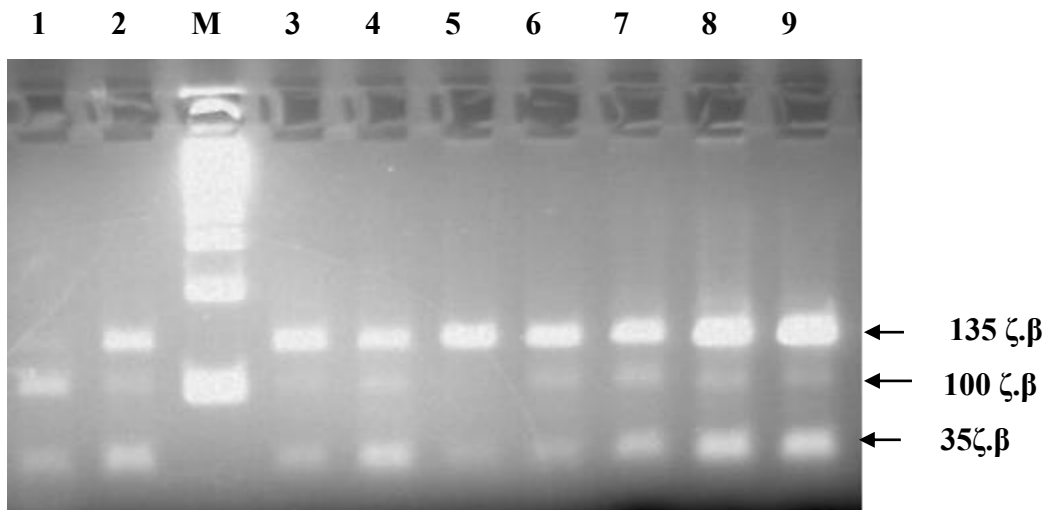


Εικόνα 21. Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων του XPD23 γονιδίου, μεγέθους 436 ζ.β., σε πήκτωμα αγαρόζης 3%. M: μάρτυρας 100 ζ.β. (Life Sciences).

Ο έλεγχος των γονοτύπων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση κατάλληλων περιοριστικών ενζύμων για τους πολυμορφισμούς με εξαίρεση, όπως προαναφέρθηκε τον XPC PAT πολυμορφισμό. Μετά το πέρας της επώασης τα προϊόντα των πέψεων ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 4% επιτρέποντας τον προσδιορισμό των μικρών τμημάτων που προκύπτουν λόγω της πέψης.

Η πέψη με το περιοριστικό ένζυμο NcoI, για τον πολυμορφισμό rs861539 του γονιδίου XRCC3 αναμένεται να παρουσιάσει τα ακόλουθα πρότυπα ζωνών (Εικόνα 22):

- 1 ζώνη των 135 ζ.β για τον ομόζυγο γονότυπο
- 3 ζώνες 135ζ.β +100 ζ.β +35 ζ.β η καθεμία για τον ετερόζυγο γονότυπο
- 2 ζώνες 100 ζ.β + 35 ζ.β η καθεμία για τον πολυμορφικό γονότυπο



Εικόνα 22. Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων πέψης με το ένζυμο NcoI για τον πολυμορφισμό rs861539 του γονιδίου XRC3 σε πήκτωμα αγαρόζης 4%. M: μάρτυρας 100 ζ.β. (Life Sciences).

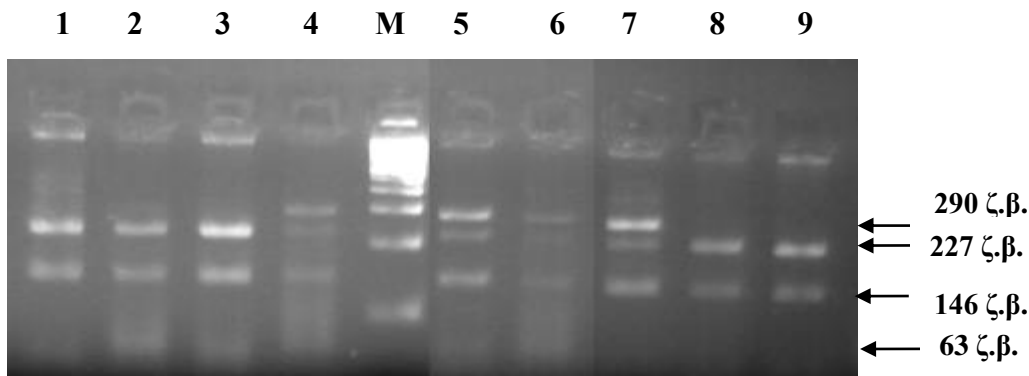
Ομόζυγος γονότυπος : 3,5

Ετερόζυγος γονότυπος: 2,4,6,7,8,9

Πολυμορφικός γονότυπος: 1

Η πέψη με το περιοριστικό ένζυμο PstI για τον πολυμορφισμό rs13181 του γονιδίου XPD (εξώνιο 23) αναμένεται να παρουσιάσει τα ακόλουθα πρότυπα ζωνών (Εικόνα 23):

- 2 ζώνες των 290 ζ.β+ 146 ζ.β για τον ομόζυγο γονότυπο
- 4 ζώνες 290+ζ.β +227 ζ.β +164 ζ.β + 63 ζ.β η καθεμία για τον ετερόζυγο γονότυπο
- 3 ζώνες 227 ζ.β +146 +63 ζ.β η καθεμία για τον πολυμορφικό γονότυπο



Εικόνα 23. Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων πέψης με το ένζυμο PstI για τον πολυμορφισμό rs13181 του γονιδίου XPD23 σε πηκτή αγαρόζης 4%. M: μάρτυρας 100 ζ.β. (Life Sciences).

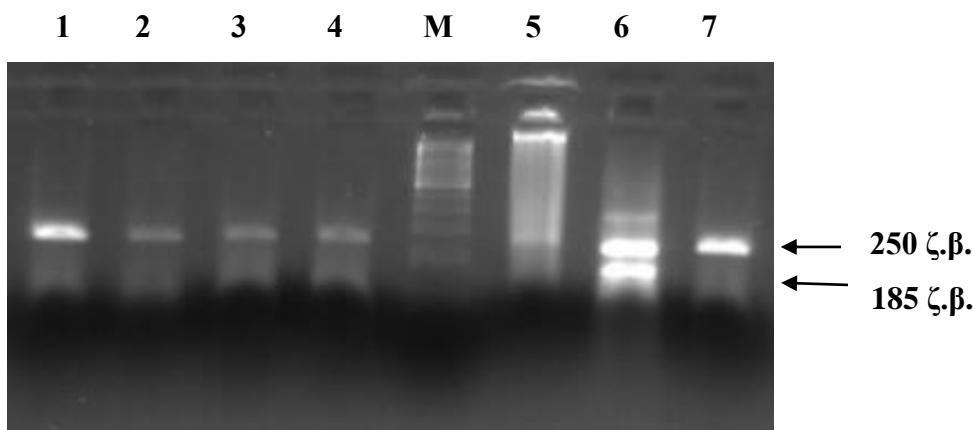
Ομόζυγος γονότυπος : -

Ετερόζυγος γονότυπος: 4, 5, 6, 7

Πολυμορφικός γονότυπος: 1, 2, 3, 8, 9

Η πέψη με το περιοριστικό ένζυμο StyI για τον πολυμορφισμό rs1799793 του γονιδίου XPD (εξώνιο 10) αναμένεται να παρουσιάσει τα ακόλουθα πρότυπα ζωνών (Εικόνα 24):

- 1 ζώνη των 250 ζ.β. για τον ομόζυγο γονότυπο
- 2 ζώνες των 185 ζ.β. + 250 ζ.β. για τον πολυμορφικό γονότυπο



Εικόνα 24. Ηλεκτροφόρηση σε 4% πηκτή αγαρόζης των προϊόντων πέψης με το ένζυμο StyI για τον πολυμορφισμό rs1799793 του γονιδίου XPD10. Ο μάρτυρας της εταιρίας ThermoFischer είναι 100ζ.β.

Ομόζυγος γονότυπος: 1, 2, 3, 4, 7

Πολυμορφικός γονότυπος σε ετεροζυγωτία: 6

Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε την παρουσία συγκεκριμένων πολυμορφισμών των μονοπατιών επιδιόρθωσης βλαβών του DNA, NER και BER σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Συγκεκριμένα μελετήσαμε τους πολυμορφισμούς *XPC PAT* $-/+$, rs861539 (T241M) του *XRCC3* γονιδίου, rs1799793 (D312N) του *ERCC2/XPD10* γονιδίου και rs13181 (K751Q) του *ERCC2/XPD23* γονιδίου και τον ενδεχόμενο ρόλο τους στην ανάπτυξη καρκίνου του προστάτη στον Ελληνικό πληθυσμό. Συλλέξαμε για σημαντικό μέρος των ασθενών κλινικές πληροφορίες για το Gleason score, καθώς και για τις τιμές του PSA.

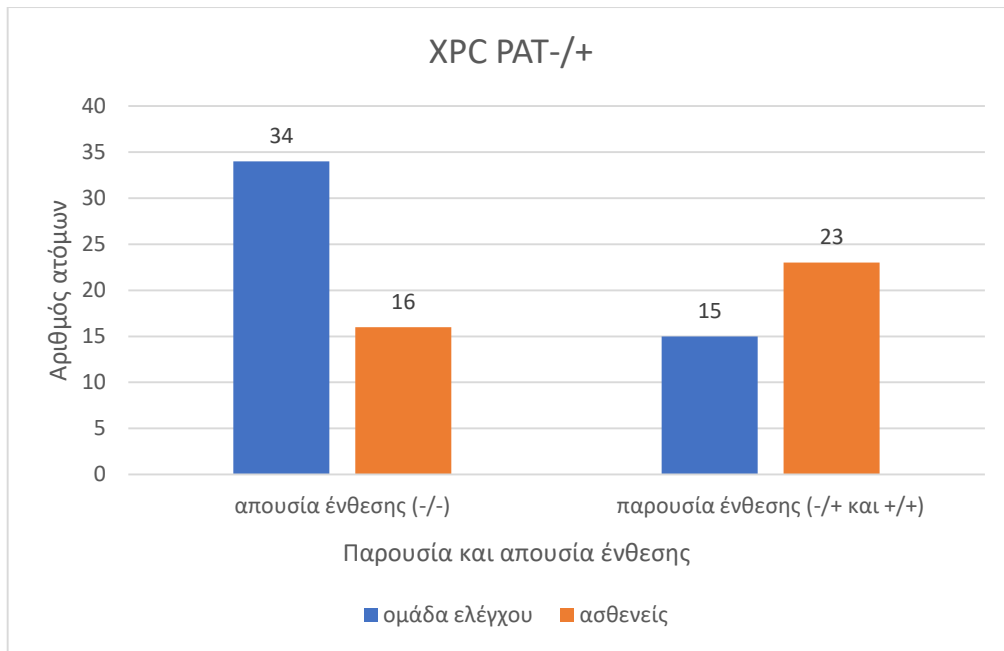
Στη μελέτη συμπεριλάβαμε 39 ασθενείς με καρκίνο του προστάτη ηλικίας 65 ± 13.5 έτη (εύρος: 40-82 έτη). 14/39 ασθενείς (36.0%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 6, 19/39 ασθενείς (48.7%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 7, 1/39 ασθενείς (2.6%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 8 και 2/39 ασθενείς (5.1%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 9. Δεν υπήρχαν δεδομένα για το Gleason score 3 ασθενών (7.6%). Οι μετρήσεις του PSA αφορούν σε 26/39 ασθενείς (66.7%). Η μέση τιμή PSA των ασθενών υπολογίστηκε 13.87 ± 18.3 ng/ml (εύρος 0.007- 87.6).

Προκειμένου να εξετάσουμε την πιθανή συσχέτιση της παρουσίας των εξεταζόμενων πολυμορφισμών με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη συμπεριλάβαμε στη μελέτη και 49 υγιείς άνδρες χωρίς οικογενειακό ιστορικό καρκίνου και ηλικίας μικρότερης των 30 ετών.

Για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων μας χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS version 22 και η ανάλυση έγινε χρησιμοποιώντας το chi-square με κατώφλι σημαντικότητας $p < 0.05$, CI 95%.

