

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

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 προδιάθεσης για καρκίνο του
προστάτη

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΝΑ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

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

ΛΑΡΙΣΑ
Δεκέμβριος 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**
(Επιβλέπων) **Σαμαρά Μαρία**
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής με έμφαση στη
Μοριακή Ιστοπαθολογία, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 2^{ος} Εξεταστής**
(Σύμβουλος) **Σάτρα Μαρία**
Ε.ΔΙ.Π. Βιολογίας-Μοριακής Βιολογίας, Εργαστήριο Βιολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 3^{ος} Εξεταστής**
(Μέλος) **Αλέξανδρος Δαπόντε,**
Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Βιολογία της Αναπαραγωγής - Βιοδείκτες στη Μαιευτική και Γυναικολογία - Περιγεννητική Ιατρική στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά το ακαδημαϊκό έτος 2021. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα της παρούσας εργασίας και μέλος της τριμελούς επιτροπής, κ. Σαμαρά Μαρία, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για την ανάθεση της συγκεκριμένης εργασίας. Πάντοτε ήταν πρόθυμη για συζήτηση και εύρεση λύσεων σε προβλήματα που προκύπταν κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων. Η γενικότερη στάση και αντιμετώπισή της και η αγάπη της για το συγκεκριμένο αντικείμενο δημιουργούσε ένα ευχάριστο και άνετο κλίμα. Θα ήθελα, επίσης, να απευθύνω ιδιαίτερες ευχαριστίες και στα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής, την κ. Σάτρα Μαρία και τον κ. Δαπόντε Αλέξανδρο, για το χρόνο που αφιέρωσαν και τις πολύτιμες συμβουλές τους, ώστε να προκύψει ένα άρτιο αποτέλεσμα. Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στις υποψήφιες διδάκτορες Αναγνώστου Μαρία και Παπαθανασίου Μαρία, οι οποίες με καθοδήγησαν σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες μέχρι το τέλος της διπλωματικής μου. Μεγάλο μέρος όσων έχω μάθει οφείλεται πραγματικά στις γνώσεις που μου μετέδωσαν το χρονικό διάστημα που βρισκόμουν στο εργαστήριο. Επιπλέον, θα ήθελα να εκφράσω ξανά τις ευχαριστίες μου στον Διευθυντή του Μεταπτυχιακού Προγράμματος, κ. Δαπόντε Αλέξανδρο, καθώς και σε όλους τους καθηγητές του προγράμματος για τις γνώσεις που μας μετέδωσαν. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω πολύ την οικογένεια μου για την στήριξη και τη συμπαράσταση που μου προσέφεραν όλο αυτό το χρονικό διάστημα, ώστε να φτάσω στην επιτυχή ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Παπαδοπούλου Μαρίνα

«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ-ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑ-ΠΕΡΙΓΕΝΝΗΤΙΚΗ ΙΑΤΡΙΚΗ»

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ 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 :

Δαπόντε Αλέξανδρος

Καθηγητής Μαιευτικής και Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Περίληψη

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί τη δεύτερη συχνότερη κακοήθεια στους άνδρες και έκτη 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. Πολυμορφισμοί στα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σημαντικές για τη φυσιολογική λειτουργία του προστάτη επηρεάζουν την έκφρασή τους και συμβάλλουν στην καρκινογένεση. Υπάρχει μεγάλη γεωγραφική ετερογένεια και αποκλίνοντα ευρήματα. Αναλύσαμε 49 ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και 29 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου) για τους πολυμορφισμούς rs4242382, rs1447295 και rs2735839 των ρυθμιστικών περιοχών 8q24 και 19q13 και εξετάσαμε την πιθανή συσχέτισή τους με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη σε Έλληνες ασθενείς. Απομονώσαμε γενωμικό DNA από περιφερικό αίμα κι ακολούθησε T-ARMS-PCR και ανάλυση των γονοτύπων με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης. 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 την chi-square δοκιμασία ($p < 0.05$, 95% CI). Η παρουσία του C αλληλομόρφου του rs1447295 σε ομόζυγη μορφή ανέδειξε μία στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη ($p < 0.05$). Δεν αναδείχθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ του κινδύνου εμφάνισης της νόσου και των πολυμορφισμών rs2735839 και rs4242382. Οι τιμές του PSA σε περιορισμένο αριθμό των ασθενών της μελέτης δεν επέτρεψαν 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.

Summary

Prostate cancer is the second most common malignancy in men and sixth most common cause of death among cancers. About 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 genes coding for important proteins for prostate's physiological function affect protein expression and contribute to carcinogenesis. Geographical heterogeneity is high, leading to diverse research findings. We analyzed 49 patients with prostate cancer and 29 healthy individuals (control group) for the rs4242382, rs1447295 and rs2735839 SNPs of the 8q24 and 19q13 loci and we investigated their association with the risk of prostate cancer development in Greek patients. DNA extraction from peripheral blood was performed, followed by T-ARMS-PCR and product gel electrophoresis analysis towards genotype identification. 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). The rs1447295 CC homozygous genotype showed a statistically significant correlation for prostate cancer development ($p < 0.05$). No statistically significant correlation for the risk of prostate cancer development and the distribution of rs2735839 and rs4242382 was observed. Restrictions on PSA levels data availability didn't allow for further correlations. Correlations of the three 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.

Πίνακας περιεχομένων

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
1. ΠΡΟΣΤΑΤΗΣ ΑΔΕΝΑΣ.....	12
1.1. Ανατομία προστάτη αδένος.....	13
1.2. Ιστολογία προστάτη αδένος	16
1.3. Εμβρυολογία προστάτη αδένος.....	18
1.4. Φυσιολογία προστάτη αδένος	19
2. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ.....	21
2.1 Επιδημιολογικά στοιχεία.....	21
2.2 Παράγοντες κινδύνου.....	23
2.2.1. Ενδογενείς παράγοντες κινδύνου	24
2.2.2. Εξωγενείς παράγοντες κινδύνου	25
2.3 Ταξινόμηση του καρκίνου του προστάτη	26
2.3.1 Σύστημα Ταξινόμησης TNM	30
2.3.2 Βαθμός διαφοροποίησης κατά Gleason (Gleason score)	33
2.4 Προσυμπτωματικός έλεγχος για τον καρκίνο του προστάτη	35
2.4.1 Πληθυσμιακός έλεγχος για καρκίνο του προστάτη.....	35
2.5. Διαγνωστικές εξετάσεις	37
2.5.1. Εξέταση PSA και free PSA ορού αίματος	37
2.5.2. Ορθική εξέταση (Digital rectal examination - DRE).....	37
2.5.3. Δοκιμασίες ανίχνευσης βιοδεικτών (biomarker tests).....	38
2.5.4. Βιοψία	39
3 ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ.....	41
3.1 Καρκινογένεση στον προστάτη αδένος	41
3.3 Κληρονομικός καρκίνος του προστάτη	43
3.4. Γενετικοί τόποι υπεύθυνοι για τον καρκίνο του προστάτη	44
3.4.1. Χρωμοσωμική θέση 8q24.....	44
3.4.2 Χρωμοσωμική θέση 19q13.....	46
4 ΣΚΟΠΟΣ	48
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	49
5 ΥΛΙΚΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	49
5.1 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΑΙΜΑ ΥΓΙΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ	49
5.2 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA	50
5.2.1 Φωτομέτρηση.....	50

5.2.2	Ηλεκτροφόρηση των απομονωθέντων δειγμάτων γενωμικού DNA.....	50
5.2.3	Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης	51
5.3	ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (Polymerase Chain Reaction, PCR). ..	52
5.3.1	Αρχή Λειτουργίας	52
5.3.2	Amplification-Refractory Mutation System (ARMS) PCR	53
5.4	ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΩΝ PCR ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ	58
6	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	59
7	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	72
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	77

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το γεννητικό σύστημα το άρρενος ατόμου αποτελείται από τους όρχεις, το όσχεο, το πέος, τον σπερματικό πόρο, τον προστάτη αδένα, την επιδιδυμίδα, τη σπερματοδόχο κύστη, τον εκσπερματικό πόρο και τους βολβουρηθραίους αδένες (Εικόνα 1).

Οι *όρχεις* έχουν ωοειδές σχήμα. Εντοπίζονται εντός του όσχεου, μαζί με την επιδιδυμίδα, τα σπερματικά σωληνάκια του όρχεος και το σπερματικό πόρο και αποτελούν τους αδένες του φύλου.

Το *όσχεο* αποτελεί έναν λεπτό μυώδη σάκο, ο οποίος κρέμεται από το ηβικό οστό. Είναι ευαίσθητος στη θερμοκρασία, στην πίεση, στην αφή και στον πόνο.

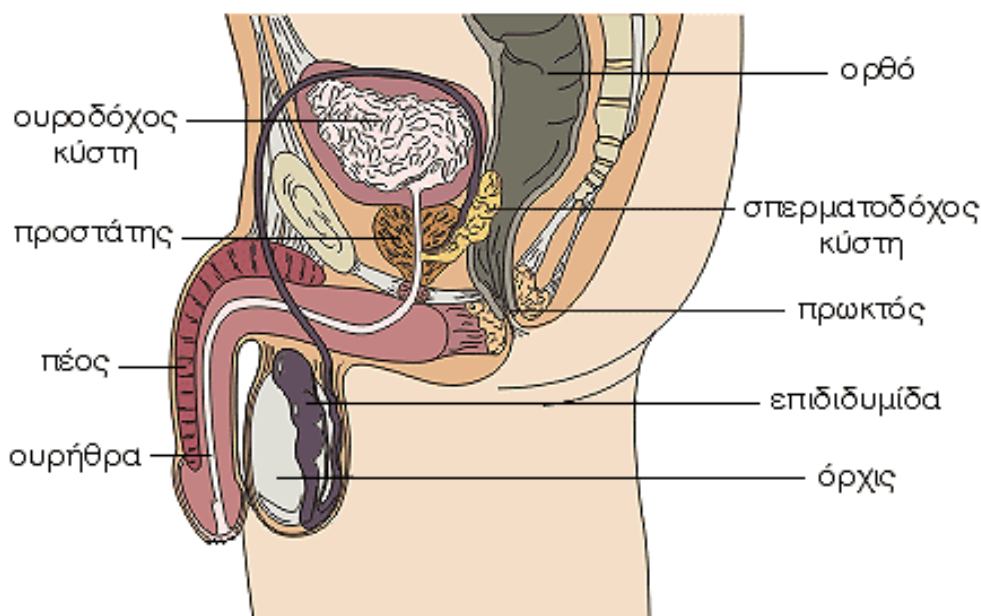
Το *πέος* είναι ένα κυλινδρικό σφραγγώδες όργανο. Καλύπτεται από λεπτό δέρμα και αποτελείται από τρεις στήλες στυτικού ιστού. Το πέος και το όσχεο αποτελούν τα εξωτερικά γεννητικά όργανα του άρρενος ατόμου.

Οι *βολβουρηθραίοι αδένες* (αδένες του Cowper) είναι μικροί αδένες σε σχήμα μπιζελιού, που εντοπίζονται στη ρίζα του πέους στην αρχή της υμενώδους ουρήθρας

Ο *σπερματικός πόρος* είναι ένας μυώδης σωλήνας, ο οποίος συνδέεται με την επιδιδυμίδα.

Η *ουρήθρα* περνά από το κέντρο του προστάτη αδένα, ο οποίος την περικλείει και δρα ως σφιγκτήρας για την εγκράτεια των ούρων.

Ο *προστάτης αδένας* είναι ένα μικρό όργανο που περιβάλλει την ουρήθρα και τους *εκσπερματικούς πόρους*. Αναπτύσσεται κατά την εφηβεία και συνεχίζει να μεγαλώνει καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του άρρενος ατόμου. Πήρε το όνομα του από τη θέση που βρίσκεται (προΐσταται, δηλαδή βρίσκεται μπροστά και κάτω από την ουροδόχο κύστη), καθώς βρίσκεται πίσω από την ηβική σύμφυση και μπροστά από το κατώτερο τμήμα του παχέος εντέρου (Gartner, 4η έκδοση Ιστολογία).



Εικόνα 1. Γεννητικό σύστημα άρρενος ατόμου. Πηγή: <https://www.care.gr/post/74/gennitika-organa-tou-andra>

1. ΠΡΟΣΤΑΤΗΣ ΑΔΕΝΑΣ

Ο προστάτης αδένας είναι ένα όργανο μεγέθους καρυδιού, στη βάση της ουροδόχου κύστης. Αποτελεί τον μεγαλύτερο επικουρικό αδένά του άρρενος αναπαραγωγικού συστήματος και περιβάλλει την ουρήθρα και τους εκσπερματικούς πόρους. Βρίσκεται πίσω από τη σύμφυση, στην πρόσθια πλευρά του ηβικού οστού και κάτω από την ουροδόχο κύστη, επιτρέποντας έτσι την εξέταση με ψηφιακή ψηλάφηση. Το σχήμα του περιγράφεται ως “ανάποδο κάστανο”, σχήμα επιπεδωμένου και ανεστραμμένου κώνου και περιβάλλει την εγγύς ουρήθρα καθώς εξέρχεται από την ουροδόχο κύστη.