Ο πρώτος πολυμορφισμός που εξετάστηκε ήταν η ένθεση *PAT* $-/+$ του *XPC* γονιδίου. Στα υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) 34/39 άρρενες (69.4%) έφεραν το γονότυπο $-/-$ (όχι ένθεση *PAT*). 8/49 υγιή άτομα (16.3%) έφεραν την ένθεση *PAT* σε ετεροζυγωτία ($-/+$) και 7/49 άτομα (14.3%) έφεραν την ένθεση *PAT* σε ομοζυγωτία ($+/+$). Συνολικά, η παρουσία της ένθεσης *PAT* ανιχνεύθηκε σε 15/49 υγιή άτομα (30.6%) σε ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία ($+/+$, $-/+$).

Όσον αφορά στην ομάδα των ασθενών που μελετήσαμε, 16/39 ασθενείς (41.0%) δεν έφεραν την ένθεση *PAT* ($-/-$ γονότυπος). Συνολικά η ένθεση *PAT* ανιχνεύθηκε σε 23/39 ασθενείς (59.0%) σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία ($-/+$, $+/+$).



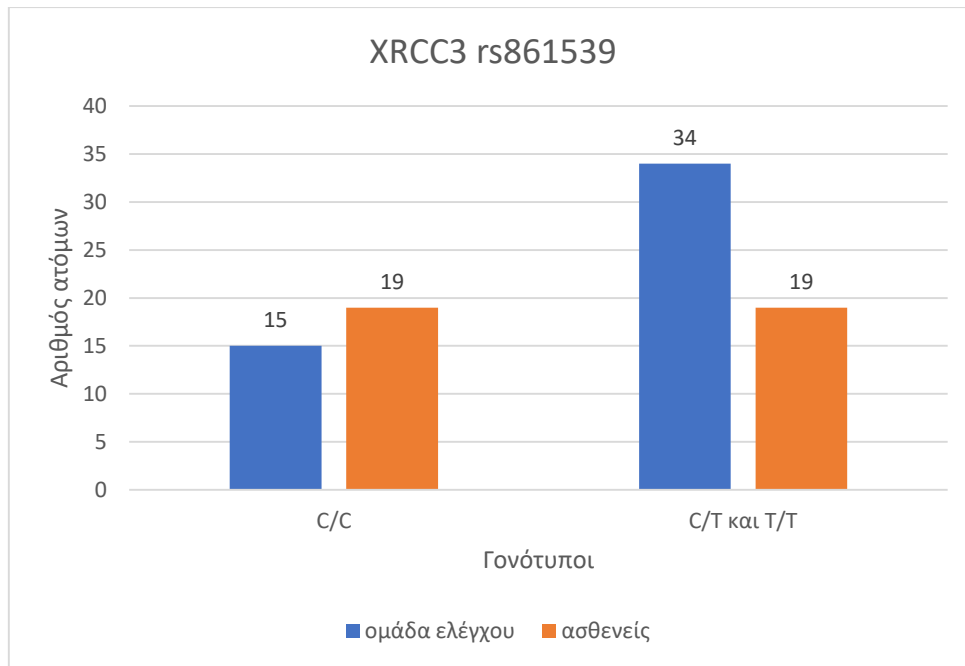
Διάγραμμα 1. Απουσία/παρουσία της ένθεσης PAT +/- (polyAT) του XPC γονιδίου στις ομάδες των ασθενών και στα υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου).

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων μας έδειξε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p=0.008$), καθώς η παρουσία της ένθεσης είναι περισσότερο συχνή στους ασθενείς συγκριτικά με τα υγιή άτομα. Το εύρημα αναδεικνύει ένα πιθανό ρόλο της ένθεσης ως παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου του προστάτη (OR=3.2583, 95% CI= 1.3501-7.8636).

Ο επόμενος πολυμορφισμός που εξετάστηκε είναι ο rs861539 (T241M) του XRCC3 γονιδίου. Το συχνότερο αλληλόμορφο C οδηγεί στο αμινοξύ θρεονίνη (Thr, T) στη θέση 241, ενώ το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο T οδηγεί στην αντικατάσταση του αμινοξέος θρεονίνη από το αμινοξύ μεθειονίνη (Met, M) στην ίδια αμινοξική θέση 241. 15/49 υγιή άτομα (30.6%) φέρουν το συχνότερο αλληλόμορφο C σε ομοζυγωτία, ενώ το λιγότερο συχνό στον γενικό πληθυσμό αλληλόμορφο T ανιχνεύθηκε σε 34/49 υγιή άτομα (69.4%) είτε σε ομοζυγωτία (10/49 άτομα, 20.4%) είτε σε ετεροζυγωτία (24/49 άτομα, 48.9%).

Στους ασθενείς, 19/38 ασθενείς έφεραν το αλληλόμορφο C (50.0%), ενώ οι υπόλοιποι 19/38 ασθενείς (50.0%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο T σε ετερόζυγη (17/38, 44.7%) ή ομόζυγη κατάσταση (2/38, 5.3%). Δε μπορέσαμε να προσδιορίσουμε το γονότυπο ενός ασθενούς.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων μας δεν έδειξε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p=0.066$).

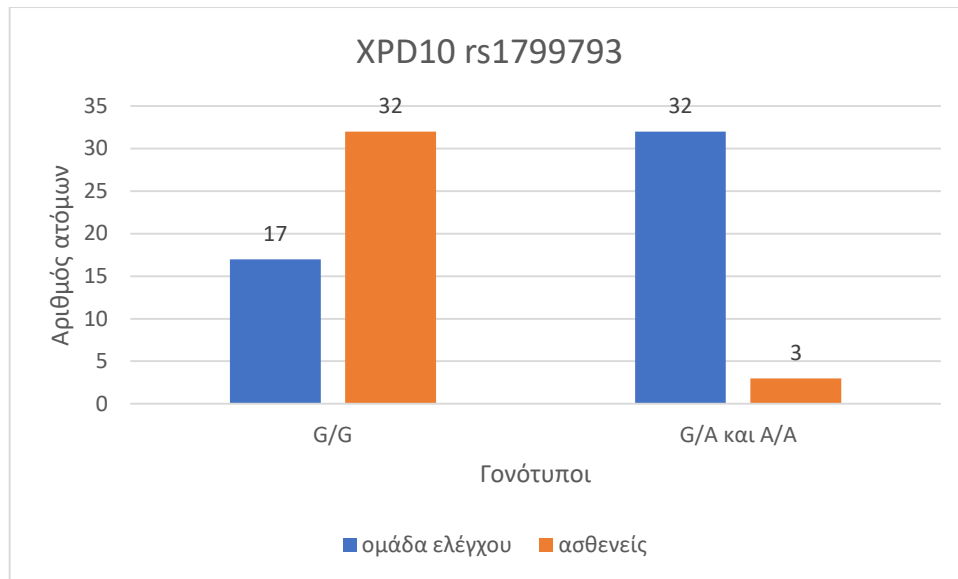


Διάγραμμα 2. Η κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs861539 του *XRCC3* γονιδίου στις ομάδες των ασθενών και στα υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου).

Ο επόμενος πολυμορφισμός που εξετάσαμε είναι ο rs1799793 (D312N) του *ERCC2/XPD10* γονιδίου. Στα υγιή άτομα, 17/49 άρρενες (34.7%) έφεραν το γονότυπο GG. 18/49 υγιή άτομα (36.7%) έφεραν τον γονότυπο GA (ετεροζυγωτία) και 14/49 υγιή άτομα (28.6%) έφεραν το γονότυπο AA. Συνολικά, 32/49 υγιή άτομα (65.3%) έφεραν το αλληλόμορφο A σε ομόζυγη ή ετερόζυγη κατάσταση.

Αναφορικά με τους ασθενείς, 32/35 άτομα (91.4%) έφεραν τον γονότυπο GG, ενώ μόλις 3 συνολικά ασθενείς (8.6%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο σε ετεροζυγωτία (1/35 άτομα, 2.9%) ή ομοζυγωτία (2/35 άτομα, 5.7%). Δε μπορέσαμε να προσδιορίσουμε τους γονότυπους 4 ασθενών.

Η στατιστική επεξεργασία των ανωτέρω αποτελεσμάτων ανέδειξε μία στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της κατανομής του λιγότερο συχνού αλληλομόρφου A (γονότυποι AA, GA) και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη ($p < 0.001$). Η κατανομή του αλληλόμορφου A είναι λιγότερο συχνή στους ασθενείς καταδεικνύοντας μια ενδεχόμενη προστατευτική δράση του έναντι του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη (OR= 0.05, 95% CI = 0.01 – 0.19).

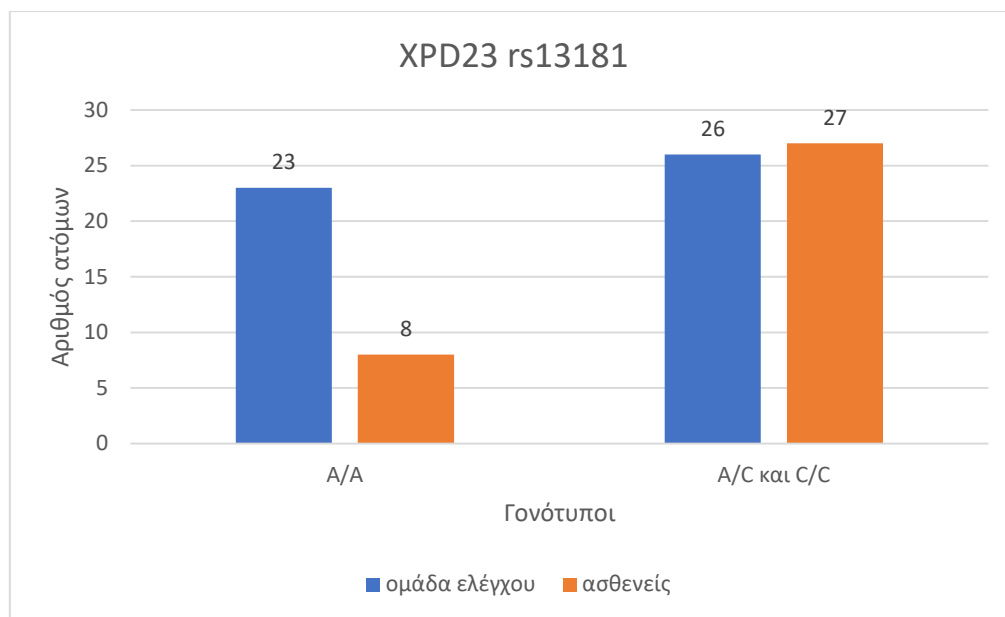


Διάγραμμα 3. Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs1799793 του *ERCC2/XPD10* γονιδίου στις ομάδες των ασθενών και στα υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου).

Τέλος, εξετάστηκε ο πολυμορφισμός rs13181 (K751Q) του *ERCC2/XPD23* γονιδίου. Στα υγιή άτομα, 23/49 άρρενες (46.9%) έφεραν το γονότυπο AA. 18/49 υγιή άτομα (36.7%) έφεραν τον γονότυπο AC (ετεροζυγωτία) και 8/49 υγιή άτομα (16.4%) έφεραν το γονότυπο CC. Συνολικά, 26/49 υγιή άτομα (53.1%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο C σε ομόζυγη ή ετερόζυγη κατάσταση.

Αναφορικά με τους ασθενείς, 8/35 άτομα (22.9%) έφεραν τον γονότυπο AA, ενώ 27 συνολικά ασθενείς (77.1%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο σε ετεροζυγωτία (AC), (18/35 άτομα, 51.4%) ή ομοζυγωτία (CC), (9/35 άτομα, 25.7%). Δε μπορέσαμε να προσδιορίσουμε τους γονότυπους 4 ασθενών.

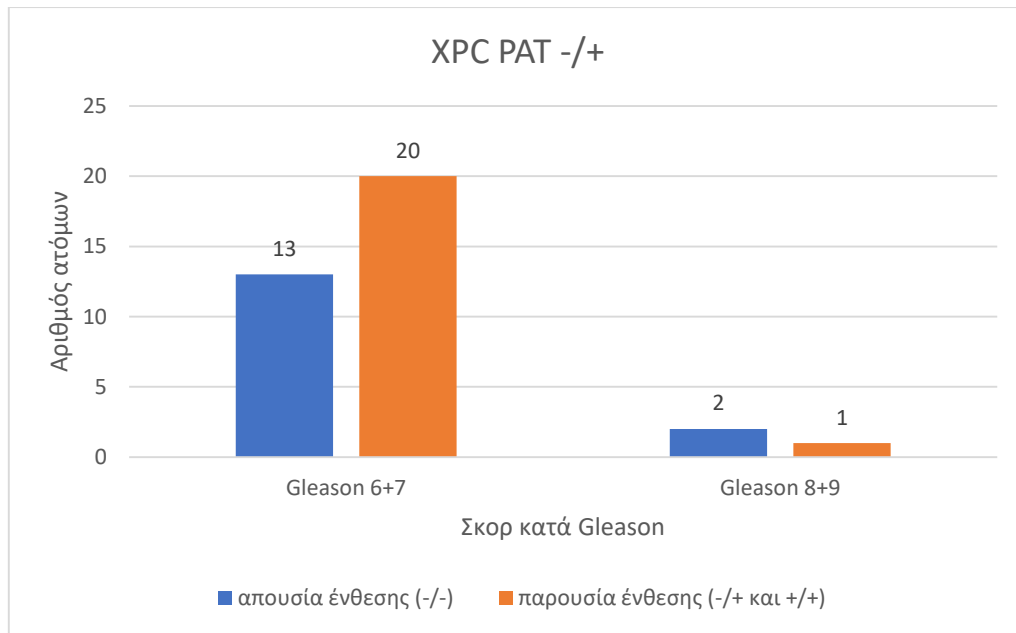
Η στατιστική επεξεργασία των ανωτέρω αποτελεσμάτων ανέδειξε μία στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της κατανομής του λιγότερο συχνού αλληλομόρφου C (γονότυποι AC, CC) και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη ($p=0.024$). Η κατανομή του αλληλόμορφου C είναι συχνότερη στους ασθενείς καταδεικνύοντας μια ενδεχόμενη δράση του αλληλόμορφου C ως παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη (OR= 2.99, 95% CI=1.13-7.86).



Διάγραμμα 4. Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs13181 του *ERCC2/XPD23* γονιδίου στις ομάδες των ασθενών και στα υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου).

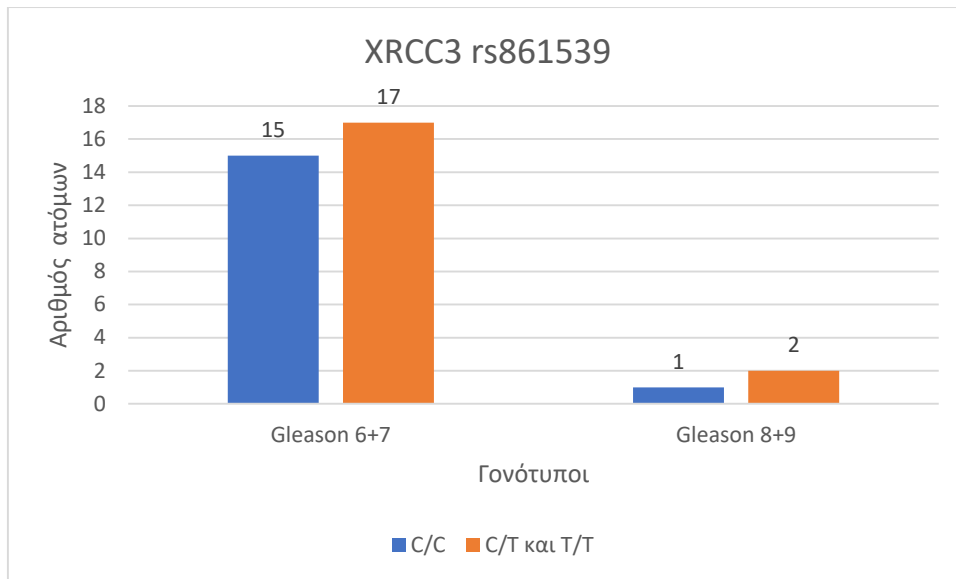
Στη συνέχεια εξετάσαμε την πιθανή συσχέτιση των προαναφερόμενων πολυμορφισμών με τις κλινικές πληροφορίες που συλλέξαμε από τους ασθενείς, όπου αυτό ήταν εφικτό. Από τους 39 ασθενείς που μελετήθηκαν υπήρχαν διαθέσιμες μετρήσεις του σκορ κατά Gleason για τους 36 ασθενείς και η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τα δεδομένα αυτών των ασθενών. Οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν σε δύο κατηγορίες: ασθενείς με χαμηλό σκορ κατά Gleason (6+7) και ασθενείς με υψηλό σκορ κατά Gleason (8+9). Διερευνήθηκε η πιθανή συσχέτιση που αφορά τη συσχέτιση των πολυμορφισμών και του σκορ κατά Gleason των ασθενών.

Για τον πολυμορφισμό XPC PAT -/+, 33/36 ασθενείς (91.7%) διαγνώστηκαν με χαμηλό σκορ κατά Gleason (6+7) και 3/36 ασθενείς (8.3%) διαγνώστηκαν με υψηλό σκορ κατά Gleason (8+9). Στην ομάδα των ασθενών με χαμηλό σκορ κατά Gleason, 13/33 ασθενείς (39.4%) έφεραν το γονότυπο -/- και 20/33 ασθενείς (60.6%) έφεραν την ένθεση σε ετεροζυγωτία (-/+) ή ομοζυγωτία (+/+). Στην ομάδα των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, 2/3 ασθενείς (66.7%) δεν έφεραν την ένθεση (γονότυπος -/-) και 1/3 ασθενείς (33.3%) έφεραν την ένθεση polyAT (γονότυποι -/+, +/+). Η στατιστική επεξεργασία των ευρημάτων δεν ανέδειξε κάποια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p > 0.05$).



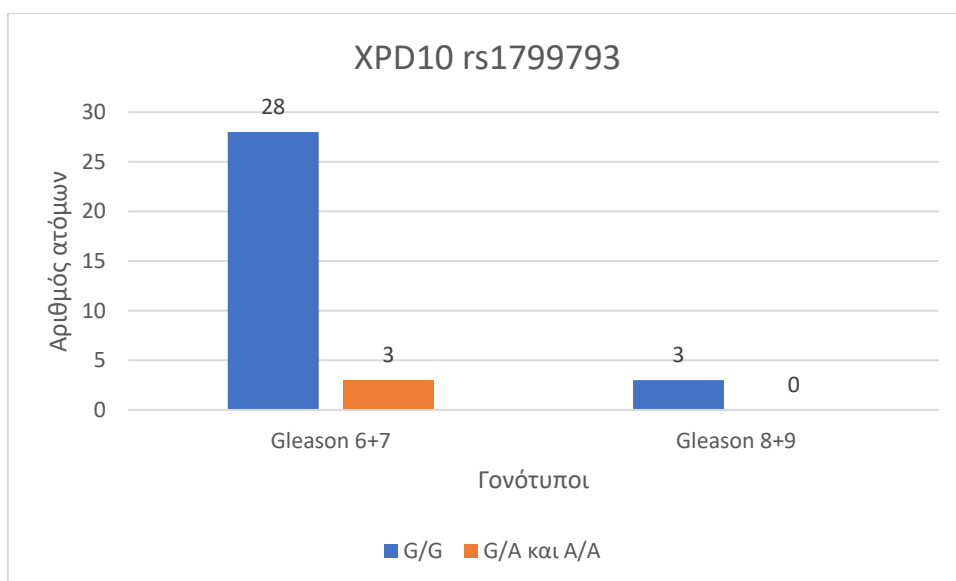
Διάγραμμα 5. Κατανομή της ένθεσης polyAT (PAT -/+) του *XPC* γονιδίου και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.

Για τον πολυμορφισμό rs861539 του *XRCC3* γονιδίου, 32/35 ασθενείς (91.4%) διαγνώστηκαν με χαμηλό σκορ κατά Gleason (6+7) και 3/35 ασθενείς (8.6%) διαγνώστηκαν με υψηλό σκορ κατά Gleason (8+9). Δε μπορέσαμε να προσδιορίσουμε το γονότυπο ενός ασθενούς. Στην ομάδα των ασθενών με χαμηλό σκορ κατά Gleason, 15/32 ασθενείς (46.9%) έφεραν το γονότυπο CC και 17/32 ασθενείς (53.1%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο σε ετεροζυγωτία (CT) ή ομόζυγωτία (TT). Στην ομάδα των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, 1/3 ασθενείς (33.3%) έφερε τον γονότυπο CC και 2/3 ασθενείς (66.7%) έφεραν το αλληλόμορφο T σε ετερόζυγη (CT) ή ομόζυγη μορφή (TT). Και στην περίπτωση αυτή δεν αναδεικνύεται στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p>0.05$).



Διάγραμμα 6. Κατανομή των γονοτύπων του rs861539 πολυμορφισμού του *XRCC3* γονιδίου και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.

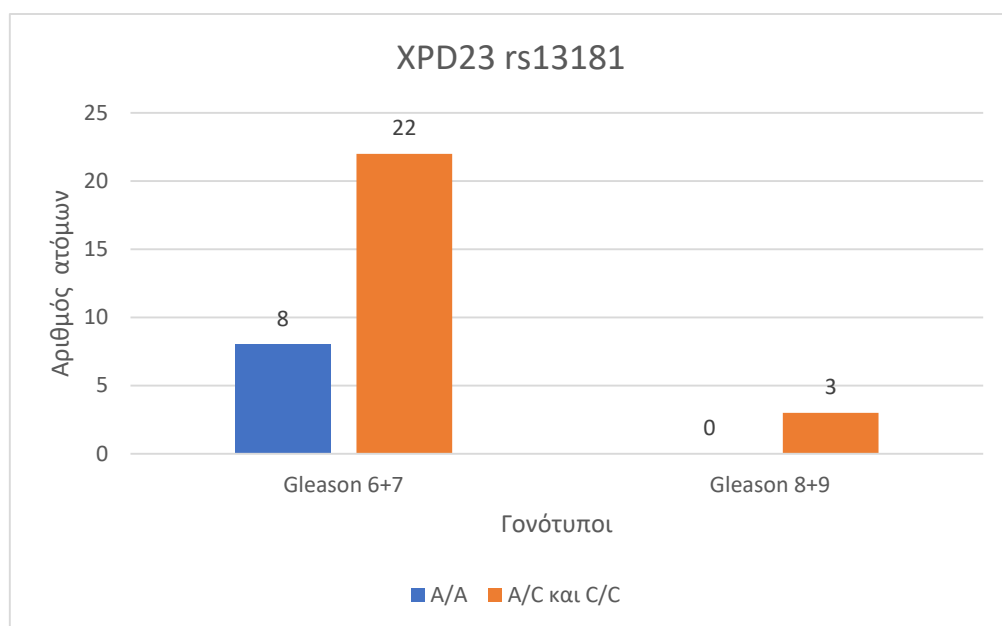
Για τον πολυμορφισμό rs1799397 του *ERCC2/XPD10* γονιδίου, στην ομάδα των ασθενών με χαμηλό σκορ κατά Gleason, 28/31 ασθενείς (90.3%) έφεραν τον γονότυπο GG και 3/31 ασθενείς (9.7%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο σε ετερόζυγη (GA) ή ομόζυγη μορφή (AA). Δεν ήταν δυνατό να προσδιοριστούν οι γονότυποι τεσσάρων ασθενών. Στην ομάδα των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, 3/3 ασθενείς (100%) είχαν τον γονότυπο GG και κανένας ασθενής (0%) δεν έφερε το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο σε ετερόζυγη (GA) ή ομόζυγη μορφή (AA). Και στην περίπτωση αυτή δεν αναδεικνύεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($p > 0.05$).



Διάγραμμα 7. Κατανομή των γονοτύπων του rs1799397 πολυμορφισμού του *ERCC2/XPD10* γονιδίου και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.

Τέλος, για τον πολυμορφισμό rs13181 του *ERCC2/XPD23* γονιδίου, στην ομάδα των ασθενών με χαμηλό σκορ κατά Gleason, 8/30 ασθενείς (26.7%) έφεραν τον γονότυπο AA και 22/30 ασθενείς (73.3%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο σε ετερόζυγη (AC) ή ομόζυγη μορφή (CC). Δεν ήταν δυνατό να προσδιοριστούν οι γονότυποι τεσσάρων ασθενών.

Στην ομάδα των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, κανένας ασθενής δεν έφερε το γονότυπο AA, ενώ 3/3 ασθενείς (100%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο σε ετερόζυγη (AC) ή ομόζυγη μορφή (CC). Και στην περίπτωση αυτή δεν αναδεικνύεται στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p>0.05$).



Διάγραμμα 8. Κατανομή των γονοτύπων του rs13181 πολυμορφισμού του *ERCC2/XPD23* γονιδίου και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.