Αποτελείται από μία βάση, μία κορυφή, την πρόσθια, την οπίσθια και την κατώτερη πλευρική επιφάνεια. Η βάση είναι προσαρτημένη στον αυχένα της ουροδόχου κύστης και η προστατική ουρήθρα εισέρχεται στη μέση της κοντά στην πρόσθια επιφάνεια, η οποία είναι στενή και κυρτή. Η κορυφή στηρίζεται στην ανώτερη επιφάνεια του ουρογεννητικού διαφράγματος και έρχεται σε επαφή με τη μεσαία επιφάνεια των μυών. Η οπίσθια επιφάνεια είναι τριγωνική και επίπεδη και στηρίζεται στον πρόσθιο τοίχο του ηβικού οστού. Η κατώτερη-πλευρική επιφάνεια ενώνει την πρόσθια επιφάνεια με τον ανελκτήρα μυ του πρωκτού. Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Lowsley, ο προστάτης αδένας χωρίζεται σε 5 κύριους και 2 επικουρικούς λοβούς (Lowsley, 1930):

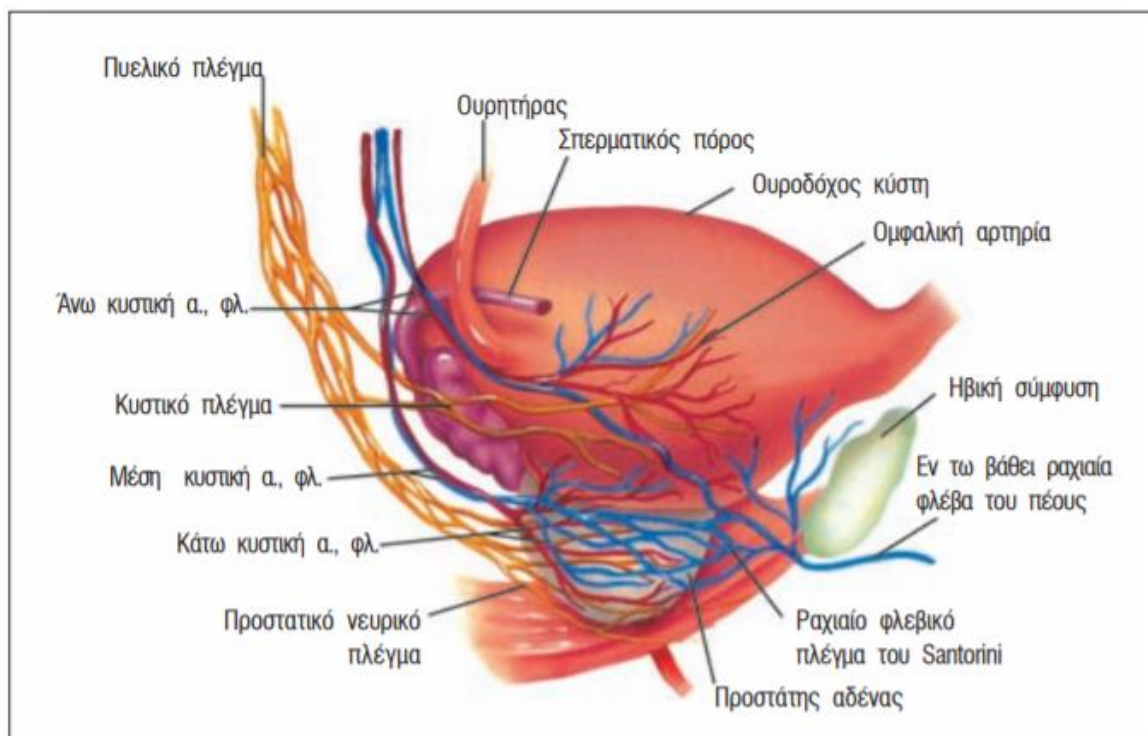
- Ο πρόσθιος λοβός, που βρίσκεται μεταξύ της πρόσθιας επιφάνειας του αδένου και της ουρήθρας.
- Ο μέσος λοβός, εντοπίζεται μεταξύ της ουρήθρας και των εκσπερματικών πόρων.
- Ο οπίσθιος λοβός, μεταξύ των εκσπερματικών πόρων και της οπίσθιας επιφάνειας του αδένου.
- Οι δυο πλάγιοι λοβοί εμφανίζονται στα πλάγια της ουρήθρας.
- Οι δυο επικουρικοί λοβοί, που ουσιαστικά δεν υφίστανται στους ενήλικες, είναι ο υποτραχηλικός και ο υποτριγωνικός λοβός (**ΠΑΡΑΝΥΧΙΑΝΑΚΗΣ, ΣΚΡΕΠΕΤΗΣ, 2006**)

1.1. Ανατομία προστάτη αδένου

Ο ανθρώπινος προστάτης αποτελείται από αδενικά και στρωματικά στοιχεία, τα οποία περιβάλλονται από κάψα. Το αδενικό στοιχείο καταλαμβάνει περίπου τα 2/3 του προστάτη, ενώ το υπόλοιπο 1/3 είναι το ινομυώδες στρώμα. Η ινώδης κάψα του προστάτη αδένου αποτελείται από αγγειοβριθή, πυκνό ακανόνιστο, κολλαγόνο συνδετικό ιστό, με διάσπαρτα λεία μυϊκά κύτταρα, που συνδέονται με τη μυϊκή στιβάδα της προστατικής ουρήθρας. (Lee, Akin-Olugbade, and Kirschenbaum 2011).

Ο προστάτης έχει πλούσια νεύρωση. Η νεύρωση αποτελείται από συμπαθητικές νευρικές απολήξεις, οι οποίες προέρχονται από τα κάτω υπογάστρια και παρασυμπαθητικές νευρικές απολήξεις, οι οποίες προέρχονται από τα πνευλικά σπλαχνικά νεύρα. Οι αυτόνομες ίνες του πνευλικού πλέγματος σχηματίζουν το προστατικό πλέγμα, λίγο πριν εισέλθουν στον αδένου, ενώ ένα μεγάλο μέρος τους σχηματίζει τμήμα των αγγειονευρωδών δεματίων. Τα τελευταία πορεύονται στα οπισθοπλάγια τμήματα του αδένου και καταλήγουν στα σπυραγώδη νεύρα, οι ίνες των οποίων ευθύνονται για την έναρξη της διαδικασίας της στύσης (**Αναγνώστου et al, 2009**).

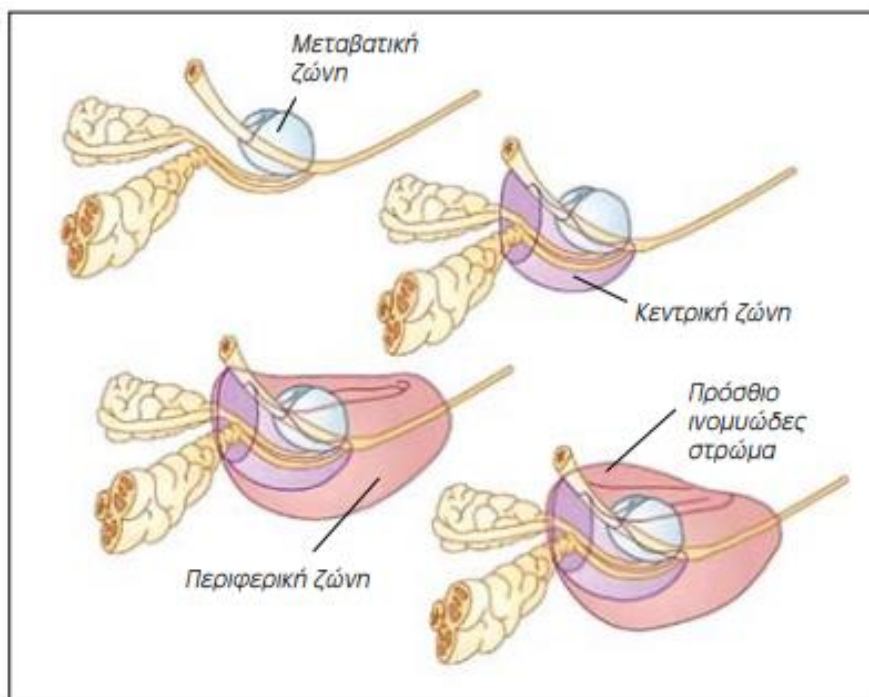
Η αρτηριακή αγγείωση του προστάτη αδένου προέρχεται από την κάτω κυστική αρτηρία, κύριοι κλάδοι της οποίας είναι οι ουρηθραίες αρτηρίες και οι αρτηρίες της κάψας. Αρτηριακή παροχή προς τον προστάτη προσφέρουν επίσης οι έσω αιδοϊκές και οι μέσες αιμορροϊδικές αρτηρίες. Η φλεβική αποχέτευση επιτυγχάνεται μέσω του περιπροστατικού φλεβικού πλέγματος που συνδέεται με την εν τω βάθει ραχιαία φλέβα του πέους και τις έσω λαγόνιες φλέβες. Η λεμφική αποχέτευση γίνεται κυρίως προς τους έσω λαγόνιους και θυροειδείς λεμφαδένες (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Αγγείωση και νεύρωση του προστάτη αδένος. Πηγή: Ανατομία του ουροποιογεννητικού συστήματος, Θ.Γ. Αναγνώστου, Μ.Δ. Μελέκος).

Αρκετοί ερευνητές, κατά τη διάρκεια του εικοστού αιώνα, υποστήριξαν ότι ο αδένος του προστάτη αποτελείται από λοβούς, εικόνα ανάλογη με αυτή των ζώων που είχαν παρατηρήσει στα εργαστήρια (**Lowsley, 1912; Franks 1954**). Αν και δεν υπάρχουν διακριτοί λοβοί στον προστάτη αδένος του ανθρώπου, ωστόσο η έννοια αυτή έγινε δημοφιλής. Μεταγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι ο προστάτης έχει διακριτές περιοχές με σαφή χαρακτηριστικά και εισήγαγαν την έννοια των ζωνών για τις περιοχές αυτές. Η πρώτη αναφορά για ζώνες έγινε το 1960, όμως δεν έτυχε ευρείας αποδοχής, καθώς οι απεικονιστικές μέθοδοι δεν είχαν τότε σημειώσει πρόοδο και κλινικά οι ζώνες δε διαχωρίζονταν σαφώς. Ο όρος επανήλθε στα τέλη του 1980, από τον McNeal (**McNeal, 1986**).

Σύμφωνα με τον McNeal, ο προστάτης αδένος αποτελείται από τρεις ζώνες: Ο προστάτης, ειδικότερα χωρίζεται σε 3 ζώνες: την κεντρική ζώνη (ΚΖ), τη μεταβατική ζώνη (ΜΖ) και την περιφερική ζώνη (ΠΖ) και το πρόσθιο ινομυώδες σώμα. Οι ζώνες αυτές έχουν διαφορετική εμβρυολογική προέλευση και μπορούν να διακριθούν με βάση τα ανατομικά τους χαρακτηριστικά, το βιολογικό τους ρόλο και την ευαισθησία τους σε παθολογικές διαταραχές (**Lee, Akin-Olugbade, and Kirschenbaum 2011**).



Εικόνα 3. Βασικές ανατομικές ζώνες του προστάτη αδένος. Ανατομικά, ο προστάτης αδένος διαιρείται κατά McNeal σε τέσσερις βασικές ανατομικές περιοχές/ζώνες: την κεντρική (μωβ χρώμα), την περιφερική (ροζ χρώμα), την μεταβατική/περιουρηθρική (γαλάζιο χρώμα) και το πρόσθιο ινομυώδες στρώμα (ροζ χρώμα) όπως υποδεικνύονται στην εικόνα. Πηγή: https://www.iatrikionline.gr/url_42/2.pdf.

Κεντρική ζώνη (ΚΖ): Οριοθετείται στη βάση του προστάτη αδένος. Βρίσκεται μεταξύ της περιφερικής και της μεταβατικής ζώνης και αποτελείται κατά 25% από αδενικό στοιχείο.

Μεταβατική ζώνη (ΜΖ): Περιβάλλει την ουρήθρα και δίνει γένεση στην υπερτροφία του προστάτη αδένος. Πρόκειται φυσιολογικά για το μικρότερο κομμάτι του αδένος, της τάξης του 5%, ωστόσο, κατά την υπερτροφία πιέζει τα υπόλοιπα μέρη ώστε αυτά να ατροφήσουν.

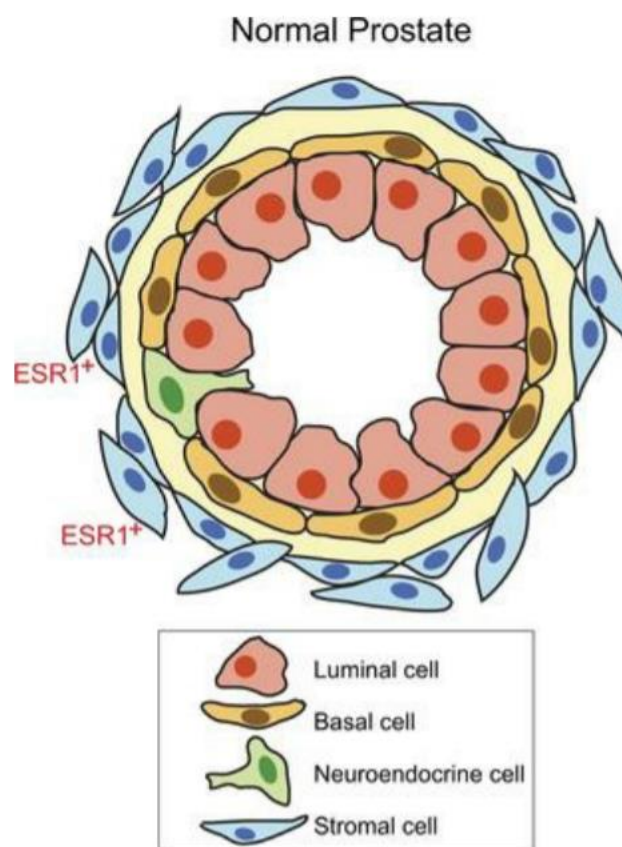
Περιφερική ζώνη (ΠΖ): Είναι η μεγαλύτερη ζώνη και αποτελείται από αδενικό στοιχείο σε ποσοστό της τάξης του 70% και λείες μυϊκές ίνες. Αποτελεί την κατεξοχήν περιοχή ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη και χρόνιων φλεγμονών.

Πρόσθιο ινομυώδες στρώμα: Καλύπτει την πρόσθια επιφάνεια του προστάτη και στερείται πλήρως αδενικού στοιχείου. Έχει άμεση συνέχεια με την κάψα του προστάτη και την πρόσθια περιοχή του έσω σφιγκτήρα. Διηθείται σπάνια από καρκινώματα. Αποτελείται από ελασίνη, κολλαγόνο, λείες και γραμμωτές μυϊκές ίνες. Περιέχει επίσης ίνες συνδετικού ιστού που γίνονται πυκνότερες πέραν του λοφιδίου. Η περιοχή στενεύει στα όρια του λοφιδίου και λεπταίνει καθώς πλησιάζει στην κορυφή του αδένος (Εικόνα 3).

1.2. Ιστολογία προστάτη αδένος

Ο προστάτης αδένος αποτελεί συνάθροιση 30-50 σύνθετων σωληνοκυψελοειδών αδένων. Διατάσσεται σε τρεις διακριτές, συγκεντρικές στιβάδες: τη βλεννογόνια, την υποβλεννογόνια και την κύρια στιβάδα. Κάθε σωληνοκυψελοειδής αδένος διαθέτει το δικό του εκφορητικό πόρο, που διοχετεύει το εκκριτικό προϊόν στην προστατική ουρήθρα.

Το επιθήλιο του προστάτη αδένος αποτελείται από τα βασικά επιθηλιακά κύτταρα, τα ενδιάμεσα, τα εκκριτικά, τα νευροενδοκρινή και τα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα. Το στρώμα έχει στηρικτικό ρόλο και περιέχει συνδετικό ιστό και λεία μυϊκά κύτταρα (Εικόνα 4).