Η συσχέτιση των τιμών του δείκτη PSA με την κατανομή των αλληλομόρφων των εξεταζόμενων πολυμορφισμών δεν ήταν εφικτή, καθώς ο περιορισμένος αριθμός των ατόμων στα οποία είχαμε μετρήσεις δεν επιτρέπει την περαιτέρω ανάλυση και συσχέτιση των ευρημάτων με ασφάλεια.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί συχνή κακοήθεια στα άρρενα άτομα. Σύμφωνα με τα πρόσφατα επιδημιολογικά στοιχεία αναμένεται να αυξηθεί παγκοσμίως. Εκτιμώνται περισσότερες από 2.300.000 νέες περιπτώσεις και τουλάχιστον 740.000 θάνατοι έως το 2040 καθαρά και μόνο λόγω της αύξησης και της γήρανσης του πληθυσμού [145]. Περιβαλλοντικοί και γενετικοί παράγοντες συγκαταλέγονται μεταξύ των παραγόντων κινδύνου. Οι κύριοι παράγοντες κινδύνου είναι η ηλικία, η φυλή-εθνικότητα και το οικογενειακό ιστορικό. Τελευταία υπάρχουν ενδείξεις ότι η παχυσαρκία, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και γενικότερα η διατροφή με υψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο, καθώς και οι χαμηλές συγκεντρώσεις σεληνίου και α-τοκοφερόλης στο πλάσμα αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη [146].

Ο καρκίνος του προστάτη είναι ιδιαίτερα συχνός στις αναπτυγμένες χώρες. Ωστόσο, αν και στην Ευρώπη παρατηρείται ως επί το πλείστον μείωση της θνησιμότητας από καρκίνο του προστάτη, δεν ακολουθείται ανάλογο μοντέλο σε περιοχές όπως η Ασία και η Νότια Αμερική. Επιπρόσθετα, σε κάποιες χώρες της Ευρώπης καταγράφεται αυξητική τάση. Στα δεδομένα αυτά προστίθεται περαιτέρω η γεωγραφική ετερογένεια που παρατηρείται, ως προς τη συχνότητα εμφάνισης, που αντικατοπτρίζει την αλληλεπίδραση των περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων.

Ο καρκίνος του προστάτη, όπως και η πλειοψηφία των διαφόρων τύπων καρκίνου, έχει διακριτά μορφολογικά χαρακτηριστικά που αντικατοπτρίζουν γενετικές κι επιγενετικές αλλαγές σε μοριακό επίπεδο. Η σύντηξη του ERG γονιδίου (fusion) αποτελεί τη συχνότερη γενετική αλλαγή (περίπου 50% των νεοπλασμάτων) και αποτελεί πρώιμο γεγονός κατά την καρκινογένεση, επιτρέποντας μια πρώτη διάκριση των νεοπλασμάτων του προστάτη σε ERG- και ERG+ όγκους. Επιπλέον προστίθενται χρωμοσωμικές απώλειες και συντήξεις γονιδίων οι οποίες ταξινομούν τους όγκους του προστάτη σε μοριακούς υποτύπους.

Δεδομένα από μελέτες στον κληρονομικό καρκίνο του προστάτη προσθέτουν γενετικές αλλαγές στα μονοπάτια επιδιόρθωσης βλαβών του DNA. Μελέτες αλληλούχισης νέας γενιάς σε μεταστατικούς όγκους έχουν ταυτοποιήσει πλήθος μεταλλάξεων σε γονίδια επιδιόρθωσης βλαβών του DNA μεταξύ ασθενών με προχωρημένη νόσο. Η συχνότητα των γενετικών αλλαγών στα επιδιορθωτικά γονίδια είναι υψηλότερη στον μεταστατικό καρκίνο του προστάτη έναντι της εντοπισμένης νόσου [147]. Ωστόσο δεν είναι απόλυτα κατανοητό εάν η υψηλότερη συχνότητα είναι ένδειξη αμιγώς επιθετικότερων μορφών καρκίνου του προστάτη ή είναι μεταγενέστερο αποτέλεσμα κατά την εξέλιξη του όγκου. Οι αλλαγές στα γονίδια που μετέχουν σε επιδιορθωτικούς μηχανισμούς σχετίζονται με την

αύξηση του συνολικού φορτίου μεταλλάξεων και κατ' επέκταση αύξηση της γενωμικής αστάθειας και οδηγούν ενδεχομένως σε αυξημένη ετερογένεια εντός του ασθενούς.

Το DNA των κυττάρων υφίσταται συνεχώς βλάβες. Είναι αυτονόητο ότι η ανεπιτυχής επιδιόρθωσή τους αυξάνει τη γενωμική αστάθεια και ενδέχεται να οδηγήσει σε καρκινογένεση. Οι βλάβες προκαλούνται είτε ενδογενώς, λόγω υδρόλυσης των βάσεων ή αντίδρασης του DNA με ελεύθερες ρίζες οξυγόνου ή αλκυλιωτικούς παράγοντες, είτε επάγονται από εξωγενείς παράγοντες, όπως η ακτινοβολία και οι τοξίνες. Τα κύτταρα για να διατηρήσουν τη γενωμική τους ακεραιότητα έχουν αναπτύξει μία πολύπλοκη σηματοδοτική μηχανή για την αναγνώριση κι επιδιόρθωση της βλάβης με σημαντικό αριθμό οδών με εν μέρει επικαλυπτόμενες δράσεις [148].

Σε γενικές γραμμές, ο μηχανισμός που ακολουθείται περιλαμβάνει αναγνώριση της βλάβης, ενεργοποίηση σημείων ελέγχου για διακοπή του κυτταρικού κύκλου και επιδιόρθωση. Η επιτυχής αποκατάσταση της βλάβης σηματοδοτεί τη συνέχιση του κυτταρικού κύκλου και των πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Στην αντίθετη περίπτωση ενεργοποιούνται αποπτωτικοί μηχανισμοί. Ο μηχανισμός επιδιόρθωσης περιλαμβάνει τις οδούς BER, NER, SSBR και MMR. Σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιείται η συμπληρωματική αλυσίδα του DNA ως μήτρα για την επιδιόρθωση της βλάβης.

Στην καρκινογένεση του προστάτη αθροίζονται γενετικές κι επιγενετικές αλλαγές που ενδέχεται να είναι κληρονομήσιμες ή αποτέλεσμα της παραλλαγμένης μεταγραφικής δράσης του ανδρογονικού υποδοχέα AR, αλλαγών στην αρχιτεκτονική της χρωματίνης, ανεπιτυχούς επιδιόρθωσης βλαβών του DNA ή ελαττωματικής κυτταρικής διαίρεσης. Το άθροισμα των προαναφερόμενων διαδικασιών προσφέρει στο μετασχηματισμένο κύτταρο το πλεονέκτημα της επιβίωσης και του πολλαπλασιασμού. Η σηματοδότηση μέσω του ανδρογονικού υποδοχέα είναι κρίσιμη τόσο για την ομαλή ανάπτυξη του προστάτη αδένου όσο και για την καρκινογένεσή του. Μελέτες καταδεικνύουν τη σύνδεση της γενωμικής αστάθειας και της μεταγραφικής ενεργότητας του AR υποδοχέα, καθώς επίσης και την αλληλο-ρύθμισή τους που φαίνεται να παίζει ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου του προστάτη [149].

Στην Ελλάδα ο καρκίνος του προστάτη κατέχει τη δεύτερη θέση σε συχνότητα μετά τον καρκίνο του πνεύμονα στα άρρενα άτομα. Υπάρχουν ελάχιστες μελέτες για τον καρκίνο του προστάτη στον ελληνικό πληθυσμό, αλλά αφορούν κυρίως επιδημιολογικά στοιχεία και θεραπευτικές προσεγγίσεις [150].

Σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν η μελέτη πολυμορφισμών συγκεκριμένων γονιδίων που μετέχουν στις οδούς BER και NER, καθώς αφ' ενός υπάρχει μεγάλη γεωγραφική ετερογένεια και αφ' ετέρου δεν υπάρχει ανάλογη μελέτη στον ελληνικό πληθυσμό. Τα μέχρι στιγμής δεδομένα αποκλίνουν καθώς κάποιοι πολυμορφισμοί ενδέχεται να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη ή έχουν προστατευτική δράση. Στα πλαίσια αυτά μελετήσαμε 39 ασθενείς με καρκίνο του προστάτη που χειρουργήθηκαν στην Ουρολογική Κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού

Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Παράλληλα, συλλέξαμε περιφερικό αίμα από 49 υγιή άτομα που αποτελούν την ομάδα ελέγχου συγκριτικά με τους ασθενείς μας.

Εξετάσαμε κάποιους πολυμορφισμούς που έχουν μελετηθεί σε ποικίλους τύπους καρκίνου και παρουσιάζουν αποκλίνοντα αποτελέσματα. Σε όλα μας τα δείγματα έγινε απομόνωση γενωμικού DNA και ενίσχυση των γονιδιακών περιοχών που φέρουν τους υπό εξέταση πολυμορφισμούς με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Ακολούθησαν πέψεις με κατάλληλα περιοριστικά ένζυμα για την αναγνώριση των συγκεκριμένων πολυμορφισμών. Τα αποτελέσματά μας αναλύθηκαν στατιστικά με το πρόγραμμα SPSS έκδοση 22 χρησιμοποιώντας για την ανάλυση το t-test.

Στην οδό επιδιόρθωσης NER μελετήσαμε τους πολυμορφισμούς XPC PAT -/+ (polyAT) του XPC γονιδίου, rs13181 (K751Q) του ERCC2/XPD23 γονιδίου και rs1799793 (D312N) του ERCC2/XPD10 γονιδίου. Ο πρώτος πολυμορφισμός αφορά σε μία ένθεση 83 νουκλεοτιδίων AT με ταυτόχρονη απαλοιφή 5 νουκλεοτιδίων GTAAC στις θέσεις 1457 έως 1461 στο ιντρόνιο 9. Σύμφωνα με μελέτες ο εν λόγω πολυμορφισμός μπορεί να αναστείλει τη δραστηριότητα του ενζύμου και να αυξήσει τον κίνδυνο για καρκινογένεση [151]. Η κατανομή των αλληλομόρφων γονιδίων του εν λόγω πολυμορφισμού στους ασθενείς και την ομάδα ελέγχου εμφάνισε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Συγκεκριμένα, η παρουσία της ένθεσης PAT+/- ήταν αυξημένη στην ομάδα των ασθενών σε σχέση με τους υγιείς, όπου η απουσία της ένθεσης (-/-) ήταν συχνότερη. Η συσχέτιση είναι στατιστικά σημαντική ($p=0.008$), ενώ όσοι ασθενείς φέρουν την ένθεση σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία διατρέχουν κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη κατά 3.3 φορές σε σχέση με τους μη φέροντες ($OR=3.2583$, 95% $CI= 1.3501-7.8636$). Παρόλα αυτά, δεν αναδείχθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση του εν λόγω πολυμορφισμού με το Gleason score των ασθενών της μελέτης ($p>0.05$).

Σε μια μετα-ανάλυση των Dai και συνεργατών (2013) συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν δεδομένα από 32 εργασίες όπου μελετήθηκε η κατανομή του XPC PAT -/+ σε ποικίλους τύπους καρκίνου [152]. Οι μελέτες περιλάμβαναν συνολικά 10.214 ασθενείς και 11.302 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Οι 19 μελέτες αφορούσαν σε Ασιάτες, 11 μελέτες αφορούσαν σε Καυκάσιους και δύο μελέτες περιλάμβαναν μικτό πληθυσμό. Η μετα-ανάλυση ανέδειξε συσχέτιση του πολυμορφισμού XPC PAT (+/+ γονότυπος) με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου γενικότερα, έναντι του PAT -/- γονότυπου, αλλά και ειδικότερα στις δύο μελέτες που αφορούσαν σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Τα ευρήματά μας συμφωνούν με τις δύο μελέτες των Liu και συνεργατών (2012) και Mittal και συνεργατών (2012) καθώς και στις δύο ο γονότυπος PAT +/- σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου του προστάτη [153]. Η δική μας μελέτη διαφοροποιείται από αυτές που προαναφέρθηκαν ως προς το μοντέλο μελέτης του συγκεκριμένου πολυμορφισμού, καθώς η παρουσία ένθεσης PAT+/- συνεξετάζεται για ομοζυγώτες και ετεροζυγώτες. Η διαφοροποίηση προκύπτει από το γεγονός ότι η δική μας μελέτη αφορά σε Καυκάσιους, καθώς περιλαμβάνει δείγματα από τον ελληνικό πληθυσμό,

ενώ οι άλλες μελέτες αναφέρονται σε Ασιατικής καταγωγής πληθυσμούς καθώς έχουν διεξαχθεί στην Κίνα και στη Βόρεια Ινδία αντιστοίχως, όπως επίσης και στο μικρό αριθμό δειγμάτων.

Ο επόμενος πολυμορφισμός που εξετάσαμε είναι ο rs1799793 (D312N) του ERCC2/XPD10 γονιδίου. Ο εν λόγω πολυμορφισμός χαρακτηρίζεται από τη νουκλεοτιδική αλλαγή G>A στη θέση 312 στο εξόνιο 10, προκαλώντας την αντικατάσταση του ασπαρτικού οξέος από την ασπαραγίνη (Asp312Asn). Αρκετές μελέτες υποστηρίζουν ότι το πολυμορφικό αλληλόμορφο σε ομοζυγωτία (AA) προκαλεί μειωμένη δραστηριότητα του επιδιορθωτικού ενζύμου [154].

Τα αποτελέσματά μας στις δύο ομάδες (ασθενείς – υγιή άτομα) έδειξαν ότι το πολυμορφικό αλληλόμορφο δεν είχε παρόμοια κατανομή. Το πολυμορφικό αλληλόμορφο καταγράφεται στο 65.3% των υγιών ατόμων (γονότυποι GA, AA), ενώ μόλις το 8.6% των ασθενών έφεραν το πολυμορφικό αλληλόμορφο A σε ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων ανέδειξε μια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφικού αλληλομόρφου A και του κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του προστάτη ($p < 0.001$), καταδεικνύοντας έναν μάλλον προστατευτικό ρόλο του πολυμορφικού αλληλομόρφου A (OR= 0.05, 95% CI = 0.01 – 0.19).

Στη μελέτη των Rybicki και συνεργατών (2004) εξετάστηκαν οι πολυμορφισμοί XPD (codon Asp312Asn) και XRCC1 (codon Arg399Gln) σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Η μελέτη αυτή υποστηρίζει ήπια θετική επίδραση του πολυμορφικού αλληλομόρφου A σε ομοζυγωτία (312 Asn/Asn) στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, η οποία ενισχύεται από την ταυτόχρονη παρουσία του 399Gln αλληλομόρφου του XRCC1 γονιδίου [155].

Σε μία μελέτη μετα-ανάλυσης των Ma και συνεργατών (2013) αναφέρονται 6 δημοσιευμένες εργασίες που περιλαμβάνουν συνολικά 2620 ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και 3225 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Παρατηρούνται διαφορές που αποδίδονται κυρίως στη διαφορετική φυλή. Η συνολική ανάλυση των ευρημάτων, ανεξαρτήτως φυλής, δεν καταδεικνύει στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού rs1799793 (D312N) του ERCC2/XPD10 γονιδίου και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Σε ανάλυση των υποομάδων, λαμβάνοντας υπόψη τη φυλή προκύπτει υψηλότερος κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη σε πληθυσμούς Αφρικανικής και Ασιατικής προέλευσης, ενώ δεν καταγράφεται ανάλογη συσχέτιση στους Καυκάσιους [156]. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, τα ευρήματα που προκύπτουν από τη μελέτη των Mirecka και συνεργατών (2014) σε 720 ασθενείς με καρκίνο προστάτη και 1121 υγιή άτομα της Καυκάσιας φυλής, υποστηρίζουν ισχυρή συσχέτιση του πολυμορφισμού rs1799793 (D312N) του ERCC2/XPD10 γονιδίου με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη.

Μία άλλη μελέτη μετα-ανάλυσης των Xiao και συνεργατών (2017) καταδεικνύει ότι ο rs1799793 (D312N) του ERCC2/XPD10 γονιδίου συνδέεται γενικά με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, κυρίως σε Αφρικανικής και Ασιατικής καταγωγής πληθυσμούς συγκριτικά με τους

Καυκάσιους. Επιπρόσθετα υποστηρίζει ότι ο εν λόγω πολυμορφισμός συνδέεται κυρίως με τους καρκίνους της ουροδόχου κύστης, του οισοφάγου και του στομάχου και όχι με τους καρκίνους του μαστού, κεφαλής και τραχήλου, πνεύμονος, προστάτη και καρκίνων του δέρματος [157]. Επιπρόσθετα, η μελέτη μετα-ανάλυσης των Liu και συνεργατών (2018) σε 29 εργασίες υποστηρίζει κι αυτή τη θετική συσχέτιση του πολυμορφισμού rs1799793 (D312N) με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη στους Ασιατικής καταγωγής πληθυσμούς. Παρόλα αυτά, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού rs1799793 με το Gleason score.

Ο δεύτερος πολυμορφισμός του γονιδίου ERCC2 που μελετήσαμε είναι ο rs13181 (K751Q), ο οποίος εντοπίζεται στο εξώνιο 23 του εν λόγω γονιδίου και αφορά αντικατάσταση του νουκλεοτιδίου A σε C, με αποτέλεσμα την αμινοξική αλλαγή από λυσίνη σε γλουταμίνη στη θέση 751 της πρωτεΐνης (K751Q). Τα υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου), έφεραν το πολυμορφικό αλληλόμορφο C σε ετεροζυγωτία και ομοζυγωτία σε ποσοστό 53.1%, ενώ στην ομάδα των ασθενών, το πολυμορφικό αλληλόμορφο εμφανίστηκε σε ετεροζυγωτία και ομοζυγωτία σε ποσοστό 77.1%. Η κατανομή των αλληλομόρφων διαφέρει μεταξύ των δύο ομάδων και παρουσιάζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση ($p=0.024$). Η παρουσία του C αλληλομόρφου είναι συχνότερη στους ασθενείς συγκριτικά με τα υγιή άτομα. Το εύρημα αυτό αναδεικνύει τον πιθανό ρόλο του C αλληλομόρφου ως παράγοντα κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, καθώς οι ασθενείς που φέρουν το αλληλόμορφο C σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία έχουν σχεδόν τριπλάσιο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη σε σχέση με του ασθενείς που φέρουν το αλληλόμορφο A (A/A), (OR= 2.99, 95% CI=1.13-7.86). Δεν αναδεικνύεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του rs13181 (K751Q) του ERCC2/XPD23 γονιδίου με το Gleason score των ασθενών.

Οι ενδείξεις για τη συσχέτιση του πολυμορφισμού rs13181 του ERCC2/XPD23 γονιδίου με την ανάπτυξη του καρκίνου του προστάτη είναι αντικρουόμενες και διαφοροποιούνται ανάλογα με τις πληθυσμιακές ομάδες. Μία από τις παλαιότερες μελέτες συσχέτισης του εν λόγω πολυμορφισμού και του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη [158] εξέτασε δεδομένα από 1457 ασθενείς και 1351 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Στη μελέτη τους δε αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των αλληλομόρφων του εν λόγω πολυμορφισμού και του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη, αλλά η παρουσία του πολυμορφισμού σε ομοζυγωτία συσχετίστηκε με υψηλότερα Gleason score ή προχωρημένα στάδια της νόσου σε σύγκριση με ομόζυγους ασθενείς για τον προγονικό γονότυπο [158]. Έλλειψη συσχέτισης μεταξύ του εν λόγω πολυμορφισμού και του μελετούμενου πληθυσμού έδειξε και η μελέτη των Wang et al (2017), [159] που μελέτησε 1004 ασθενείς και 1055 υγιείς (ομάδα ελέγχου) στον Κινεζικό πληθυσμό. Αντίστοιχα, μία μετα-ανάλυση, που έγινε από τους Liu et al (2018) και περιελάμβανε 29 μελέτες Ασιατικών, Καυκάσιων και Αφρικανικών πληθυσμών,

δεν έδειξε κάποια στατιστικά σημαντική συσχέτιση του εν λόγω πολυμορφισμού και του κινδύνου ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη.

Η μελέτη των Cypriano et al (2017) [160] που εξέτασε την πιθανή συσχέτιση του εν λόγω πολυμορφισμού με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη σε άνδρες από τη Βραζιλία, έδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του εν λόγω πολυμορφισμού με τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου σε επίπεδα κινδύνου που είναι συγκρίσιμα με αυτά που υπολογίστηκαν στη συγκεκριμένη εργασία [OR=2.36 (1.46-3.84)]. Τέλος, η πιο πρόσφατη μελέτη των Balkan et al (2020) για τον εν λόγω πολυμορφισμό στον Τουρκικό πληθυσμό δείχνει στατιστικά σημαντική συσχέτιση του πολυμορφισμού με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη, γεγονός που τονίζει την έντονη ετερογένεια της κατανομής του εν λόγω πολυμορφισμού στις διάφορες πληθυσμιακές ομάδες.

Τέλος στην οδό επιδιόρθωσης DSBR εξετάσαμε τον πολυμορφισμό rs861539 (T241M) του XRCC3 γονιδίου. Ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός ανιχνεύεται στο εξώνιο 7 και είναι μια νουκλεοτιδική αντικατάσταση C>T που οδηγεί στην αμινοξική αλλαγή της θρεονίνης από τη μεθειονίνη (T241M). Τα υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) έφεραν στην πλειοψηφία τους (69.4%) το πολυμορφικό αλληλόμορφο T, ενώ οι ασθενείς έφεραν το πολυμορφικό αλληλόμορφο T στο 50 %. Η κατανομή των αλληλομόρφων δε διαφέρει σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων και δεν παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p=0.066$). Δεν αναδεικνύεται στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ του rs861539 (T241M) του XRCC3 γονιδίου με το Gleason score των ασθενών.

Η μελέτη των Ritchey και συνεργατών (2005) δεν ανέδειξε συσχέτιση του εν λόγω πολυμορφισμού με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, ωστόσο αφορά σε πληθυσμό Ασιατικής καταγωγής (162 ασθενείς, 251 υγιή άτομα) [162]. Μελέτη των Nowacka-Zawisza και συνεργατών (2015) σε 101 ασθενείς/ 216 υγιή άτομα δεν ανέδειξε συσχέτιση του πολυμορφισμού με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, σε αντίθεση με άλλους τύπους καρκίνου, όπως το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, ο καρκίνος της ουροδόχου κύστης, ο καρκίνος του μαστού και ο καρκίνος κεφαλής και τραχήλου.

Ωστόσο, στη μελέτη μετα-ανάλυσης των Xuan και συνεργατών (2015), από τη μελέτη του rs861539 (T241M) πολυμορφισμού του XRCC3 γονιδίου προέκυψε συνολικά ότι υπάρχει συσχέτιση του πολυμορφισμού με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Συγκεκριμένα, φαίνεται να συνδέεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη στους Καυκάσιους πληθυσμούς [163]. Τα ευρήματα της μελέτης μας συμφωνούν με τη μελέτη των Xuan και συνεργατών (2015), καθώς κι εμείς καταδεικνύουμε ένα πιθανό προστατευτικό ρόλο του rs861539 (T241M) πολυμορφισμού στον καρκίνο του προστάτη.