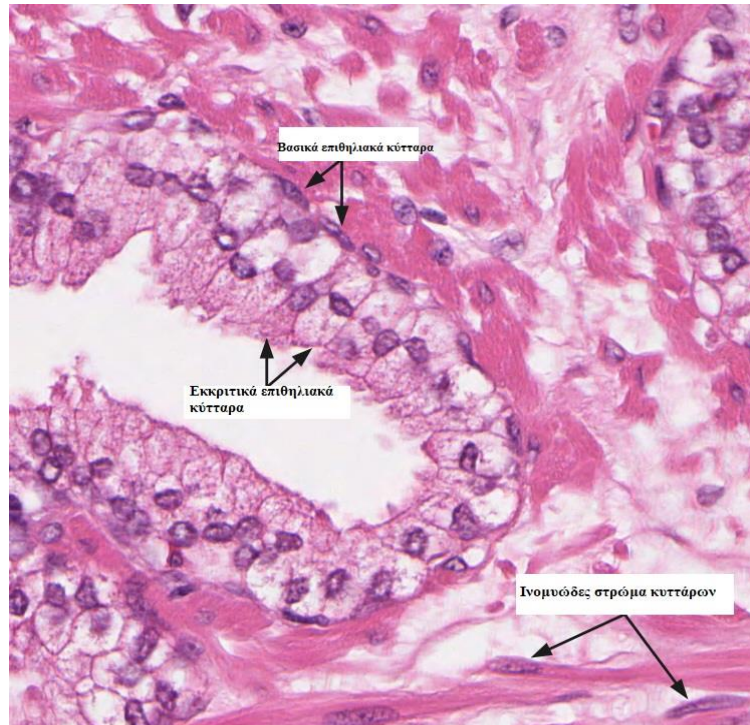


Εικόνα 4. Σχηματική απεικόνιση των κυττάρων του φυσιολογικού προστάτη αδένος. Πηγή: (Lance W. Middleton et al., 2019)

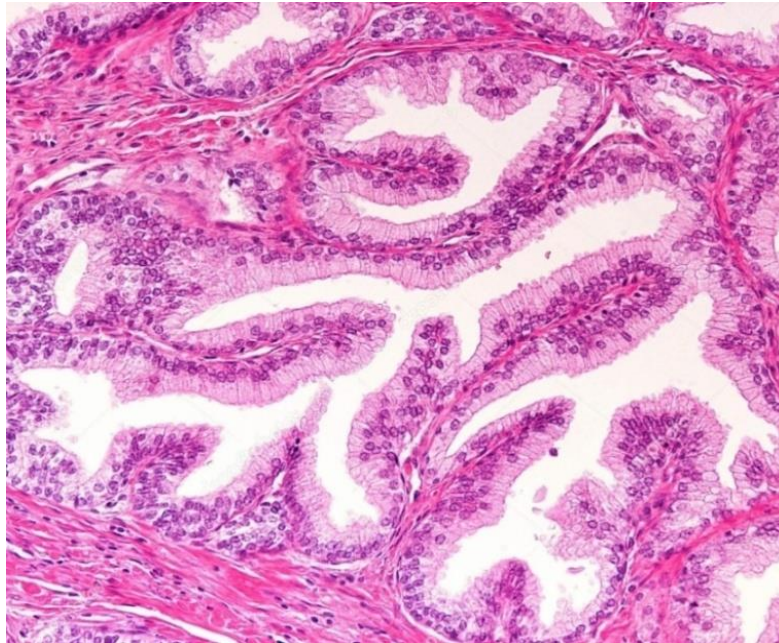
Τα αδένια του προστάτη δομούνται από επιθηλιακά κύτταρα και επενδύονται από δύο στιβάδες κυττάρων, τα βασικά (basal cells) και τα εκκριτικά κύτταρα (luminal cells). Τα επιθηλιακά βασικά κύτταρα επικάθονται στη βασική μεμβράνη και είναι επιμήκη, αποπλατυσμένα κύτταρα με πυκνόχρωμους πυρήνες και ελάχιστο έως μη διακριτό

κυτταρόπλασμα. Τα βασικά κύτταρα (basal cells) διαιρούνται φυσιολογικά και ωριμάζουν σε εκκριτικά κύτταρα.

Τα εκκριτικά κύτταρα (luminal cells) είναι κυλινδρικής προσανατολισμένα με τον πυρήνα τους τοποθετημένο προς τη βάση του πόρου και το πλούσιο κυτταρόπλασμά τους προς τον αυλό. Πρόκειται για κύτταρα τελικής διαφοροποίησης, με χαμηλό δείκτη πολλαπλασιασμού. Το τελικό τμήμα του κυτταροπλάσματος των εκκριτικών κυττάρων προβάλλει εντός του αυλού, ώστε οι προστατικές εκκρίσεις να μεταφέρονται και να κινούνται εντός των προστατικών πόρων (Εικόνες 5, 6).



Εικόνα 5. Ιστολογία φυσιολογικού προστάτη αδένα. Πηγή: <https://www.proteinatlas.org/learn/dictionary/normal/prostate/>



Εικόνα 6. Χρώση αιματοξυλίνης- ηωσίνης φυσιολογικού προστάτη αδένα. Απεικονίζονται κυλινδρικά εκκριτικά κύτταρα προς τον αυλό και πιο επιμήκη, αποπλατυσμένα βασικά κύτταρα. Πηγή: <https://gr.depositphotos.com/180038126/stock-photo-human-prostate.html>

Τα νευροενδοκρινή κύτταρα (NEs) είναι διαφοροποιημένα κύτταρα επιθηλιακής προέλευσης που απελευθερώνουν ορμόνες ως αποτέλεσμα νευρικής διέγερσης. Βρίσκονται μεταξύ των εκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων, καθώς και στο επιθήλιο της προστατικής ουρήθρας. Τα ενδιάμεσα κύτταρα (intermedia cells) εμφανίζουν φαινοτυπικά και μοριακά χαρακτηριστικά ενδιάμεσα των βασικών και των εκκριτικών κυττάρων. Οι ομοιότητες των κυττάρων αυτών με τα νεοπλασματικά κύτταρα στον καρκίνο του προστάτη τα έχουν χαρακτηρίσει ως πιθανό κύτταρα-πρόδρομα νεοπλασματικής εξεργασίας, υπόθεση που ωστόσο δεν έχει τεκμηριωθεί απόλυτα.

Το προστατικό ινομυώδες στρώμα αποτελείται κυρίως από διαφοροποιημένους ινοβλάστες που εκφράζουν ακτίνη και καλούνται μυοϊνοβλάστες. Τα εν λόγω κύτταρα έχουν ικανότητα συστολής και παίζουν σημαντικό ρόλο στη συστολή του αδένα κατά την εκσπερμάτιση για τη μεταφορά του σπέρματος στην ουρήθρα.

1.3. Εμβρυολογία προστάτη αδένα

Ο προστάτης αδένας αναπτύσσεται κατά τον τρίτο μήνα της κύησης από τις επιθηλιακές εισβολές που προέρχονται από τον οπίσθιο ουρογεννητικό κόλπο υπό την επίδραση του υποκείμενου μεσεγχύματος (**Lowsley, 1912**). Ο φυσιολογικός σχηματισμός του αδένου του προστάτη απαιτεί την παρουσία 5α-διυδροτεστοστερόνης, η οποία συντίθεται από την τεστοστερόνη του εμβρύου με τη δράση της 5α-αναγωγάσης (**Coffey, 1992**).

Κατά την προεφηβεία, η σύσταση του ανθρώπινου προστάτη αδένου παραμένει πανομοιότυπη, ωστόσο, με την έναρξη της εφηβείας, αρχίζει να υφίσταται μορφολογικές αλλαγές. Ο αδένος αυξάνει συνεχώς σε μέγεθος, έως ότου φτάσει το βάρος των ενηλίκων περίπου στα 20 γραμμάρια στην ηλικία των 25-30 ετών (**Lowsley, 1912**).

Ο προστάτης αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια του 3ου μήνα της κύησης από πολλαπλές συμπαγείς προσεκβολές του ουρηθρικού επιθηλίου, άνωθεν και υπό της εισόδου του μεσονεφρικού πόρου, που εισβάλλουν στον περιβάλλοντα μεσεγγυματικό ιστό (**Sadler, 1995**). Συγκεκριμένα, τμήμα της ήδη διαφοροποιημένης ουροδόχου κύστης συμμετέχει στο σχηματισμό της προστατικής μοίρας της ουρήθρας. Οι απλές αυτές σωληνώδεις προσεκβολές διαχωρίζονται σε 5 ευδιάκριτες ομάδες κατά το τέλος της 11ης εβδομάδας κύησης και διακλαδίζονται συνεχώς μέχρι τη 16η εβδομάδα. Οι 5 αυτές ομάδες αντιστοιχούν στους 5 λοβούς του προστάτη, σύμφωνα με τη θεώρηση του Lowsley: πρόσθιος, οπίσθιος, μέσος και δύο πλάγιοι. Αρχικά, οι λοβοί είναι σαφώς διαχωρισμένοι, στη συνέχεια όμως, ενώνονται χωρίς την παρεμβολή διαφραγματίων. Οι σωληνίσκοι του πρόσθιου λοβού σταδιακά υποστρέφουν, καταλήγοντας να σχηματίζουν επιθηλιακές συστοιχίες μετά τη γέννηση. Αντιθέτως, οι σωληνίσκοι του οπίσθιου λοβού διακλαδίζονται συνεχώς και προβάλλουν στους αναπτυσσόμενους πλάγιους και στο μέσο λοβό, σχηματίζοντας το οπίσθιο τμήμα του προστάτη, που είναι ψηλαφητό κατά τη δακτυλική εξέταση (**Junqueira, 1989; Sadler, 1995**).

Μέρος του μεσεγγύματος αναπτύσσεται γύρω από το σύστημα των σωληνίσκων και διαμορφώνει την προστατική κάψα από τη 16η εβδομάδα. Το μυϊκό στρώμα είναι αρκετά ανεπτυγμένο κατά την 22η εβδομάδα και συνεχίζει να διαφοροποιείται μέχρι τον τοκετό.

1.4. Φυσιολογία προστάτη αδένου

Η κύρια λειτουργία του προστάτη αδένου είναι η παραγωγή ενός γαλακτώδους υγρού (προστατικό έκκριμα), το οποίο είναι πλούσιο σε λιπίδια, πρωτεολυτικά ένζυμα, όξινη φωσφατάση, ινωδολυσίνη και κιτρικό οξύ. Το έκκριμα συμβάλλει στη μεταφορά του σπέρματος κατά την εκσπερμάτωση και στη ρευστοποίηση του σπερματικού υγρού, ώστε η να εξασφαλίζεται ομαλά η διείσδυση των σπερματοζωαρίων.

Ο προστάτης αποτελεί κομβική θέση κατά τη διάρκεια της εκσπερμάτωσης, καθώς επιτρέπει στα σωληνάρια που μεταφέρουν το σπέρμα από τους όρχεις (σπερματικός πόρος) και στα σωληνάρια που αποχετεύουν το σπερματικό υγρό από τις σπερματοδόχους κύστες,

να συγκλίνουν σε ένα κοινό σωληνάριο, τον εκσπερματικό πόρο και να αδειάζουν από κοινού το σπερματικό υγρό στην ουρήθρα.

Ο προστάτης αδένας του προστάτη αποτελεί τον κύριο αναπαραγωγικό αδένά του άρρενος ατόμου και εμπλέκεται στην ανδρική γονιμότητα (*Gilany et al, 2015; Tena-Sempere and Ghrelin, 2013; Verze, Cai, and Lorenzetti, 2016*). Το προστατικό υγρό διασφαλίζει τη βιωσιμότητα του σπέρματος, καθώς μειώνει την οξύτητα της ουρήθρας, διευκολύνει και ενισχύει την κινητικότητα του σπέρματος συνεισφέροντας έναν συγκεκριμένο παράγοντα, τη λευκωματίνη που διεγείρει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Η ύπαρξη υψηλών επιπέδων ψευδαργύρου στο σπερματικό υγρό φαίνεται να λειτουργεί ως αντιβακτηριακός παράγοντας (*Fair and Wehner, 1976*).

Ο προστάτης αδένας μετέχει στον ταχύ μεταβολισμό της τεστοστερόνης στο δραστικό ανδρογόνο διυδροτεστοστερόνη (DHT), επηρεάζοντας με τον τρόπο αυτό τις λειτουργίες του υποθαλάμου και της υπόφυσης (*Williams and Chisholm, 1976*). Η τεστοστερόνη συντίθεται κυρίως στα κύτταρα Leydig των όρχεων (95%) και δευτερευόντως από τα κύτταρα της δικτυωτής ζώνης των επινεφριδίων (5%). Η βιοσύνθεσή της αποτελεί ένα μηχανισμό δύο σταδίων. Η μετατροπή της τεστοστερόνης από την 5α-αναγωγή σε DHT ή η μετατροπή της από την αρωματάση σε οιστρογόνα αποτελεί μονόδρομη αντίδραση. Τα ανδρογόνα, τα οιστρογόνα και τα στεροειδή των επινεφριδίων ενδέχεται να ποικίλουν ανάλογα με την ηλικία.

2. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

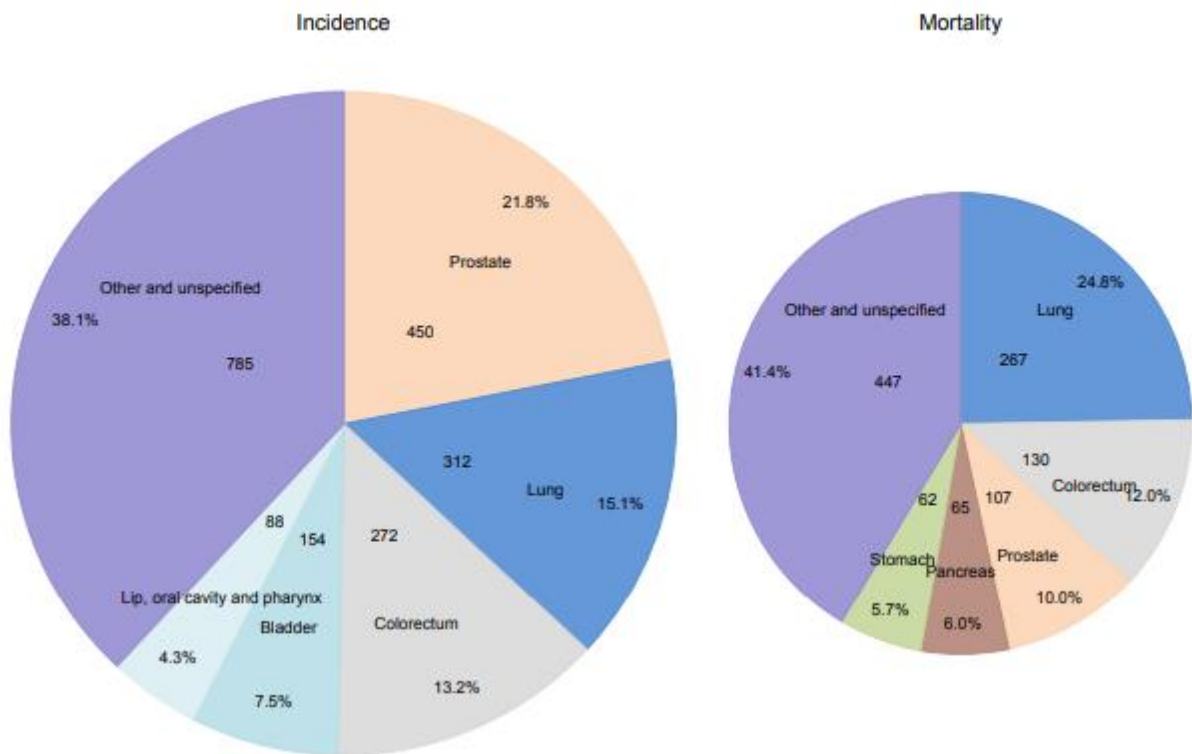
2.1 Επιδημιολογικά στοιχεία

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί την πρώτη σε συχνότητα εμφάνισης κακοήθεια στα άρρενα άτομα και την τρίτη αιτία θανάτου από καρκίνο, σύμφωνα με τα επιδημιολογικά στοιχεία στην Ευρώπη το 2018 (Εικόνα 7). Νεότερες έρευνες δείχνουν αυξητική τάση στον καρκίνο του προστάτη στη Δυτική Ευρώπη (**Taitt, (2018)**).

Στην Ελλάδα κατέχει τη δεύτερη σε συχνότητα θέση μετά τον καρκίνο του πνεύμονα στα άρρενα άτομα (Πίνακας 1) (**Ferlay et al, 2018**). Δεν υπάρχει καμία επίσημη σύσταση για τον προληπτικό έλεγχο του καρκίνου του προστάτη. Πραγματοποιείται ανεπίσημα σε ασθενείς που επισκέπτονται τα εξωτερικά ιατρεία των περισσότερων ελληνικών νοσοκομείων. Σύμφωνα με τις επίσημες εκθέσεις του Υπουργείου Δημόσιας Υγείας, κάθε χρόνο το 31% των ανδρών ηλικίας 45 έως 54 ετών και πάνω από το 50% των ανδρών ηλικίας άνω των 65 ετών, υποβάλλονται σε έλεγχο PSA ορού (**Toundas, 2008**).

Ο καρκίνος του προστάτη είναι ιδιαίτερα συχνός στις αναπτυγμένες χώρες. Η συχνότητα εμφάνισης και θνησιμότητας του καρκίνου του προστάτη διαφέρει παγκοσμίως. Παρατηρείται σημαντική γεωγραφική ετερογένεια και υπάρχουν χώρες, παραδείγματος χάριν στην Ασία και στη Νότια Αμερική, που η θνησιμότητα από καρκίνο του προστάτη φαίνεται να ακολουθεί αυξητική τάση.

Πρόκειται για μία νόσο της προχωρημένης ηλικίας, η οποία σπάνια διαγιγνώσκεται σε ασθενείς νεότερους των 50 ετών (**Jani et al, 2008**). Η μέση ηλικία διάγνωσης είναι τα 68 έτη και η πλειοψηφία των ασθενών (63%) διαγιγνώσκονται μετά τα 65 έτη, ενώ η επίπτωσή της αυξάνει κατακόρυφα μετά από την ηλικία αυτή (**Howlader et al, 2015**).



Εικόνα 7. Κατανομή των αναμενόμενων κρουσμάτων και θανάτων των πέντε συχνότερων καρκίνων στην Ευρώπη για τα άρρενα άτομα το 2018. Το εμβαδόν του γραφήματος της πίτας απεικονίζει το ποσοστό του συνολικού αριθμού των περιπτώσεων ή των θανάτων. Πηγή: (Ferlay et al, 2018)

Country/region	First						Second						Third					
	Males			Females			Males			Females			Males			Females		
	i	m		i	m		i	m		i	m		i	m		i	m	
Europe	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Lung		Colorectum	Prostate		Lung	Colorectum	
EU-28	Prostate	Lung		Breast	Lung		Lung	Colorectum		Colorectum	Breast		Colorectum	Prostate		Lung	Colorectum	
Albania	Lung	Lung		Breast	Breast		Bladder	Stomach		Corpus uteri	Liver		Prostate	Prostate		Lung	Lung	
Austria	Prostate	Lung		Breast	Lung		Lung	Colorectum		Lung	Breast		Colorectum	Prostate		Colorectum	Colorectum	
Belarus	Lung	Lung		Breast	Colorectum		Prostate	Colorectum		Colorectum	Breast		Colorectum	Stomach		Corpus uteri	Stomach	
Belgium	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Lung		Colorectum	Prostate		Lung	Colorectum	
Bosnia Herzegovina	Lung	Lung		Breast	Breast		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Prostate	Prostate		Cervix uteri	Lung	
Bulgaria	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Prostate		Corpus uteri	Lung	
Croatia	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Prostate		Corpus uteri	Lung	
Cyprus	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Prostate		Thyroid	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Lung	
Czech Republic	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Breast		Colorectum	Prostate		Lung	Colorectum	
Denmark	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Prostate		Colorectum	Breast		Lung	Colorectum		Lung	Colorectum	
Estonia	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Prostate		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Lung	Lung	
Finland	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Prostate		Colorectum	Breast		Lung	Colorectum		Lung	Pancreas	
France	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Lung		Colorectum	Prostate		Lung	Colorectum	
Germany	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Prostate		Lung	Lung		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum	
Greece	Lung	Lung		Breast	Breast		Prostate	Colorectum		Colorectum	Lung		Bladder	Prostate		Corpus uteri	Colorectum	
Hungary	Lung	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Breast		Prostate	Prostate		Lung	Colorectum	
Iceland	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Prostate		Lung	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Colorectum	
Ireland	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Colorectum		Lung	Breast		Lung	Prostate		Colorectum	Colorectum	
Italy	Prostate	Lung		Breast	Breast		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Lung		Lung	Liver		Lung	Colorectum	
Latvia	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Prostate		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Corpus uteri	Lung	
Lithuania	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Prostate		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Corpus uteri	Stomach	
Luxembourg	Prostate	Lung		Breast	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Lung		Colorectum	Prostate		Lung	Colorectum	
FYR Macedonia	Lung	Lung		Breast	Breast		Prostate	Prostate		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Corpus uteri	Lung	
Malta	Prostate	Lung		Breast	Breast		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Lung	Pancreas		Corpus uteri	Pancreas	
Moldova	Lung	Lung		Breast	Breast		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Prostate	Liver		Cervix uteri	Lung	
Montenegro	Lung	Lung		Breast	Breast		Prostate	Prostate		Lung	Lung		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum	
Netherlands	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Breast		Lung	Prostate		Lung	Colorectum	
Norway	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Prostate		Lung	Colorectum		Lung	Colorectum		Lung	Breast	
Poland	Lung	Lung		Breast	Lung		Prostate	Colorectum		Lung	Breast		Colorectum	Prostate		Colorectum	Colorectum	
Portugal	Prostate	Lung		Breast	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Breast		Lung	Prostate		Thyroid	Lung	
Romania	Lung	Lung		Breast	Breast		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Prostate	Prostate		Cervix uteri	Lung	
Russian Federation	Lung	Lung		Breast	Breast		Prostate	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Stomach		Corpus uteri	Stomach	
Serbia	Lung	Lung		Breast	Breast		Colorectum	Colorectum		Lung	Lung		Prostate	Prostate		Colorectum	Colorectum	
Slovakia	Colorectum	Lung		Breast	Breast		Lung	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Prostate	Prostate		Corpus uteri	Lung	
Slovenia	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Breast		Lung	Prostate		Lung	Colorectum	
Spain	Prostate	Lung		Breast	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Breast		Lung	Prostate		Lung	Lung	
Sweden	Prostate	Prostate		Breast	Lung		Colorectum	Lung		Colorectum	Breast		Bladder	Colorectum		Melanoma of skin	Colorectum	
Switzerland	Prostate	Lung		Breast	Lung		Colorectum	Prostate		Colorectum	Breast		Lung	Colorectum		Lung	Colorectum	
Ukraine	Lung	Lung		Breast	Breast		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum		Prostate	Stomach		Corpus uteri	Stomach	
United Kingdom	Prostate	Lung		Breast	Lung		Lung	Prostate		Lung	Breast		Colorectum	Colorectum		Colorectum	Colorectum	

Πίνακας 1. Στην Ελλάδα ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί τη δεύτερη σε συχνότητα κακοήθεια και την τρίτη αιτία θανάτου από καρκίνο στα άρρενα άτομα. Πηγή: (Ferlay et al, 2018).

2.2 Παράγοντες κινδύνου

Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη είναι πολυπαραγοντικός. Σε μεγάλο βαθμό σχετίζεται με την ηλικία. Σε γενικές γραμμές, οι παράγοντες που προκαλούν την εμφάνιση καρκίνου του προστάτη παραμένουν άγνωστοι. Ένας μικρός αριθμός παραγόντων κινδύνου έχει εντοπιστεί, αλλά υποστηρίζονται από ένα μεγάλο αριθμό μικρών μελετών, που οδηγούν σε αντιφατικά ή ασαφή αποτελέσματα. Πιθανότατα, ο καρκίνος του προστάτη οφείλεται σε μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ της ηλικίας, της ενδογενούς ορμονικής ισορροπίας, γενετικών (προδιαθεσικών) παραγόντων καθώς και περιβαλλοντικών παραγόντων, στους οποίους συγκαταλέγονται η παχυσαρκία και ο σύγχρονος τρόπος ζωής (**Grozescu, Popa, 2016**)

Οι παράγοντες κινδύνου μπορούν να ταξινομηθούν ως ενδογενείς ή εξωγενείς, αν και ορισμένοι παράγοντες δεν εντάσσονται αποκλειστικά σε μία μόνο κατηγορία (π.χ. φυλή, γήρανση, οξειδωτικό στρες) (**Bostwick et al, 2004**)

2.2.1. Ενδογενείς παράγοντες κινδύνου

Η ηλικία φαίνεται να αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου. Σε νεκροτομικές μελέτες ασυμπτωματικών ανδρών κατά την 5η και 6η δεκαετία της ζωής τους, λανθάνων καρκίνος του προστάτη διαπιστώνεται σε ποσοστό της τάξης του 29%. Τα αντίστοιχα ποσοστά αυξάνονται κατακόρυφα στις επόμενες δεκαετίες (50% κατά την 7η και 70% κατά την 8η δεκαετία της ζωής) (**Pienta, Esper, 1993**).

Το οικογενειακό ιστορικό σχετίζεται σημαντικά με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη σε επιδημιολογικές μελέτες.

Σε αντίθεση με τον λανθάνοντα καρκίνο του προστάτη, η συχνότητα και η θνησιμότητα από καρκίνο του προστάτη, όταν διορθωθεί ως προς την ηλικία, φαίνεται να διαφοροποιείται μεταξύ των διαφορετικών φυλών και εθνοτήτων. Ο σχετικός κίνδυνος φαίνεται να αυξάνει με τον βαθμό συγγένειας (1ου ή 2ου βαθμού, αδελφός ή πατέρας), με τον αριθμό των νοσούντων συγγενών και την ηλικία των συγγενών κατά τη διάγνωση της νόσου (**Zeegers, Jellema & Ostrer, 2003**).

Τα υψηλότερα ποσοστά κινδύνου εμφάνισης της νόσου εντοπίζονται μεταξύ των Αφροαμερικανών ανδρών, των μαύρων ανδρών της Καραϊβικής και της υποσαχάριας Αφρικής, ενώ τα χαμηλότερα ποσοστά ανήκουν στους Ασιάτες. Ωστόσο, οι φυλετικές διαφορές ενδέχεται να αντικατοπτρίζουν διαφορές στην πρόσβαση για περίθαλψη (εξωγενείς παράγοντες) καθώς και στη διαδικασία λήψης αποφάσεων σχετικά με το εάν θα ζητηθεί ιατρική φροντίδα και παρακολούθηση (**Bostwick et al, 2004; Ferlay et al, 2014**).

Ο καρκίνος του προστάτη απαντάται σε σποραδική και κληρονομική μορφή. Η σποραδική μορφή της νόσου αποτελεί το 85% των καρκίνων του προστάτη που διαγιγνώσκονται. Ως οικογενής καρκίνος του προστάτη, ορίζεται ο καρκίνος που διαγιγνώσκεται σε ασθενείς με τουλάχιστον ένα συγγενή με ιστορικό καρκίνου του προστάτη. Η κληρονομική μορφή της νόσου αφορά τις περιπτώσεις εκείνες κατά τις οποίες ο καρκίνος του προστάτη απαντάται σε τρεις διαδοχικές γενιές ή σε τουλάχιστον δύο συγγενείς σε ηλικία μικρότερη των 55 ετών (**Carter et al, 1993**).

Τα ανδρογόνα μεταβάλλουν σημαντικά τους ρυθμούς ανάπτυξης του καρκίνου του προστάτη. Αυξημένες συγκεντρώσεις της τεστοστερόνης και του μεταβολίτη της, της διυδροτεστοστερόνης, ενδέχεται να αυξήσουν τις πιθανότητες εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Τα επίπεδα των ορμονών επηρεάζονται από ενδογενείς παράγοντες και εξωγενείς παράγοντες.