Συνοψίζοντας παρατηρούμε ότι υπάρχει μεγάλη απόκλιση και ετερογένεια μεταξύ των διαφόρων μελετών. Οι αποκλίσεις μπορούν να αιτιολογηθούν σε μεγάλο βαθμό από τον αριθμό των δειγμάτων,

τη φυλετική προέλευση, τη διαφορετική μεθοδολογία ανάλυσης, καθώς επίσης σημαντικό ρόλο ενδέχεται να παίζουν κι άλλοι παράγοντες όπως η διατροφή και το κάπνισμα. Η παρούσα εργασία αποτελεί μια πρώτη μελέτη, από όσο γνωρίζουμε, των εν λόγω πολυμορφισμών στον ελληνικό πληθυσμό. Ασφαλώς, χρειάζεται εξέταση σε μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων προκειμένου να έχουμε μια καλύτερη εικόνα σχετικά με την συχνότητα των συγκεκριμένων πολυμορφισμών στον ελληνικό πληθυσμό αλλά και τον ρόλο τους στην καρκινογένεση του προστάτη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Μουτζούρης Γ, Φ. Σ. Κεφάλαιο 24. Σύγχρονη Ουρολογία, Μελέκος ΜΔ, 1η έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις ΠΧ Πασχαλίδης 2006.
2. Jiang M, Strand DW, Franco OE, Clark PE, Hayward SW. PPAR γ : a molecular link between systemic metabolic disease and benign prostate hyperplasia. *Differentiation*.2011;82(4-5):220-236. doi:10.1016/j.diff.2011.05.008
3. Mary Ellen Taplin, Shuk-Mei Ho. The Endocrinology of Prostate Cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*.2001; 86(8): 3467–3477. <https://doi.org/10.1210/jcem.86.8.7782>
4. James L. Mohler, Mark A. Titus, Suxia Bai, Brian J. Kennerley, Fred B. Lih, Kenneth B. Tomer and Elizabeth M. Wilson. Activation of the Androgen Receptor by Intratumoral Bioconversion of Androstanediol to Dihydrotestosterone in Prostate Cancer. *Cancer Res*. 2011; 71 (4):1486-1496. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1343
5. Gao W, Bohl CE, Dalton JT. Chemistry and structural biology of androgen receptor. *Chem Rev*. 2005; 105(9):3352-3370. doi:10.1021/cr020456u
6. Taitt HE. Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. *Am J Mens Health*. 2018; 12(6):1807-1823. doi:10.1177/1557988318798279
7. Guo Y, Mao S, Zhang A, et al. Prognostic Significance of Young Age and Non-Bone Metastasis at Diagnosis in Patients with Metastatic Prostate Cancer: a SEER Population-Based Data Analysis. *J Cancer*. 2019;10(3):556-567. doi:10.7150/jca.29481
8. Jemal A, Fedewa SA, Ma J, Siegel R, Lin CC, Brawley O, Ward EM. Prostate Cancer Incidence and PSA Testing Patterns in Relation to USPSTF Screening Recommendations. *JAMA*. 2015; 314(19):2054-61. doi: 10.1001/jama.2015.14905.
9. Brawley OW. Trends in prostate cancer in the United States. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2012;2012(45):152-156. doi:10.1093/jncimonographs/lgs035
10. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol*. 2019;10(2):63-89. doi:10.14740/wjon1191.
11. Cuzick J, Thorat MA, Andriole G, et al. Prevention and early detection of prostate cancer. *Lancet Oncol*. 2014;15(11):e484-e492. doi:10.1016/S1470-2045(14)70211-6
12. Cancer.org. 2020. Key Statistics For Prostate Cancer | Prostate Cancer Facts. [online]Available at:<https://www.cancer.org/cancer/prostate-cancer/about/key-statistics.html>[Accessed 20

November 2020].

13. Centers for Disease Control and Prevention. Who Is At Risk For Prostate Cancer. 2020. Available at: https://www.cdc.gov/cancer/prostate/basic_info/risk_factors.htm [Accessed 16 November 2020].
14. Gann PH. Risk factors for prostate cancer. *Rev Urol.* 2002, 4 Suppl 5(Suppl 5):S3-S10.
15. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol.* 2019;10(2):63-89. doi:10.14740/wjon1191
16. Cancer Stat Facts: Prostate Cancer. NCI. [online] SEER, 2018. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>.
17. Scardino PT. Early detection of prostate cancer. *Urol Clin North Am.* 1989;16(4):635-55. PMID: 2479160.
18. National Institute of Mental Health. What is Prevalence? [online]. Available at: <https://www.nimh.nih.gov/health/statistics/what-is-prevalence.shtml> [Accessed 10 October 2020]
19. Wu I, Modlin CS. Disparities in prostate cancer in African American men: what primary care physicians can do. *Cleve Clin J Med.* 2012;79(5):313–320. doi: 10.3949/ccjm.79a.11001.
20. Hosain GM, Sanderson M, Du XL, Chan W, Strom SS. Racial/ethnic differences in predictors of PSA screening in a tri-ethnic population. *Cent Eur J Public Health.* 2011;19(1):30–34. doi: 10.21101/cejph. a3622.
21. Kyle C, Ewing T, Wu XC, Mercante D, Lifsey D, Meunier C, Jefferson L. et al. Statewide analysis of serum prostate specific antigen levels in Louisiana men without prostate cancer. *J La State Med Soc.* 2004; 156(6):319–323
22. Wu I, Modlin CS. Disparities in prostate cancer in African American men: what primary care physicians can do. *Cleve Clin J Med.* 2012;79(5):313–320. doi: 10.3949/ccjm.79a.11001.
23. Okobia MN, Zmuda JM, Ferrell RE, Patrick AL, Bunker CH. Chromosome 8q24 variants are associated with prostate cancer risk in a high risk population of African ancestry. *Prostate.* 2011;71(10):1054–1063. doi: 10.1002/pros.21320.
24. Mucci L.A., Hjelmborg J.B., Harris J.R., Czene K., Havelick D.J., Scheike T., Graff R.E., Holst K., Moller S., Unger R.H., et al. Familial risk and heritability of cancer among twins in nordic countries. *JAMA.* 2016;315:68–76. doi: 10.1001/jama.2015.17703.
25. Chokkalingam AP, Stanczyk FZ, Reichardt JK, Hsing AW. Molecular epidemiology of prostate cancer: hormone-related genetic loci. *Front Biosci.* 2007;12:3436-3460. doi:10.2741/2325
26. Tan SH, Petrovics G, Srivastava S. Prostate Cancer Genomics: Recent Advances and the Prevailing Underrepresentation from Racial and Ethnic Minorities. *Int J Mol Sci.*

2018;19(4):1255. Published 2018 Apr 22. doi:10.3390/ijms19041255

27. Cooney KA. Inherited Predisposition to Prostate Cancer: From Gene Discovery to Clinical Impact. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2017 ;128:14-23.
28. Mijuskovic M., Saunders E.J., Leongamornlert D.A., Wakerell S., Whitmore I., Dadaev T., Cieza-Borrella C., Govindasami K., Brook M.N., Haiman C.A., et al. Rare germline variants in DNA repair genes and the angiogenesis pathway predispose prostate cancer patients to develop metastatic disease. *Br. J. Cancer.* 2018,;119: 96–104. doi: 10.1038/s41416-018-0141-7
29. Dong JT. Prevalent mutations in prostate cancer. *J Cell Biochem.* 2006; 97(3):433-47. doi: 10.1002/jcb.20696.
30. Seppala E.H., Ikonen T., Mononen N., Autio V., Rokman A., Matikainen M.P., Tammela T.L., Schleutker J. CHEK2 variants associate with hereditary prostate cancer. *Br. J. Cancer.* 2003;89:1966–1970. doi: 10.1038/sj.bjc.6601425.
31. Wang Y, Dai B, Ye D. CHEK2 mutation and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8(9):15708-15715.
32. Yishuo Wu Hongjie Yu S. Lilly Zheng Rong Na Mufaddal Mamawala Tricia Landis Kathleen Wiley Jacqueline Petkewicz Sameep Shah Zhuqing Shi Kristian Novakovic Michael McGuire Charles B. Brendler Qiang Ding Brian T. Helfand H. Ballentine Carter Kathleen A. Cooney William B. Isaacs Jianfeng Xu. A comprehensive evaluation of CHEK2 germline mutations in men with prostate cancer. 2018; 78(8): 607-615.doi: 10.1002/pros.23505
33. Hale V, Weischer M, Park JY. CHEK2 (*) 1100delC Mutation and Risk of Prostate Cancer. *Prostate Cancer.* 2014;2014:294575. doi:10.1155/2014/294575
34. Wu XR. Urothelial tumorigenesis: a tale of divergent pathways. *Nat Rev Cancer.* 2005 Sep;5(9):713-25. doi: 10.1038/nrc1697.
35. Ewing CM, Ray AM, Lange EM, et al. Germline mutations in HOXB13 and prostate-cancer risk. *N Engl J Med.* 2012;366(2):141-149. doi:10.1056/NEJMoa1110000
36. Beebe-Dimmer JL, Hathcock M, Yee C, et al. The HOXB13 G84E Mutation Is Associated with an Increased Risk for Prostate Cancer and Other Malignancies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2015; 24(9):1366-1372. doi:10.1158/1055-9965.EPI-15-0247
37. Chen H, Griffin AR, Wu YQ, Tomsho LP, Zuhlke KA, Lange EM, Gruber SB. et al. RNASEL mutations in hereditary prostate cancer. *J Med Genet.* 2003;40(3):e21doi: 10.1136/jmg.40.3.e21.
38. Malathi K, Dong B, Gale M Jr, Silverman RH. Small self-RNA generated by RNase L amplifies antiviral innate immunity. *Nature.*2007;448(7155): 816-819.doi: 10.1038/nature06042.
39. Urisman A, Molinaro RJ, Fischer N, Plummer SJ, Casey G, Klein EA, Malathi K. et al. Identification of a novel Gammaretrovirus in prostate tumors of patients homozygous for R462Q

- RNASEL variant. *PLoS Pathog.* 2006;2(3):e25. doi: 10.1371/journal.ppat.0020025.
40. Eeles RA, Kote-Jarai Z, Giles GG, Olama AA, Guy M, Jugurnauth SK, Mulholland S. et al. Multiple newly identified loci associated with prostate cancer susceptibility. *Nat Genet.* 2008;40(3):316–321. doi: 10.1038/ng.90.
 41. David G.BostwickLiangCheng. *Neoplasms of the Prostate.* 2020. *Urologic Surgical Pathology (4th Edition).* Chapter 9. Pages 415-525.
 42. Noda D, Itoh S, Watanabe Y, Inamitsu M, Dennler S, Itoh F, Koike S. et al. ELAC2, a putative prostate cancer susceptibility gene product, potentiates TGF-beta/Smad-induced growth arrest of prostate cells. *Oncogene.* 2006;25(41):5591–5600. doi: 10.1038/sj.onc.1209571.
 43. Dong JT. Prevalent mutations in prostate cancer. *J Cell Biochem.* 2006;97(3):433-447. doi:10.1002/jcb.20696
 44. Haraldsdottir S, Hampel H, Wei L, et al. Prostate cancer incidence in males with Lynch syndrome. *Genet Med.* 2014; 16(7):553-557. doi:10.1038/gim.2013.193
 45. Aronson WJ, Barnard RJ, Freedland SJ, Henning S, Elashoff D, Jardack PM, Cohen P. et al. Growth inhibitory effect of low fat diet on prostate cancer cells: results of a prospective, randomized dietary intervention trial in men with prostate cancer. *J Urol.* 2010; 183(1):345–350. doi: 10.1016/j.juro.2009.08.104
 46. Pauwels EK. The protective effect of the Mediterranean diet: focus on cancer and cardiovascular risk. *Med Princ Pract.* 2011;20(2):103–111. doi: 10.1159/000321197
 47. Gibson TM, Ferrucci LM, Tangrea JA, Schatzkin A. Epidemiological and clinical studies of nutrition. *Semin Oncol.* 2010; 37(3):282–296. doi: 10.1053/j.seminoncol.2010.05.011
 48. Sinha R, Park Y, Graubard BI, Leitzmann MF, Hollenbeck A, Schatzkin A, Cross AJ. Meat and meat-related compounds and risk of prostate cancer in a large prospective cohort study in the United States. *Am J Epidemiol.* 2009;170(9):1165–1177. doi: 10.1093/aje/kwp280.
 49. Allen NE, Key TJ, Appleby PN, Travis RC, Roddam AW, Tjonneland A, Johnsen NF. et al. Animal foods, protein, calcium and prostate cancer risk: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Br J Cancer.* 2008; 98(9):1574–1581. doi: 10.1038/sj.bjc.6604331.
 50. Berquin IM, Min Y, Wu R, Wu J, Perry D, Cline JM, Thomas MJ. et al. Modulation of prostate cancer genetic risk by omega-3 and omega-6 fatty acids. *J Clin Invest.* 2007;117(7):1866–1875. doi: 10.1172/JCI31494.
 51. Singh SV, Srivastava SK, Choi S, Lew KL, Antosiewicz J, Xiao D, Zeng Y. et al. Sulforaphane-induced cell death in human prostate cancer cells is initiated by reactive oxygen species. *J Biol Chem.* 2005;280(20):19911–19924. doi: 10.1074/jbc.M412443200
 52. Joseph MA, Moysich KB, Freudenheim JL, Shields PG, Bowman ED, Zhang Y, Marshall JR. et