Οι γενετικοί παράγοντες φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, τόσο στις σποραδικές, όσο και στις κληρονομικές μορφές αυτού. Αρκετές μελέτες έχουν εστιάσει σε συγκεκριμένες γενετικές θέσεις, οι οποίες

σχετίζονται με τον καρκίνο του προστάτη. Τα γονίδια που εδράζονται στις θέσεις αυτές κωδικοποιούν διαμεσολαβητές της φλεγμονής (MIC1, MSR1), αντιοξειδωτικές ουσίες (MSR1, PON1), επιδιορθωτικές πρωτεΐνες των βλαβών του DNA (OGG, CHEK2, BRCA2), καθώς και ένζυμα που προάγουν την απόπτωση (RNaseL). Το καλύτερα μελετημένο γονίδιο είναι το HPC1 (Hereditary Prostate Cancer 1) το οποίο κωδικοποιεί το RNaseL, ένα ένζυμο με αντι-ϊικές και αποπτωτικές ιδιότητες. Μεταλλάξεις και αδρανοποίηση του γονιδίου αυτού έχουν αναγνωριστεί σε οικογένειες με κληρονομικό καρκίνο του προστάτη. Οι αλλαγές αυτές έχουν ως αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου RNaseL, με αποτέλεσμα μειωμένη απόπτωση και συσσώρευση γενετικών λαθών (**Abbouassaly et al, 2012**)

Ο καρκίνος του προστάτη θεωρητικά μπορεί να προκύψει από την αύξηση του οξειδωτικού στρες. Κλινικές μελέτες δείχνουν ότι η πρόσληψη αντιοξειδωτικών, όπως το σελήνιο, η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E) και το λυκοπένιο (καροτενοειδές) προσφέρει προστασία από τον καρκίνο του προστάτη. Μέχρι σήμερα, οι γνώσεις μας στο πεδίο αυτό παραμένουν περιορισμένες (**Bostwick et al, 2004**).

2.2.2. Εξωγενείς παράγοντες κινδύνου

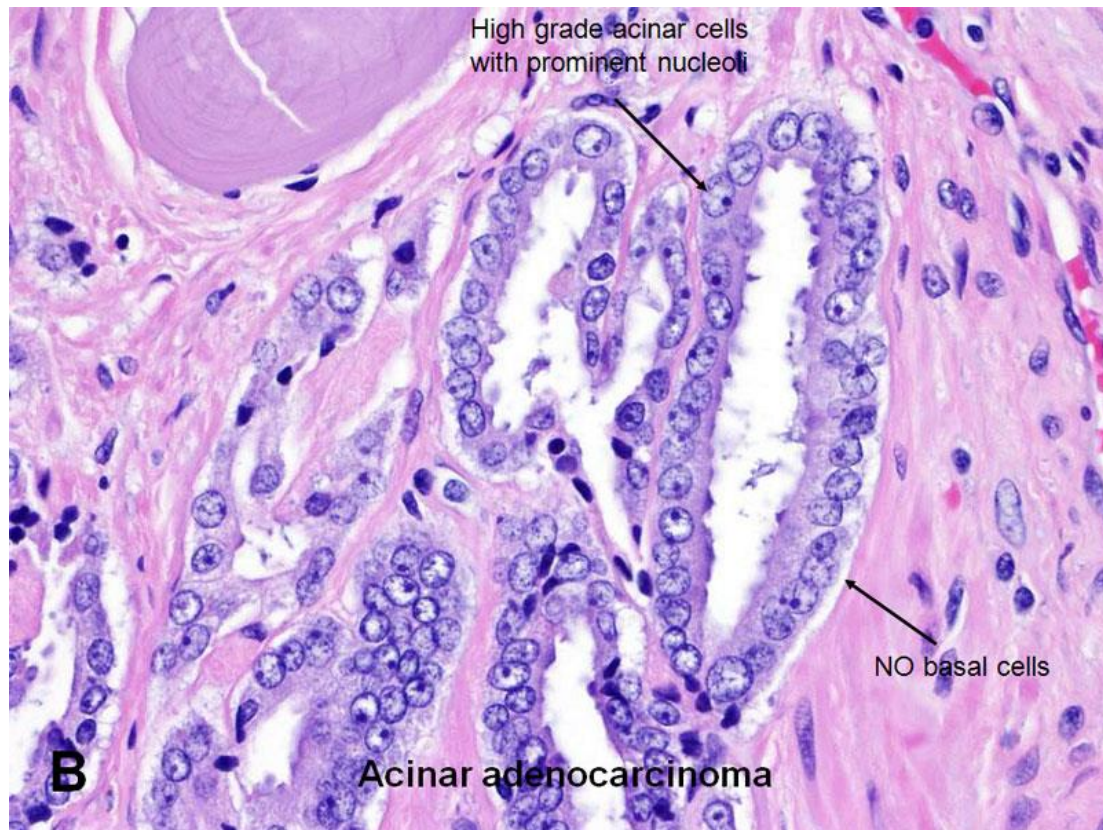
Μια μεγάλη ποικιλία διαιτητικών παραγόντων έχει εξετασθεί ως προς την ανάπτυξη καρκίνου του προστάτη. Η κατανάλωση λίπους, ιδιαίτερα του πολυακόρεστου λίπους, δείχνει ισχυρή, θετική συσχέτιση με τη συχνότητα και τη θνησιμότητα του καρκίνου του προστάτη. Τα ρετινοειδή, συμπεριλαμβανομένης της βιταμίνης A, συμβάλλουν στη ρύθμιση της διαφοροποίησης και του πολλαπλασιασμού των επιθηλιακών κυττάρων και παρουσιάζουν θετική σχέση με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Δεν έχει αναφερθεί συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης βιταμίνης C και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Ωστόσο, η ανεπάρκεια της βιταμίνης D ενδέχεται να αποτελέσει παράγοντα κινδύνου. Σύμφωνα με μελέτη, η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) δρα αντιοξειδωτικά και αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων του προστάτη μέσω της απόπτωσης. Η συγκέντρωση ψευδαργύρου (Zn) είναι υψηλότερη στον προστάτη από οποιοδήποτε άλλο όργανο στο σώμα, αλλά μειώνεται κατά 90% σε ασθενείς με καρκίνο

Στους εξωγενείς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη συγκαταλέγεται και η επαγγελματική ενασχόληση. Η μεγαλύτερη ανησυχία είναι η ενασχόληση με τη γεωργία και σε μικρότερο βαθμό, η εργασία στη βιομηχανία (**Bostwick et al, 2004**).

2.3 Ταξινόμηση του καρκίνου του προστάτη

Ο στόχος ενός συστήματος ταξινόμησης νεοπλασμάτων είναι η ομαδοποίηση των ασθενών με παρόμοια κλινική έκβαση. Η προσέγγιση αυτή επιτρέπει το σχεδιασμό κλινικών δοκιμών σε σχετικά ομοιογενείς πληθυσμούς ασθενών, τη σύγκριση των κλινικών και των παθολογικών ευρημάτων που συλλέγονται από διαφορετικά νοσοκομεία ανά τον κόσμο και την ανάπτυξη συστάσεων για τη θεραπεία αυτών των ομάδων των ασθενών. Για την ανάπτυξη κατευθυντήριων οδηγιών και συστάσεων ακολουθείται το σύστημα ταξινόμησης TNM (Tumor, Node, Metastasis) του 2017 για τη σταδιοποίηση του PCa (*Brierley et al 2017*) και η ταξινόμηση της ομάδας κινδύνου EAU, η οποία βασίζεται ουσιαστικά στο σύστημα ταξινόμησης της D'Amico για το PCa, (*Cooperberg et al, 2005*). Η τελευταία ταξινόμηση βασίζεται στην ομαδοποίηση ασθενών με παρόμοιο κίνδυνο όσον αφορά τη βιοχημική υποτροπή (BCR) μετά από ριζική προστατεκτομή (RP) ή ακτινοθεραπεία εξωτερικής δέσμης (EBRT). Η πολυπαραμετρική απεικόνιση συντονισμού και η στοχευμένη βιοψία ενδέχεται να προκαλέσουν μια σταδιακή μετατόπιση στα συστήματα ταξινόμησης κινδύνου (*Ploussard et al, 2020*).

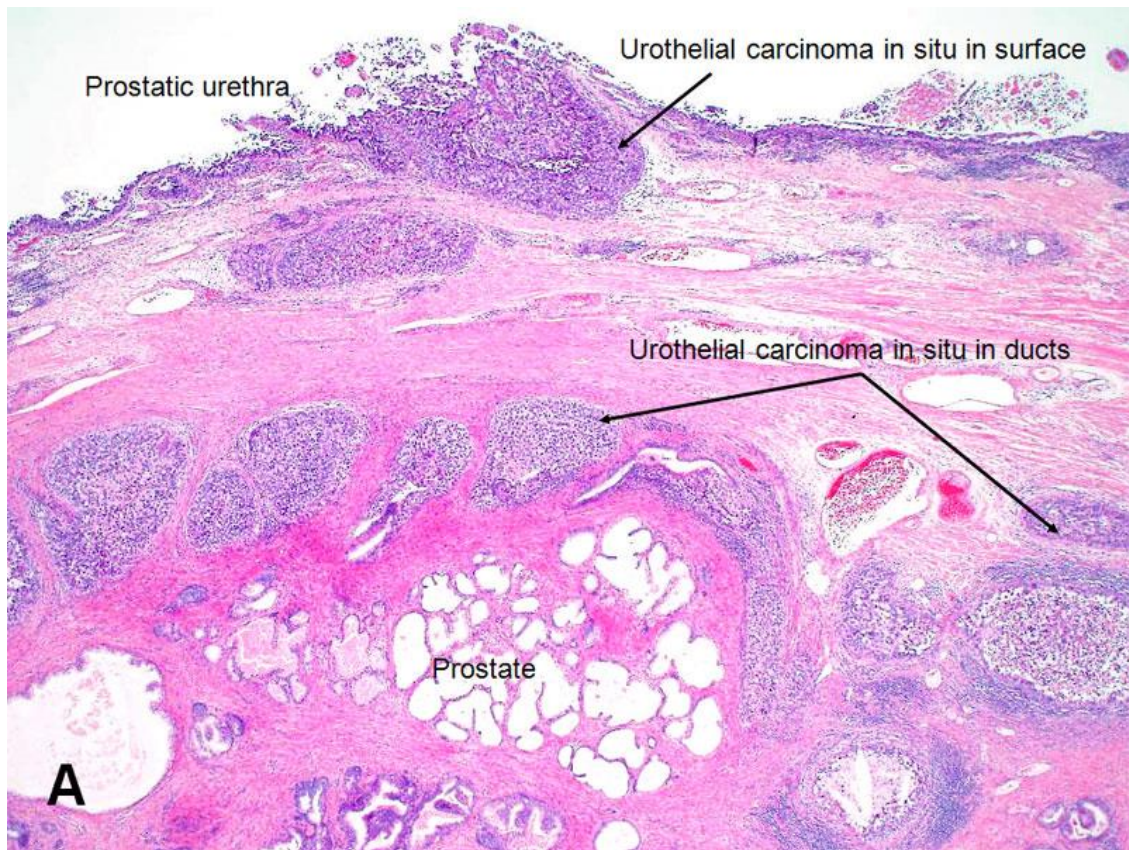
Το 95% των περιπτώσεων του καρκίνου του προστάτη αφορούν στο αδενοκαρκίνωμα προστάτη, ένα νεόπλασμα επιθηλιακής προέλευσης. Πρόκειται για ένα νεόπλασμα που μπορεί να είναι καλώς διαφοροποιημένο, με σαφείς αδενικούς σχηματισμούς, έως χαμηλής διαφοροποίησης, που σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δύσκολο να ταυτοποιηθεί. Σε όλες τις περιπτώσεις κοινό χαρακτηριστικό είναι η απουσία των βασικών κυττάρων (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Χαρακτηριστική παρουσία ευδιάκριτων πυρηνίων στους πυρήνες των νεοπλασματικών κυττάρων του προστατικού αδενοκαρκινώματος και απουσία βασικών κυττάρων.

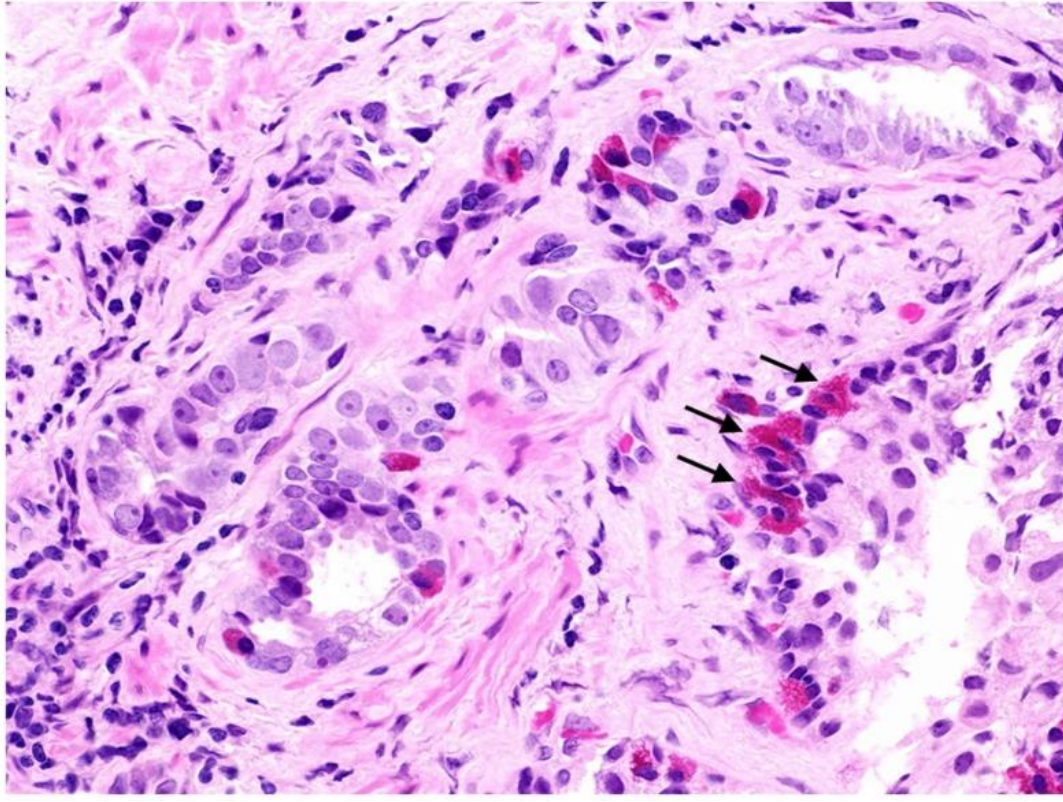
Πηγή: <https://www.auanet.org/education/auauniversity/education-products-and-resources/pathology-for-urologists/prostate/adenocarcinoma/introduction-to-prostate-carcinomas>

Οι υπόλοιποι ιστολογικοί τύπου αφορούν στο εναπομείναν 5% και περιλαμβάνουν κυρίως το ουροθηλιακό και το νευροενδοκρινές καρκίνωμα (Εικόνες 9, 10).



Εικόνα 9. Ουροθηλιακό καρκίνωμα προστάτη.

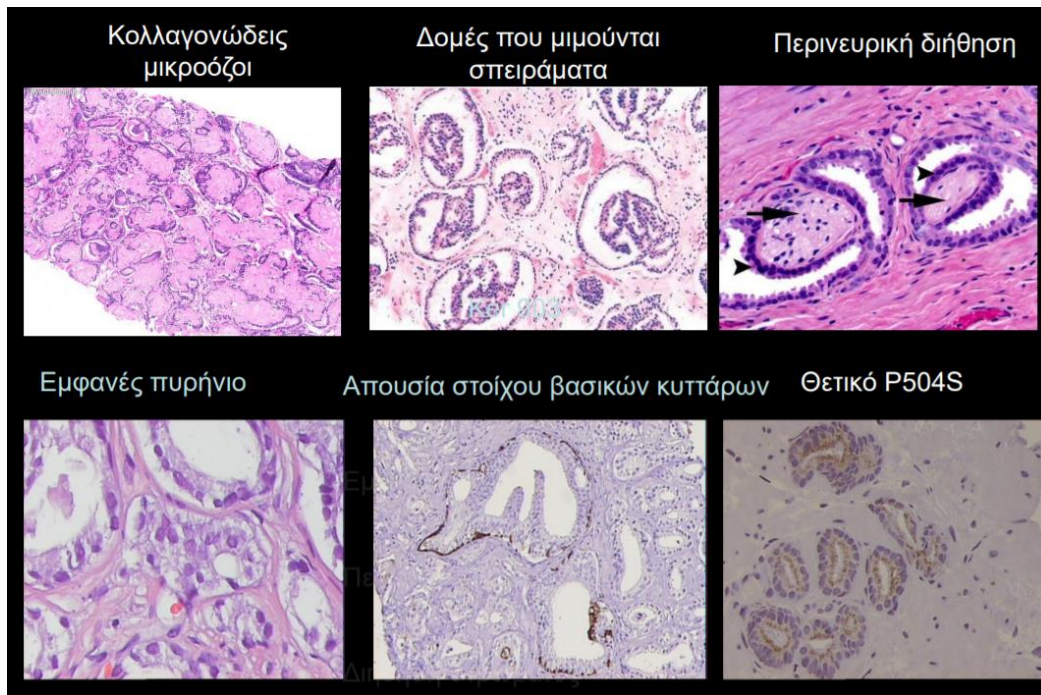
Πηγή: <https://www.auanet.org/education/auauniversity/education-products-and-resources/pathology-for-urologists/prostate/other-uncommon-carcinomas/urothelial-carcinoma-of-the-prostate>



Εικόνα 10. Νευροενδοκρινές καρκίνωμα. Τα νευροενδοκρινή κύτταρα εμφανίζουν μεγάλους ηωσινόφιλους κόκκους αναγνωρίσιμους με χρώση H/E (βέλη).

Πηγή: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4347593>

Η διάκριση των νεοπλασματικών από τα φυσιολογικά αδένια στηρίζεται σε αρχιτεκτονικά, πυρηνικά και κυτταροπλασματικά χαρακτηριστικά, καθώς και σε στοιχεία στον αυλό των αδενίων (Εικόνα 11).



Εικόνα 11. Ιστολογικά κριτήρια για τη διάγνωση καρκινώματος. Πηγή: <https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/MED409/5.07.%20%CE%93%CE%95%CE%9D%CE%9D%CE%97%CE%A4%CE%99%CE%9A%CE%9F%20%CE%91%CE%A1%CE%A1%CE%95%CE%9D%CE%9F%CE%A3/>

2.3.1 Σύστημα Ταξινόμησης TNM

Το σύστημα περιγράφει την εστία του πρωτοπαθούς όγκου (T), το βαθμό προσβολής των επιχώριων λεμφαδένων (N) και την πιθανή ύπαρξη απομακρυσμένων μεταστάσεων (M) (*Brierley et al 2017*).

Πίνακας 2: Κλινική ταξινόμηση όγκων μετάστασης (TNM) του PCa	
T – Πρωτοπαθής όγκος (στάδιο βασισμένο μόνο σε ψηφιακή εξέταση ορθού [DRE])	
TX	Ο πρωτοπαθής όγκος δεν είναι δυνατόν να εκτιμηθεί
T0	Δεν υπάρχουν ενδείξεις πρωτοπαθούς όγκου
T1	Κλινικά μη εμφανής όγκος, μη ψηλαφητός ή ορατός με απεικονιστικές μεθόδους
T1a	Τυχαίο ιστολογικό εύρημα σε λιγότερο από το 5% του ιστού εκτομής
T1b	Τυχαίο ιστολογικό εύρημα σε περισσότερο από το 5% του ιστού εκτομής
T1c	Όγκος που ανευρέθηκε με βιοψία προστάτη (π.χ. αυξημένο PSA)
T2	Όγκος που είναι ψηλαφητός και περιορίζεται μέσα στον προστάτη (1)
T2a	Ο όγκος καταλαμβάνει το μισό ή λιγότερο του ενός λοβού
T2b	Ο όγκος καταλαμβάνει περισσότερο από το μισό του ενός λοβού, όχι όμως τους δύο λοβούς
T2c	Ο όγκος περιλαμβάνει και τους δύο λοβούς.
T3	Όγκος που επεκτείνεται πέραν της προστατικής κάψας (2)
T3a	Εξωκαπική επέκταση (ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη)
T3b	Ο όγκος επεκτείνεται στη σπερματοδόχο κύστη(εις)
T4	Ο όγκος είναι καθηλωμένος ή διηθεί γειτονικές δομές εκτός των σπερματοδόχων κύστεων: έξω σφιγκτήρα, ορθό, ανελκτήρα του πρωκτού και/ή πυελικά τοιχώματα.
N - Επιχώριοι (πυελικοί) Λεμφαδένες (3)	
NX	Οι περιφερειακοί λεμφαδένες δεν μπορούν να εκτιμηθούν
N0	Δεν υπάρχει μετάσταση στους λεμφαδένες
N1	Μετάσταση περιφερειακών λεμφαδένων
M - Απομακρυσμένες μεταστάσεις (4)	
M0	Καμία μακρινή μετάσταση
M1	Μακρινή μετάσταση
M1a	Μη περιφερειακοί λεμφαδένες
M1b	Οστικές
M1c	Άλλη εντόπιση

1. Όγκος που ανευρίσκεται και στους δύο λοβούς στη βιοψία, αλλά είναι αφηλάφητος ή δεν απεικονίζεται ταξινομείται ως T1c.
2. Επέκταση στην κορυφή του προστάτη ή εντός (αλλά όχι πέραν) της προστατικής κάψας δεν ταξινομείται ως T3, αλλά T2.
3. Επιχώριοι είναι οι λεμφαδένες κάτω από τον διχασμό της κοινής λαγονίου αρτηρίας. Η εντόπιση δεν μεταβάλλει την ταξινόμηση.
4. Όταν εντοπίζονται περισσότερες από μια μεταστατικές εστίες, χρησιμοποιείται αυτή με το μεγαλύτερο στάδιο.

Το κλινικό στάδιο T αναφέρεται μόνο στα ευρήματα της δακτυλικής εξέτασης. Τα τοπικά ευρήματα απεικόνισης δεν λαμβάνονται υπόψη στην ταξινόμηση TNM. Η παθολογική σταδιοποίηση (pTNM) βασίζεται στην ιστολογική αξιολόγηση του ιστού και συγκλίνει σε μεγάλο βαθμό με την κλινική TNM, με εξαίρεση το κλινικό στάδιο T1 και τις υποκατηγορίες T2.

Πίνακας 3: Ομάδες κινδύνου EAU για την βιοχημική υποτροπή του τοπικού και του τοπικά προχωρημένου καρκίνου του προστάτη https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/#note_80

Ορισμός

Χαμηλού ρίσκου	Μεσαίου ρίσκου	Υψηλού ρίσκου	
PSA < 10 ng/mL	PSA 10-20 ng/mL	PSA > 20 ng/mL	οποιοδήποτε PSA
και GS < 7 (ISUP grade 1)	ή GS 7 (ISUP grade 2/3)	ή GS > 7 (ISUP grade 4/5)	οποιοδήποτε GS (οποιοδήποτε ISUP grade)
και cT1-2a	ή cT2b	ή cT2c	cT3-4 ή cN+
Εντοπισμένος			Τοπικά προχωρημένος

GS = βαθμολογία Gleason

ISUP = Διεθνής Εταιρεία Ουρολογικής Παθολογίας

PSA = αντιγόνο ειδικό για τον προστάτη.

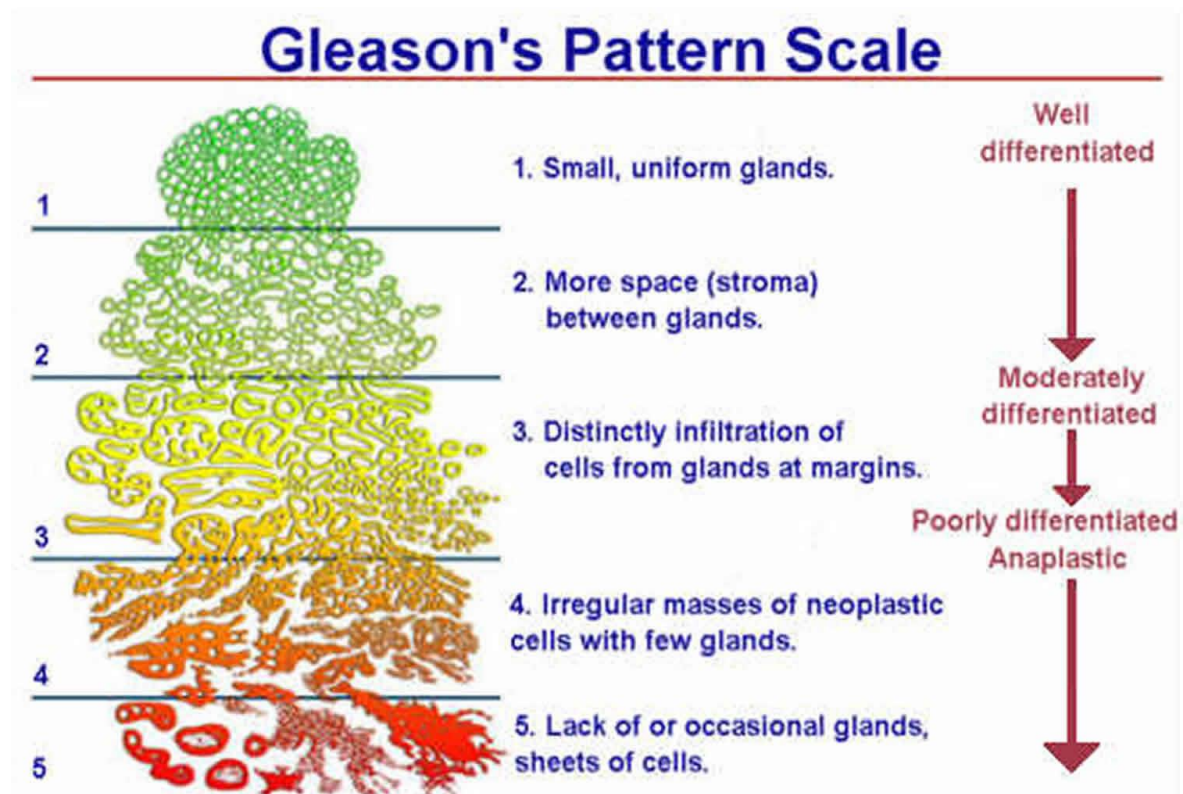
2.3.2 Βαθμός διαφοροποίησης κατά Gleason (Gleason score)

Το σύστημα βαθμονόμησης κατά Gleason αναπτύχθηκε από τον Gleason το 1966. Από τότε έχουν γίνει πολλές τροποποιήσεις, αλλά παραμένει σημαντικός προγνωστικός παράγοντας εξέλιξης της νόσου, έως και σήμερα. Το σύστημα βαθμονόμησης κατά Gleason περιλαμβάνει μία κλίμακα 5 επιπέδων που βασίζεται αποκλειστικά στην αρχιτεκτονική του όγκου και τα χαρακτηριστικά των νεοπλασματικών αδενίων. Δεδομένου ότι ο καρκίνος του προστάτη έχει συνήθως ετερογενή μορφή με δύο και πλέον αρχιτεκτονικά πρότυπα, η τελική βαθμολογία (Gleason Score) προκύπτει από το άθροισμα των βαθμολογιών της επικρατέστερης περιοχής (πρωτεύον πρότυπο) και της αμέσως επόμενης περιοχής (δευτερεύον πρότυπο).

1. Το **Gleason πρότυπο 1**, χαρακτηρίζεται από ομοιόμορφα, μεσαίου μεγέθους ως επί το πλείστο, πυκνά διατεταγμένα αδένια χωρίς διεισδυτικό μοτίβο. Σύμφωνα με τις τελευταίες τροποποιήσεις κατά ISUP 2016 το πρότυπο έχει καταργηθεί καθώς αναφέρεται σε καλοήθεις αλλοιώσεις (π.χ αδένωση).
2. Το **Gleason πρότυπο 2 (1+1)**, αφορά σε στρογγυλά ή ωοειδή αδένια, όχι τόσο ομοιόμορφα όσο στο πρότυπο 1, με ομαλούς αυλούς. Σύμφωνα με τις τελευταίες τροποποιήσεις κατά ISUP 2016, το πρότυπο αυτό θεωρείται εξαιρετικά σπάνιο, ειδικά σε βιοψίες. Στην κλινική πράξη, τα καρκινώματα του προστάτη αφορούν πλέον σε νεοπλασμάτα με Gleason grades από 3 έως 5.
3. Το **Gleason πρότυπο 3** είναι το συχνότερο πρότυπο ανάπτυξης. Εδώ τα αδένια διηθούν συχνά μεταξύ των φυσιολογικών αδένων, είναι ποικίλου μεγέθους, ανομοιόμορφα και οι αυλοί είναι ανοικτοί. Δεν περιλαμβάνεται πλέον ηθμοειδές πρότυπο. Οι σύγχρονες κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν την ταξινόμηση στο πρότυπο 3 όταν στα αδένια μπορεί να διαγραφεί το περίγραμμά τους.
4. Το **Gleason πρότυπο 4** αφορά σε προχωρημένη νόσο. Χαρακτηρίζεται από σύντηξη των αδενίων, ηθμοειδείς σχηματισμούς ή υποτυπώδη αδένια. Συχνά δεν παρατηρείται στρώμα μεταξύ των αδενίων και τα όρια είναι ανώμαλα και διηθητικά.
5. Το **Gleason πρότυπο 5** είναι το πιο επιθετικό μοτίβο. Εδώ τα αδένια απουσιάζουν και τα νεοπλασματικά κύτταρα εμφανίζονται ως συμπαγείς αθροίσεις, νησίδες ή μεμονωμένα κύτταρα που διηθούν το στρώμα. Σπάνια διακρίνονται αυλοί. Στο κέντρο των συμπαγών ομάδων μπορεί να υπάρχει νέκρωση.