- al. Cruciferous vegetables, genetic polymorphisms in glutathione S-transferases M1 and T1, and prostate cancer risk. *Nutr Cancer*. 2004;50(2):206–213.doi: 10.1207/s15327914nc5002_11.
53. Handayani R, Rice L, Cui Y, Medrano TA, Samedi VG, Baker HV, Szabo NJ. et al. Soy isoflavones alter expression of genes associated with cancer progression, including interleukin-8, in androgen-independent PC-3 human prostate cancer cells. *J Nutr*. 2006;136(1):75–82. doi: 10.1093/jn/136.1.75.
 54. Beltz LA, Bayer DK, Moss AL, Simet IM. Mechanisms of cancer prevention by green and black tea polyphenols. *Anticancer Agents Med Chem*. 2006;6(5):389–406.doi: 10.2174/187152006778226468.
 55. Platz EA, Giovannucci E. Schottenfeld D, Fraumeni JF Jr. *Cancer epidemiology and prevention*. Oxford University Press. 2006: 1128–1150.
 56. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco smoke and involuntary smoking. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2004;83:1-1438.
 57. Huncharek M, Haddock KS, Reid R, Kupelnick B. Smoking as a risk factor for prostate cancer: a meta-analysis of 24 prospective cohort studies. *Am J Public Health*. 2010;100(4):693–701. doi: 10.2105/AJPH.2008.150508.
 58. Mariana Freitas, Vera Alves, Ana Sarmiento-Ribeiro, Anabela Mota-Pinto. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons May Contribute for Prostate Cancer Progression. *Journal of Cancer Therapy*.2013; 4: 37-46 doi:10.4236/jct.2013.44A005
 59. Doat S, Marous M, Rebillard X, Trétarre B, Lamy PJ, Soares P, Delbos O, Thuret R, Segui B, Cénée S, Menegaux F. Prostatitis, other genitourinary infections and prostate cancer risk: Influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs? Results from the EPICAP study. *Int J Cancer*. 2018; 143(7):1644-1651. doi: 10.1002/ijc.31565.
 60. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S, Xu J, Gronberg H, Drake CG, Nakai Y. et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Rev Cancer*.2007;7(4):256–269.doi: 10.1038/nrc2090.
 61. De Marzo AM, Meeker AK, Zha S, Luo J, Nakayama M, Platz EA, Isaacs WB. et al. Human prostate cancer precursors and pathobiology.*Urology*.2003;62(5):55–62.doi: 10.1016/j.urology.2003.09.053.
 62. Abate-Shen C, Shen MM. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes Dev*.2000, 14(19):2410-34. doi: 10.1101/gad.819500. PMID: 11018010.
 63. Brawer MK. Prostatic intraepithelial neoplasia: an overview. *Rev Urol*. 2005,7 (3): S11-S18.
 64. Baig FA, Hamid A, Mirza T, Syed S. Ductal and Acinar Adenocarcinoma of Prostate: Morphological and Immunohistochemical Characterization. *Oman Med J*. 2015;30(3):162-166. doi:10.5001/omj.2015.36

65. Grignon, D. Unusual subtypes of prostate cancer. *Modern Pathology*. 2004; 17: 17316–327. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800052>
66. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer* . 2016; 16(9):582-98. doi: 10.1038/nrc.2016.73.
67. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(3):178-96. doi: 10.1038/nrm3758.
68. Body JJ, Casimiro S, Costa L. Targeting bone metastases in prostate cancer: improving clinical outcome. *Nat Rev Urol*. 2015;12(6):340-356. doi: 10.1038/nrurol.2015.90
69. Pernar CH, Ebot EM, Wilson KM, Mucci LA. The Epidemiology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018; 8(12): a030361. doi:10.1101/cshperspect.a030361
70. Montironi R, Santoni M, Mazzucchelli R, Burattini L, Berardi R, Galosi AB, Cheng L, Lopez-Beltran A, Briganti A, Montorsi F, Scarpelli M. Prostate cancer: from Gleason scoring to prognostic grade grouping. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2016;16(4):433-440.
71. Montironi R, Santoni M, Mazzucchelli R, Burattini L, Berardi R, Galosi AB, Cheng L, Lopez-Beltran A, Briganti A, Montorsi F, Scarpelli M. Prostate cancer: from Gleason scoring to prognostic grade grouping. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2016;16(4):433-40. doi: 10.1586/14737140.2016.1160780
72. Kweldam CF, van Leenders GJ, van der Kwast T. Grading of prostate cancer: a work in progress. *Histopathology*. 2019;74(1):146-160. doi: 10.1111/his.13767.
73. Chen N, Zhou Q. The evolving Gleason grading system. *Chin J Cancer Res*. 2016;28(1):58-64. doi:10.3978/j.issn.1000-9604.2016.02.04
74. Fine SW, Al-Ahmadie HA, Chen YB, Gopalan A, Tickoo SK, Reuter VE. Comedonecrosis Revisited: Strong Association With Intraductal Carcinoma of the Prostate. *Am J Surg Pathol*. 2018; 42(8):1036-1041. doi: 10.1097/PAS.0000000000001104.
75. Merriel SWD, Funston G, Hamilton W. Prostate Cancer in Primary Care. *Adv Ther*. 2018; 35(9):1285-1294. doi:10.1007/s12325-018-0766-1
76. Harvey CJ, Pilcher J, Richenberg J, Patel U, Frauscher F. Applications of transrectal ultrasound in prostate cancer. *Br J Radiol*. 2012;85(1):S3-S17. doi:10.1259/bjr/56357549
77. Sivaraman A, Bhat KRS. Screening and Detection of Prostate Cancer-Review of Literature and Current Perspective. *Indian J Surg Oncol*. 2017;8(2):160-168. doi:10.1007/s13193-016-0584-3.
78. Wcrf.org.2020.Prostate cancer statistics. [online] Available at: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/prostate-cancer-statistics> [Accessed 20 November 2020].
79. cancerresearchuk.org. 2020. Transrectal ultrasound (TRUS) guided biopsy. [online].Available

- at:<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/prostate-cancer/getting-diagnosed/tests/transrectal-ultrasound-guided-trus-biopsy> [Accessed 20 November 2020].
80. Borley N, Feneley MR. Prostate cancer: diagnosis and staging. *Asian J Androl.* 2009;11(1):74-80. doi:10.1038/aja.2008.19
 81. Cancer.gov. 2020. Prostate Cancer Treatment (PDQ®)–Patient Version. National Cancer Institute. [online]. Available at: <https://www.cancer.gov/types/prostate/patient/prostate-treatment-pdq>. [Accessed 02/12/2020]
 82. Pcf.org. 2020. Prostate Cancer: What Treatment Options Are Available. Prostate Cancer Foundation. [online]. Available at: <https://www.pcf.org/about-prostate-cancer/prostate-cancer-treatment/>. [Accessed 2/12/2020]
 83. Prostatecanceruk.org. 2020. Treatments. [online]. Available at: <https://prostatecanceruk.org/prostate-information/treatments>. [Accessed 2/12/2020]
 84. Murillo-Garzón V, Kypta R. WNT signalling in prostate cancer. *Nat Rev Urol.* 2017;14(11):683-696. doi:10.1038/nrurol.2017.144
 85. Kühl SJ, Kühl M. On the role of Wnt/ β -catenin signaling in stem cells. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(2):2297-2306. doi:10.1016/j.bbagen.2012.08.010
 86. Chesire DR, Isaacs WB. Beta-catenin signaling in prostate cancer: an early perspective. *Endocr Relat Cancer.* 2003 ;10(4):537-60. doi: 10.1677/erc.0.0100537. PMID: 14713266.
 87. Schweizer, M.T., Yu, E.Y. Persistent androgen receptor addiction in castration-resistant prostate cancer. *J Hematol Oncol.* 2015;128 (8). <https://doi.org/10.1186/s13045-015-0225-2>
 88. Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. 1941. *J Urol.* 2002;167(2 Pt 2):948-952.
 89. Hu J, Wang G, Sun T. Dissecting the roles of the androgen receptor in prostate cancer from molecular perspectives. *Tumour Biology.* 2017;39(5). doi:10.1177/1010428317692259
 90. 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(1):3-23. doi:10.1038/aps.2014.18
 91. Ramalingam S, Ramamurthy VP, Njar VCO. Dissecting major signaling pathways in prostate cancer development and progression: Mechanisms and novel therapeutic targets. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2017;166:16-27. doi:10.1016/j.jsbmb.2016.07.006
 92. Suh J, Payvandi F, Edelstein LC, et al. Mechanisms of constitutive NF-kappaB activation in human prostate cancer cells. *Prostate.* 2002;52(3):183-200. doi:10.1002/pros.10082
 93. Bouraoui Y, Ricote M, García-Tuñón I, et al. Pro-inflammatory cytokines and prostate-specific antigen in hyperplasia and human prostate cancer. *Cancer Detect Prev.* 2008;32(1):23-32.

doi:10.1016/j.cdp.2008.02.007

94. Kiu H, Nicholson SE. Biology and significance of the JAK/STAT signalling pathways. *Growth Factors*. 2012;30(2):88-106. doi:10.3109/08977194.2012.660936
95. Ramalingam S, Ramamurthy VP, Njar VCO. Dissecting major signaling pathways in prostate cancer development and progression: Mechanisms and novel therapeutic targets. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;166:16-27. doi:10.1016/j.jsbmb.2016.07.006
96. Canesin G, Krzyzanowska A, Hellsten R, Bjartell A. Cytokines and Janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling in prostate cancer: overview and therapeutic opportunities. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research* 2020;10:36–42. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2020.02.004>.
97. Fresno Vara JA, Casado E, de Castro J, Cejas P, Belda-Iniesta C, González-Barón M. PI3K/Akt signalling pathway and cancer. *Cancer Treat Rev*. 2004;30(2):193-204. doi:10.1016/j.ctrv.2003.07.007
98. Morgan TM, Koreckij TD, Corey E. Targeted therapy for advanced prostate cancer: inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Curr Cancer Drug Targets*. 2009;9(2):237-249. doi:10.2174/156800909787580999
99. Lee SH, Johnson D, Luong R, Sun Z. Crosstalk between androgen and PI3K/AKT signaling pathways in prostate cancer cells. *J Biol Chem*. 2015;290(5):2759-2768. doi:10.1074/jbc.M114.607846
100. Toren P, Zoubeydi A. Targeting the PI3K/Akt pathway in prostate cancer: challenges and opportunities (review). *Int J Oncol*. 2014;45(5):1793-1801. doi:10.3892/ijo.2014.2601
101. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017; 58(5):235-263. doi:10.1002/em.22087
102. Fleck O, Nielsen O. DNA Repair. *Cell Science at a Glance*. *Journal of Cell Science*. 2004;117: 515-517. doi:10.1242/jcs.00952
103. Schärer O. D. Nucleotide excision repair in eukaryotes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2013;5(10), a012609. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012609>
104. Giglia-Mari A., Zotter A., Vermeulen W. DNA damage response. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2011;3:a000745. doi: 10.1101/cshperspect.a000745
105. Said, R., Bougateg, K., Setti Boubaker, N. et al. Polymorphisms in XPC gene and risk for prostate cancer. *Mol Biol Rep*. 2019;46: 1117–1125 <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4572-2>
106. Zou YF, Tao JH, Ye QL, et al. Association of XPC gene polymorphisms with susceptibility to prostate cancer: evidence from 3,936 subjects. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2013;17(12):926-931. doi:10.1089/gtmb.2013.0267

107. Schärer OD. Nucleotide excision repair in eukaryotes. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(10):a012609. doi:10.1101/cshperspect.a012609
108. Ceccaldi R, Rondinelli B, D'Andrea AD. Repair Pathway Choices and Consequences at the Double-Strand Break. *Trends Cell Biol.* 2016; 26(1):52-64. doi:10.1016/j.tcb.2015.07.009
109. Scully R, Panday A, Elango R, Willis NA. DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(11):698-714. doi:10.1038/s41580-019-0152-0
110. Stinson BM, Moreno AT, Walter JC & Loparo JJ Non-homologous end joining minimizes errors by coordinating DNA processing with ligation. *bioRxiv.* 2019. doi:10.1101/563197.
111. Chapman JR, Taylor MR, Boulton SJ. Playing the end game: DNA double-strand break repair pathway choice. *Mol Cell.* 2012; 47(4):497-510. doi:10.1016/j.molcel.2012.07.029
112. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen.* 2017;58(5):235-263. doi:10.1002/em.22087
113. Brandsma I, Gent DC. Pathway choice in DNA double strand break repair: observations of a balancing act. *Genome Integr.* 2012;3(1):9. doi:10.1186/2041-9414-3-9
114. Lahtz C, Pfeifer GP. Epigenetic changes of DNA repair genes in cancer. *J Mol Cell Biol.* 2011;3(1):51-58. doi:10.1093/jmcb/mjq053
115. Deng N, Zhou H, Fan H, Yuan Y. Single nucleotide polymorphisms and cancer susceptibility. *Oncotarget.* 2017; 8(66):110635-110649. doi:10.18632/oncotarget.22372
116. Robert F, Pelletier J. Exploring the Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms on Translation. *Front Genet.* 2018;9:507. doi:10.3389/fgene.2018.00507
117. Fan, R., Kumaravel, T. S., Jalali, F., Marrano, P., Squire, J. A., & Bristow, R. G. Defective DNA strand break repair after DNA damage in prostate cancer cells: implications for genetic instability and prostate cancer progression. *Cancer research.* 2004;64(23),8526–8533. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1601>
118. Jurgen A. Marteijn, Hannes Lans, Wim Vermeulen, Jan H. J. Hoeijmakers. Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. *Nature Reviewn. Molecular Cell Biology.*2014;15: 465-481. doi:10.1038/nrm3822
119. Liu Y, Wang H, Lin T, Wei Q, Zhi Y, Yuan F, Song B, Yang J, Chen Z .Interactions between cigarette smoking and XPC-PAT genetic polymorphism enhance bladder cancer risk. *Oncol Rep.*2012;28(1):337–345. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1759>
120. Mandal, R. K., Gangwar, R., Kapoor, R., & Mittal, R. D. Polymorphisms in base-excision & nucleotide-excision repair genes & prostate cancer risk in north Indian population. *The Indian*

- journal of medical research.2012; 135(1), 64–71. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.93426>
121. Zhihua Kang , Qingyuan Yang, Yintao Li. Editorial DNA Repair in Cancer. Hindawi Journal of Oncology. 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8676947>
 122. Nikolaev, A., & Yang, E. S. The Impact of DNA Repair Pathways in Cancer Biology and Therapy. *Cancers*.2017;9(9):126. <https://doi.org/10.3390/cancers9090126>
 123. Jiang X, Zhou L-t, Zhang S-c, Chen K. XPC polymorphism increases risk of digestive system cancers: current evidence from A meta-analysis. *Chin J Cancer Res*.2012;24(3):181–189. <https://doi.org/10.1007/s11670-012-0181-0>
 124. Yan Y, Xu J, Xu B, et al. Effects of Xeroderma pigmentosum group C polymorphism on the likelihood of prostate cancer. *J Clin Lab Anal*. 2020;34(9):e23403. doi:10.1002/jcla.23403
 125. Qin, Feng MD,Gao, Sheng-Lin MD ,Xu, Kai MD,Su, Quan-Xin MD,Zhang, Ze MD ,Shi, Li MD; Zhu, Li-Jie MD, Zhang, Li-Feng MD,Zuo, Li MD. XPC exon15 Lys939Gln variant increase susceptibility to prostate adenocarcinoma. *Medicine*.2020;99(28).doi: 10.1097/MD.00000000000021160
 126. Zou, Y.F., Tao, J.H., Ye,Q.L.,Pan, H.F.,Pan,,M.,Su,H.,Ye, D.Q. Association of XPC gene polymorphisms with susceptibility to prostate cancer: evidence from 3,936 subjects. *Genetic testing and molecular biomarkers*.2013; 17(12): 926-931. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2013.0267>
 127. Said, R., Bougatef, K., Setti Boubaker, N. et al. Polymorphisms in XPC gene and risk for prostate cancer. *Mol Biol Rep*. 2019;46:1117–1125. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4572-2>
 128. Yang Liu, Zhiwen Chen, Quanfang Wei, Fang Yuan, Yi Zhi, Bo Song, Jin Yang,Poly (AT) polymorphism in the XPC gene and smoking enhance the risk of prostate cancer in a low-risk Chinese population. *Cancer Genetics*. 2012;205(5):205-211. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2012.01.013>.
 129. Kahnamouei SA, Narouie B, Sotoudeh M, et al. Association of XPC Gene Polymorphisms with Prostate Cancer Risk. *Clin Lab*. 2016;62(6):1009-1015. doi:10.7754/clin.lab.2015.150914
 130. Said R, Bougatef K, Setti Boubaker N, Jenni R, Derouiche A, Chebil M, Ouerhani S. Polymorphisms in XPC gene and risk for prostate cancer. *Mol Biol Rep*. 2019, 46(1):1117-1125. doi: 10.1007/s11033-018-4572-2.
 131. Yoshino, Y., Takeuchi, S., Katoh, T. et al. XPC intron11 C/A polymorphism as a risk factor for prostate cancer. *Environ Health Prev Med*.2016;21:100–104. <https://doi.org/10.1007/s12199-015-0505-z>
 132. Mirecka A, Paszkowska-Szczur K, Scott RJ, Gorski B, van de Wetering T, Wokolorczyk D, Gromowski T, Serrano-Fernandez P, Cybulski C, Kashyap A, Gupta S, Golab A, Slojewski M,

- Sikorski A, Lubinski J, Debniak T. Common variants of xeroderma pigmentosum genes and prostate cancer risk. *Gene*.2014;546(2):156–161. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.06.026>
133. Liao, SG., Liu, L., Wang, Y. et al. XPD Asp312Asn polymorphism is a risk factor for prostate cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*.2012;138:1689–1695. <https://doi.org/10.1007/s00432-012-1246-7>
134. Qingtong Ma, Can Qi, Chong Tie, Zhanjun Guo. Genetic polymorphisms of xeroderma pigmentosum group D gene Asp312Asn and Lys751Gln and susceptibility to prostate cancer: A systematic review and meta-analysis, *Gene*.2013;530(2):309-314. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.08.053>.
135. Mi Y, Zhang L, Feng N, Wu S, You X, et al. Impact of Two Common Xeroderma Pigmentosum Group D (XPD) Gene Polymorphisms on Risk of Prostate Cancer. *PLOS ONE*.2012;7(9):e44756. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044756>
136. Fu W, Xiao F, Zhang R, et al. Association Between the Asp312Asn, Lys751Gln, and Arg156Arg Polymorphisms in XPD and the Risk of Prostate Cancer. *Technol Cancer Res Treat*. 2017;16(6):692-704. doi:10.1177/1533034617724678
137. Liu J, Zheng B, Li Y, Yuan Y, Xing C. Genetic Polymorphisms of DNA Repair Pathways in Sporadic Colorectal Carcinogenesis. *J Cancer*. 2019;10(6):1417-1433. doi:10.7150/jca.28406
138. Gildemeister OS, Sage JM, Knight KL. Cellular redistribution of Rad51 in response to DNA damage: novel role for Rad51C. *J Biol Chem*. 2009;284(46):31945-31952. doi:10.1074/jbc.M109.024646
139. Maria Nowacka-Zawisza, Agata Raszkievicz, Tomasz Kwasiborski, Ewa Forma, Magdalena Bryś, Waldemar Róžański, Wanda M. Krajewska. "RAD51 and XRCC3 Polymorphisms Are Associated with Increased Risk of Prostate Cancer", *Journal of Oncology*.2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2976373>
140. Han, S., Zhang, HT., Wang, Z. et al. DNA repair gene XRCC3 polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 48 case–control studies. *Eur J Hum Genet*.2006;14:1136–1144. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201681>
141. Yan Y, Liang H, Li T, et al. Association of XRCC3 Thr241Met polymorphism and leukemia risk: evidence from a meta-analysis. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(9):2130-2134. doi:10.3109/10428194.2013.853303
142. Gao Xuan, Ying Hui ,He Fang. The association of XRCC3 Thr241Met genetic variant with risk of prostate cancer: a meta-analysis. *African Health Sciences*. 2015;15(1).doi: <http://dx.doi.org/10.4314/ahs.v15i1.16>
143. Nowacka- Zawiska M, Wisnik E, Wasilewski A, Skowronska M, Forma E, Brys M, Rozanski

- W, Krajewska M.W. Polymorphisms of Homologous Recombination RAD51, RAD51B, XRCC2, and XRCC3 Genes and the Risk of Prostate Cancer. Hindawi Publishing Corporation Analytical Cellular Pathology. 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/828646>
144. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424. doi:10.3322/caac.21492
 145. Ferlay J, Ervik M, Lam F, et al., (2018). Global cancer observatory: cancer today, International Agency for Research on Cancer Lyon, France https://gco.iarc.fr/today_2018
 146. 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(1):25-34.
 147. Beltran H, Yelensky R, Frampton GM, et al. Targeted next-generation sequencing of advanced prostate cancer identifies potential therapeutic targets and disease heterogeneity. *Eur Urol.* 2013;63(5):920-926. doi:10.1016/j.eururo.2012.08.053
 148. Mateo J, Boysen G, Barbieri CE, et al. DNA Repair in Prostate Cancer: Biology and Clinical Implications. *Eur Urol.* 2017;71(3):417-425. doi:10.1016/j.eururo.2016.08.037
 149. Goodwin JF, Schiewer MJ, Dean JL, et al. A hormone-DNA repair circuit governs the response to genotoxic insult. *Cancer Discov.* 2013;3(11):1254-1271. doi:10.1158/2159-8290.CD-13-0108
 150. Dellis A., Zagouri F., Lontos M., Mitropoulos D., Bamias A., et al.. Hellenic Genito-Urinary Cancer Group (HCUCG), *Cancer Treatment Reviews.*2019;73:54-61 <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.11.005>
 151. Said, R., Bougatef, K., Boubaker, NS., Jenni, R., Derouiche, A., Chebil, M., Ouerhani, S. Polymorphisms in XPC gene and risk for prostate cancer, *Molecular Biology Reports.* 2019;46(1):1117-1125. doi: 10.1007/s11033-018-4572-2
 152. Dai QS, Hua RX, Zhang R, et al. Poly (AT) deletion/insertion polymorphism of the XPC gene contributes to urinary system cancer susceptibility: a meta-analysis. *Gene.* 2013;528(2):335-342. doi:10.1016/j.gene.2013.06.092
 153. Liu Y, Hu Y, Zhang M, Jiang R, Liang C. Polymorphisms in ERCC2 and ERCC5 and Risk of Prostate Cancer: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Cancer.* 2018;9(16):2786-2794. Published 2018 Jul 16. doi:10.7150/jca.25356
 154. Baccarelli A, Calista D, Minghetti P, et al. XPD gene polymorphism and host characteristics in the association with cutaneous malignant melanoma risk. *Br J Cancer.* 2004;90(2):497-502. doi:10.1038/sj.bjc.6601385
 155. Rybicki BA, Conti DV, Moreira A, Cicek M, Casey G, Witte JS. DNA repair gene XRCC1 and

- XPD polymorphisms and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(1):23-29. doi:10.1158/1055-9965.epi-03-0053
156. Ma Q, Qi C, Tie C, Guo Z. Genetic polymorphisms of xeroderma pigmentosum group D gene Asp312Asn and Lys751Gln and susceptibility to prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gene.* 2013;530(2):309-314. doi:10.1016/j.gene.2013.08.053
157. Xiao F, Pu J, Wen Q, et al. Association between the ERCC2 Asp312Asn polymorphism and risk of cancer. *Oncotarget.* 2017;8(29):48488-48506. doi:10.18632/oncotarget.17290
158. Agalliu I, Kwon EM, Salinas CA, Koopmeiners JS, Ostrander EA, Stanford JL. Genetic variation in DNA repair genes and prostate cancer risk: results from a population-based study. *Cancer Causes Control.* 2010;21(2):289-300. doi:10.1007/s10552-009-9461-5
159. Huang J, Liu X, Tang LL, et al. XPG gene polymorphisms and cancer susceptibility: evidence from 47 studies. *Oncotarget.* 2017;8(23):37263-37277. doi:10.18632/oncotarget.16146
160. Wang M, Li Q, Gu C, et al. Polymorphisms in nucleotide excision repair genes and risk of primary prostate cancer in Chinese Han populations. *Oncotarget.* 2017;8(15):24362-24371. doi:10.18632/oncotarget.13848
161. Cypriano AS, Alves G, Ornellas AA, et al. Relationship between XPD, RAD51, and APEX1 DNA repair genotypes and prostate cancer risk in the male population of Rio de Janeiro, Brazil. *Genet Mol Biol.* 2017;40(4):751-758. doi:10.1590/1678-4685-GMB-2017-0039
162. Balkan E, Bilici M, Gundogdu B, Aksungur N, Kara A, Yasar E, Dogan H, Ozturk G. ERCC2 Lys751Gln rs13181 and XRCC2 Arg188His rs3218536 Gene Polymorphisms Contribute to Susceptibility of Colon, Gastric, HCC, Lung And Prostate Cancer. *J BUON.* 2020 ;25(1):574-581. PMID: 32277685.
163. Ritchey, J.D., W.Y. Huang, A.P. Chokkalingam, Y.T. Gao, J. Deng, P. Levine, F.Z. Stanczyk, and A.W. Hsing. Genetic variants of DNA repair genes and prostate cancer: a population-based study, *Cancer Epidemiology Biomarkers.*,2005;14:1703–9
164. Xuan G, Hui Y, Fang H. The association of XRCC3 Thr241Met genetic variant with risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Afr Health Sci.* 2015;15(1):117-122. doi:10.4314/ahs.v15i1.16