Το 2014, μια ομάδα ειδικών, συνεδρίασαν για την αναθεώρηση του συστήματος (**Epstein et al, 2014**).

. Το νέο σύστημα βαθμολόγησης και η ορολογία Grade Groups 1-5 έγιναν επίσης αποδεκτά από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας για την έκδοση του 2016 Pathology and Genetics: Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs (Εικόνα 12).



Εικόνα 12. Σύστημα βαθμονόμησης κατά Gleason και βασικά χαρακτηριστικά στοιχεία. <https://healthjade.net/gleason-score/>

Πίνακας 4: Σύστημα βαθμονόμησης Grade Groups της Διεθνούς Εταιρείας Ουρολογικής Παθολογίας 2014 https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/#note_80

Gleason score	ISUP grade
2-6	1
7 (3+4)	2
7 (4+3)	3
8 (4+4 ή 3+5 ή 5+3)	4

2.4 Προσυμπτωματικός έλεγχος για τον καρκίνο του προστάτη

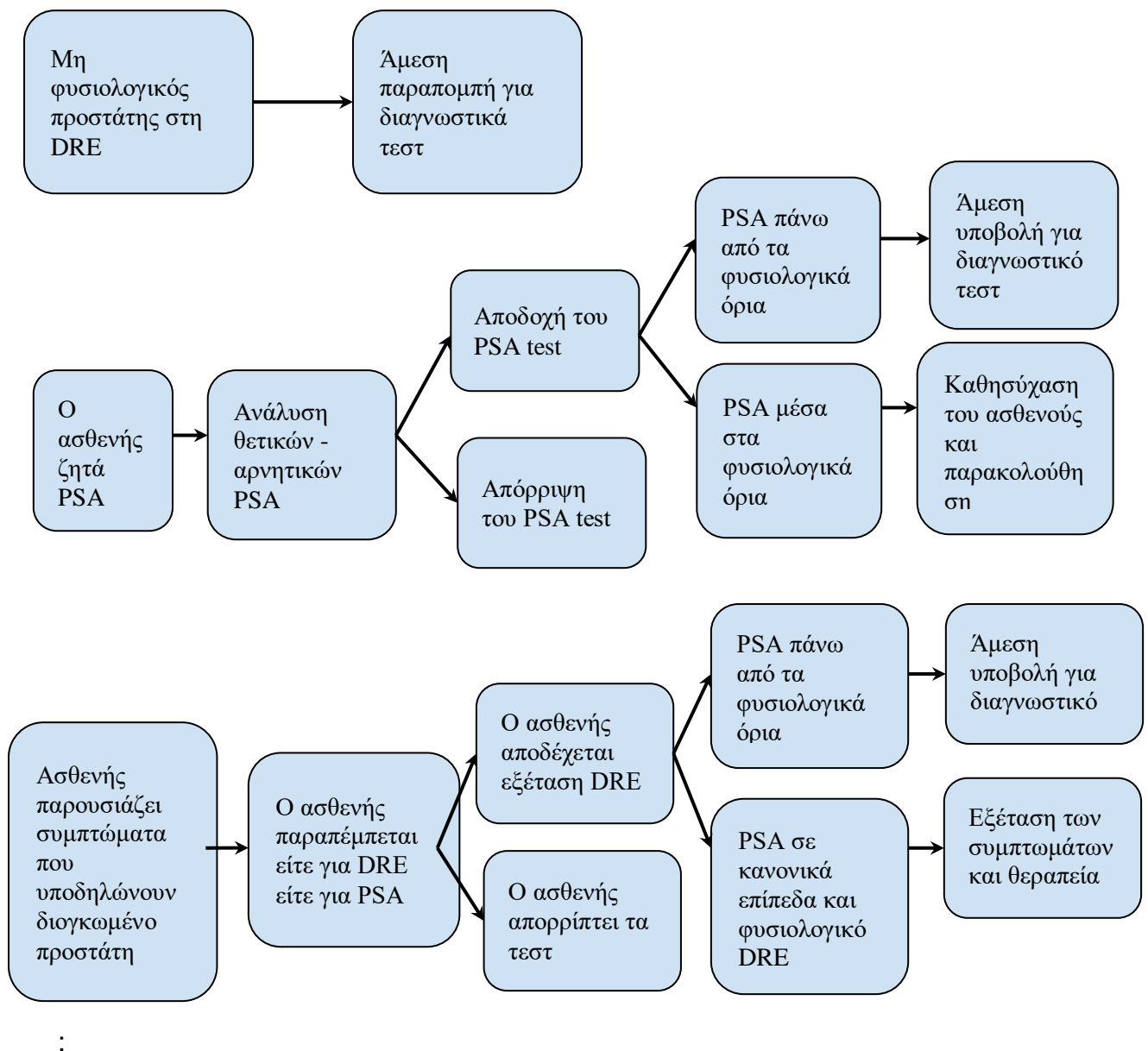
Ο προσυμπτωματικός έλεγχος (προληπτικός) μπορεί να δώσει πληροφορίες για το εάν ένα άτομο παρουσιάζει ή όχι αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξει κάποια μορφή καρκίνου. Θα πρέπει να αναφέρεται στα άτομα εκείνα που έχουν κάποιον κοντινό συγγενή που νοσεί και έχει ταυτοποιηθεί σε αυτόν κάποιου είδους γενετική αλλαγή η οποία συνδέεται με κληρονομική εμφάνιση της νόσου. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος για έλεγχο υψηλού κινδύνου εμφάνισης καρκίνου συνιστάται σε άνδρες με ατομικό ή/και οικογενειακό ιστορικό.

2.4.1 Πληθυσμιακός έλεγχος για καρκίνο του προστάτη

Ως πληθυσμιακός ή μαζικός έλεγχος ορίζεται η «συστηματική εξέταση ασυμπτωματικών ανδρών (σε κίνδυνο)» και ξεκινά συνήθως από τις υγειονομικές αρχές. Οι κύριοι στόχοι είναι η μείωση της θνησιμότητας και η διατήρηση της ποιότητας ζωής του πληθυσμού.

Ο εντοπισμένος καρκίνος του προστάτη είναι ασυμπτωματικός. Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται όταν η νόσος έχει εξελιχθεί. Τα άρρενα άτομα προσέρχονται στον γιατρό τους με συμπτώματα του κατώτερου ουροποιητικού συστήματος (LUTS) ή λόγω άλλων συμπτωμάτων και διερευνώνται για καρκίνο του προστάτη. Ένας σημαντικός αριθμός ανδρών πεθαίνει με αδιάγνωστο καρκίνο του προστάτη, όπως προκύπτει από ευρήματα αυτοψιών, τα οποία δείχνουν ότι έως και τα τρία τέταρτα των ανδρών, ηλικίας άνω των 85 ετών, είχαν μη διαγνωσμένες βλάβες στον προστάτη (*Sakr et al, 1993; Merriel, Funston & Hamilton, 2018*).

Πρώιμες εξετάσεις που χρησιμοποιούνται σε περίπτωση υποψίας καρκίνου του προστάτη, πέρα από τη φυσική εξέταση είναι και οι ακόλουθες (*Merriell, Funston & Hamilton, 2018*):



2.5. Διαγνωστικές εξετάσεις

2.5.1. Εξέταση PSA και free PSA ορού αίματος

Το PSA (Prostatic Specific Antigen, PSA) είναι ένας τύπος πρωτεΐνης που απελευθερώνεται από τον ιστό του προστάτη και διατηρείται σε υψηλά επίπεδα στο αίμα. Πρόκειται για μία γλυκοπρωτεΐνη μεγέθους 33 kDa. Κωδικοποιείται από το γονίδιο KLK3 που εδράζεται στη χρωμοσωμική θέση 19q 13.3-13.4. Εκφράζεται από τα εκκριτικά κύτταρα του προστατικού επιθηλίου και η κύρια λειτουργία της είναι η υγροποίηση του σπέρματος. Τα επίπεδα αυτά ενδέχεται να αυξηθούν, όταν υπάρχει μη φυσιολογική δραστηριότητα στον προστάτη, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του προστάτη, της BPH ή της φλεγμονής του προστάτη. Βέβαια, το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) έχει ορισμένους περιορισμούς στη διάγνωση και προγνωστική εκτίμηση του εντοπισμένου καρκίνου του προστάτη, αλλά χρησιμοποιείται ευρέως (*Ferro et al, 2016*).

Το ελεύθερο PSA βρίσκεται στην κυκλοφορία του αίματος και δε συνδέεται με τις πρωτεΐνες. Ένα τυπικό τεστ PSA μετρά το ολικό PSA, το οποίο συμπεριλαμβάνει και το ελεύθερο PSA που δεν είναι δεσμευμένο με πρωτεΐνες. Το free-PSA test μετρά την αναλογία του ελεύθερου PSA προς το ολικό PSA. Ο λόγος ελεύθερου/ολικού PSA (f/t PSA) φαίνεται να είναι πιο χρήσιμος κλινικά όταν το PSA φθάνει σε επίπεδα από 4 έως 10 ng/mL. Η εκτίμηση του λόγου ελεύθερου/ολικού (f/t PSA) μπορεί να συμβάλλει στην καλύτερη εκτίμηση και στη μείωση του αριθμού των αρνητικών βιοψιών σε ασθενείς που ελέγχονται για καρκίνο προστάτη.

2.5.2. Ορθική εξέταση (Digital rectal examination - DRE)

Είναι μια εξέταση κατά την οποία ο γιατρός εξετάζει την επιφάνεια του προστάτη μέσω του τοιχώματος του εντέρου για τυχόν ανωμαλίες. Η DRE συνήθως δεν ανιχνεύει τον πρώιμο καρκίνο του προστάτη και δεν χρησιμοποιείται τόσο συχνά όσο άλλες μέθοδοι (<https://www.cancer.net/cancer-types/prostate-cancer/diagnosis>).

2.5.3. Δοκιμασίες ανίχνευσης βιοδεικτών (biomarker tests)

2.5.3.1 Ανίχνευση βιοδεικτών στο αίμα

Οι δοκιμασίες βιοδεικτών για τον καρκίνο του προστάτη περιλαμβάνουν το 4Kscore, και τον δείκτη υγείας του προστάτη (PHI), ο οποίος προβλέπει τις πιθανότητες να αναπτύξει κάποιος καρκίνο του προστάτη. Αυτές οι κλινικές μεταβλητές βασίζονται στη συνδυαστική χρήση PSA και αυξάνουν τη πιθανότητα διάγνωσης της νόσου (*Ferro et al, 2016*).

2.5.3.2 Ανίχνευση βιοδεικτών στα ούρα

Μεταξύ των βιοδεικτών που ανιχνεύονται στα ούρα περιλαμβάνονται η σαρκοσίνη, το αντιγόνο 3 του καρκίνου του προστάτη (PCA3) και η σύντηξη γονιδίου TMPRSS2:ERG με πολλά υποσχόμενη διαγνωστική δυνατότητα. Η σαρκοσίνη είναι ένα N-μεθυλικό παράγωγο της γλυκίνης που αυξάνεται σημαντικά κατά την εξέλιξη του καρκίνου του προστάτη. Η σαρκοσίνη μπορεί να μετρηθεί τόσο στα ούρα όσο και στον ορό. Η σαρκοσίνη του ορού είχε υψηλότερη προγνωστική αξία από το ολικό PSA και το ελεύθερο PSA στην ανίχνευση του καρκίνου του προστάτη σε ασθενείς με ολικό PSA ορού <4 ng/ml. (*Ferro et al, 2016*).

Το καρκινικό προστατικό αντιγόνο PCA3 υπερεκφράζεται σε όλους σχεδόν τους καρκίνους του προστάτη και η διαγνωστική χρησιμότητά του αξιολογείται με μέτρηση του RNA του στα ούρα μετά από δακτυλική εξέταση του ορθού (DRE). Τα RNA μετάγραφα των PCA3 και PSA ποσοτικοποιούνται και η μέτρηση καθορίζεται με βάση το λόγο των RNA μορίων PCA3/ PSA. Μια τιμή PCA3<25 σχετίζεται με μειωμένη πιθανότητα καρκίνου του προστάτη σε επακόλουθη επαναλαμβανόμενη βιοψία, ενώ οι υψηλότερες τιμές PCA3 συσχετίζονται με υψηλότερη πιθανότητα θετικής βιοψίας προστάτη.

2.5.4. Βιοψία

Βιοψία είναι η αφαίρεση μικρής ποσότητας ιστού για εξέταση στο μικροσκόπιο. Για τη λήψη δείγματος ιστού, ένας χειρουργός χρησιμοποιεί τις περισσότερες φορές διορθικό υπερηχογράφημα και ένα εργαλείο βιοψίας για να πάρει πολύ μικρές λωρίδες προστατικού ιστού. Η διαδικασία αυτή γίνεται στο νοσοκομείο ή στο ιατρείο αφού προηγηθεί τοπική αναισθησία.

Η λήψη ιστικών δειγμάτων γίνεται από διάφορες περιοχές του προστάτη. Αυτό γίνεται για την επιβεβαίωση της λήψης ενός καλού δείγματος για εξέταση. Συνήθως, γίνεται αφαίρεση 12 έως 14 ιστικών τμημάτων και η διαδικασία αυτή μπορεί να διαρκέσει από 20 έως 30 λεπτά για την ολοκλήρωση της. Στην περίπτωση που η βιοψία είναι θετική, μπορούν να γίνει περαιτέρω ανάλυση με δείκτες που εφαρμόζονται στους ιστούς.

Το Prolaris (Myriad Genetics, UT, ΗΠΑ) είναι ένα εμπορικά διαθέσιμο τεστ που αξιολογεί την έκφραση 31 γονιδίων εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου. Το Oncotype DX® Genomic Prostate Score (Genomic Health, Inc., CA, USA) είναι μια δοκιμασία που βασίζεται σε RT-PCR και αξιολογεί την έκφραση 17 γονιδίων. Είναι σε θέση να παρέχει προγνωστικές πληροφορίες και να αξιολογήσει τον κίνδυνο ανεπιθύμητης παθολογίας, βάσει προτύπων Gleason ακόμη και μετά από ριζική προστατεκτομή. Πλήθος δοκιμασιών για την εξέταση βιοδεικτών είναι εμπορικά διαθέσιμες (Εικόνα 13).

Biomarker Test	Molecular Markers	Available as
Serum-based		
Prostate Serum Antigen (tPSA)	PSA	FDA
PHI (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA)	Total PSA, fPSA, p2PSA	FDA
4K (OPKO lab, Miami, FL, USA)	Total PSA, fPSA, intact PSA, hK2	CLIA-approved
Urine-based		
PCA3 (Progenesa) Hologic, Marlborough, MA, USA	PCA3	FDA
ExoDX Prostate (Intelliscore) Exosome Diagnostics Inc., Waltham, MA, USA	Exosomal RNA (PCA3, ERG)	CLIA-approved
MiPS (Detroit, MI, USA)	PCA3 and TMPRSS2-ERG mRNA	CLIA-approved
SelectMDX (MDx Health, Irvine, CA, USA)	HOXC6, DLX1	CLIA-approved
Tissue-based		
ConfirmMDx (MDxHealth, Irvine, CA, USA)	DNA hypermethylation (GSTP1; APC; RASSF1)	CLIA-approved
Prolaris (Myriad Genetics, Salt Lake City, UT, USA)	mRNA expression; 31 genes (cell cycle progression)	FDA
Oncotype Dx (Genomic Health, Redwood City, CA, USA)	mRNA expression; 17 genes	CLIA-approved
Decipher (GenomeDx Biosciences, San Diego, CA, USA)	mRNA expression; 22 genes (cell proliferation, migration, tumor motility, androgen signaling, and immune system evasion)	CLIA-approved
Promark (Metamark, Cambridge, MA, USA)	Protein biomarker test (8 proteins)	CLIA-approved

Εικόνα 13. Εγκεκριμένοι βιοδείκτες στο αίμα, στα ούρα και στους ιστούς για τη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη (Kohaar *et al.*, 2019).

3 ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

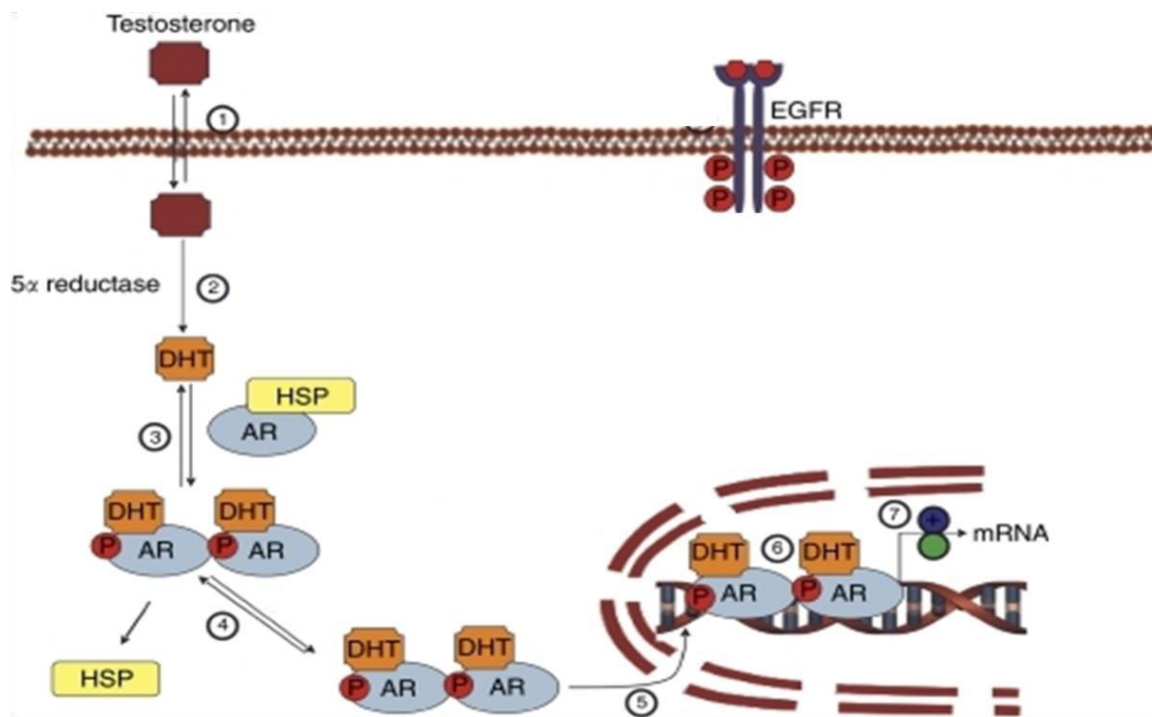
Οι φαινοτυπικές αλλαγές και τα ποικίλα μορφολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του προστάτη συνοδεύονται από πλήθος γενετικών και επιγενετικών αλλαγών. Οι συνηθέστερες μεταβολές του γονιδιώματος στον καρκίνο του προστάτη αφορούν σε συντήξεις γονιδίων, που ως επί το πλείστον οδηγούν σε υπερέκφραση των εμφανιζόμενων χμαιρικών γονιδίων. Η σύντηξη του ERG γονιδίου είναι η πιο συχνή γενετική αλλαγή κι εντοπίζεται σε ποσοστό της τάξης 40%-50% των περιπτώσεων με καρκίνο του προστάτη. Τα συχνότερα μεταλλαγμένα γονίδια στον πρωτοπαθή καρκίνο του προστάτη είναι τα γονίδια SPOP (Speckle-type POZ Protein), TP53 (Tumor protein p53), FOXA1 (Forkhead box protein A1) και PTEN (Phosphatase and tensin homolog)

3.1 Καρκινογένεση στον προστάτη αδένα

Η εμβρυϊκή και μεταγεννητική ανάπτυξη του προστάτη εξαρτάται από πολλούς ρυθμιστές της διαφοροποίησης, όπως οι NKX3.1, Forkhead box A1 (FOXA1) και AR. Ο μεταγραφικός παράγοντας NKX3.1 είναι μέλος της υποοικογένειας NK των γονιδίων homeobox, τα οποία παίζουν ρόλο στην οργανογένεση σε πολλά είδη. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του προστάτη, η έκφραση του NKX3.1 στην εμβρυϊκή ζωή αντιπροσωπεύει το πιο πρώιμο γονίδιο, ειδικό για τον προστάτη και καθοριστικής σημασίας για την ανάπτυξη και τον σχηματισμού του προστατικού οφθαλμού. Η γενετική διαγραφή του *NKX3.1* έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη διακλάδωση του πόρου και αλλοιωμένη παραγωγή εκκριτικής πρωτεΐνης. Η απαλοιφή του εν λόγω γονιδίου στον προστάτη οδηγεί σε δυσπλασία (*Bhatia-Gaur et al 1999*).

Η σηματοδότηση των ανδρογόνων και του υποδοχέα τους AR είναι απαραίτητη για τις κυτταρικές λειτουργίες του προστάτη. Ο υποδοχέας ανδρογόνων (AR) διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη του προστάτη αδένα, στην καρκινογένεση του προστάτη και στην εξέλιξη της νόσου ανεξαρτήτως των ανδρογόνων. Ο ανδρογονικός υποδοχέας (AR) ανήκει στην ομάδα πυρηνικών υποδοχέων στερεοειδών ορμονών, μαζί με άλλους υποδοχείς, όπως ο υποδοχέας οιστρογόνων (ER), ο υποδοχέας γλυκοκορτικοειδών (GR) και ο υποδοχέας προγεστερόνης (PR).

Στο επιθήλιο του προστάτη, η τεστοστερόνη εισέρχεται μέσω παθητικής διάχυσης, σε ελεύθερη μορφή. Μετά την είσοδό της μετατρέπεται με τη βοήθεια της 5α-αναγωγάσης στο πιο δραστικό ανδρογόνο 5α-διϋδροτεστοστερόνη (5α-DHT) και ακολουθεί η σύνδεσή της με τον ανδρογονικό υποδοχέα (AR) που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα. Ο ανδρογονικός υποδοχέας εμφανίζει ικανότητα σύνδεσης τόσο με την DHT όσο και με την τεστοστερόνη (T). Ωστόσο, παρουσιάζει 5x φορές μεγαλύτερη ειδικότητα για την DHT σε σχέση με την τεστοστερόνη (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Η σηματοδότηση του ανδρογονικού υποδοχέα στον προστάτη. Η ελεύθερη (μη δεσμευμένη) τεστοστερόνη διασχίζει τη διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων της πλασματικής μεμβράνης με απλή διάχυση (1). Μόλις εισέλθει στο κύτταρο, μεταβολίζεται από το ένζυμο 5α-αναγωγάση και παράγεται το ισχυρό ανδρογόνο 5α-DHT (2). Η 5α-DHT δεσμεύεται στον υποδοχέα ανδρογόνων (AR) και προκαλεί την ενεργοποίηση και μετασχηματισμό του AR, με διμερισμό και βιοχημικές μεταβολές όπως η φωσφορυλίωση (3, 4). Το ενεργοποιημένο και μετασχηματισμένο σύμπλοκο DHT-AR μεταφέρεται στον πυρήνα (5) και αλληλεπιδρά σε συγκεκριμένες θέσεις στους εκκινητές ανδρογονο-εξαρτώμενων γονιδίων (AREs, androgen response elements). Το σύμπλοκο DHT-AR δεσμεύεται με τα ειδικά στοιχεία απόκρισης DNA (6) που οδηγεί σε στρατολόγηση συν-ενεργοποιητών ή συν-καταστολέων για τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (7). Η ενεργοποίηση των γονιδίων από τα ανδρογόνα παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοίωση του προστάτη αδένου.

Σε κατάσταση ηρεμίας, οι μη δεσμευμένοι ARs δεσμεύονται σε πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSPs), όπως οι HSP90, HSP70, HSP56 και HSP23, που σταθεροποιούν την τριτοταγή δομή του υποδοχέα σε μια στερεοδιαμόρφωση που διευκολύνει τη δέσμευση των ανδρογόνων. Το ενεργοποιημένο σύμπλοκο DHT-AR διμερίζεται, μεταφέρεται στον πυρήνα και προσδένεται σε εκκινητές γονιδίων που φέρουν στοιχεία απόκρισης σε ανδρογόνα (Androgen Response Elements - AREs). Το ενεργοποιημένο σύμπλεγμα DNA-διμερούς AR στρατολογεί ρυθμιστικές πρωτεΐνες (συν-ενεργοποιητές ή συν-καταστολείς) και το γενικό μηχανισμό μεταγραφής. Μεταξύ των γονιδίων στόχων που ρυθμίζονται από τον ανδρογονικό υποδοχέα είναι τα γονίδια PSA και PAP, τα προϊόντα των οποίων αποτελούν μείζονες εκκριτικές πρωτεΐνες του προστάτη.

Τα ανδρογόνα αποτελούν ισχυρούς μεσολαβητές της ανάπτυξης και εξέλιξης του καρκίνου. Ο μεταγραφικός παράγοντας FOXA1 εκφράζεται σε όλα τα στάδια ανάπτυξης και ωρίμανσης του προστάτη και ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων-στόχων του AR. Το FOXA1 συνεκφράζεται με το AR και ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων στόχων του AR. Η απορρύθμιση γονιδίων ανάπτυξης σε διαφοροποιημένα κύτταρα αποτελεί κοινό μηχανισμό για την προώθηση της ανώμαλης ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού (*Schrecengost & Knudsen, 2013*).

3.3 Κληρονομικός καρκίνος του προστάτη

Ο καρκίνος που προέρχεται από γονίδια που κληρονομούνται ονομάζεται κληρονομικός καρκίνος. Στον καρκίνο του προστάτη, η πλειοψηφία των περιπτώσεων καρκίνου εμφανίζονται σποραδικά. Ωστόσο, ένα ποσοστό της τάξης 5% έως 10% των περιπτώσεων καρκίνου του προστάτη σχετίζονται με γενετική προδιάθεση για τη νόσο.

Πολλές μεταλλάξεις της γαμετικής σειράς έχουν συνδεθεί με τον κληρονομικό καρκίνο του προστάτη. Κληρονομήσιμες μεταλλάξεις στα ογκοκατασταλτικά γονίδια *BRCA1* και *BRCA2* εμφανίζονται συχνά σε καρκίνους, όπως του μαστού και των ωοθηκών, έχουν σημειωθεί, ωστόσο και σε ορισμένες περιπτώσεις καρκίνων του προστάτη.

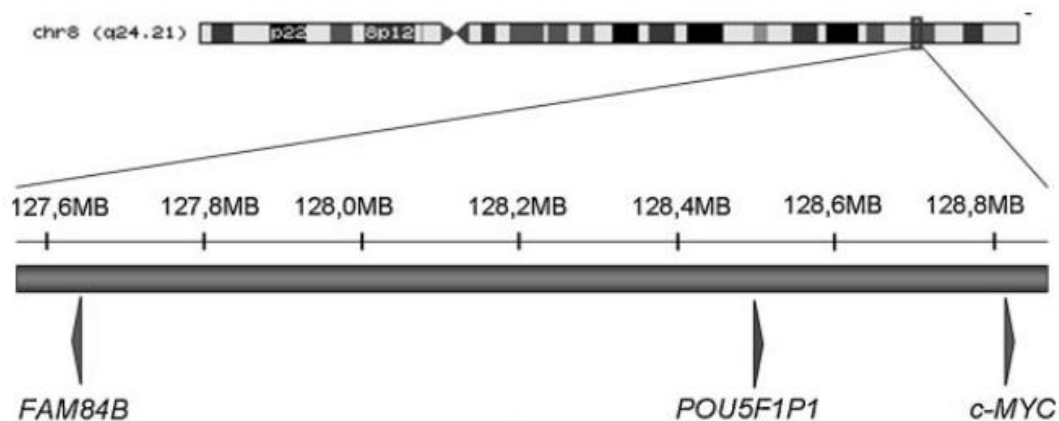
Μεταλλάξεις σε γονίδια επιδιόρθωσης βλαβών του DNA όπως τα γονίδια *CHEK2*, *ATM*, *PALB2* και *RAD51D*, ενδέχεται να ευθύνονται επίσης για ορισμένους κληρονομικούς καρκίνους του προστάτη. Παραδείγματα τέτοιων γονιδίων αποτελούν τα γονίδια *MSH2*, *MSH6*, *MLH1* και *PMS2*, τα οποία κωδικοποιούν επιδιορθωτικές πρωτεΐνες του μηχανισμού επιδιόρθωσης λανθασμένων ζευγών νουκλεοτιδίων (MisMatch Repair, MMR).

Αξίζει να σημειωθεί επίσης το γονίδιο *HOXB13*. Το γονίδιο αυτό είναι σημαντικό για την ανάπτυξη του προστάτη. Μεταλλάξεις στο εν λόγω γονίδιο έχουν συνδεθεί με πρώιμο καρκίνο του προστάτη (καρκίνος του προστάτη που διαγιγνώσκεται σε νεαρή ηλικία) και εμφανίζονται σε σποραδικές και κληρονομικές μορφές καρκίνου του προστάτη.

3.4. Γενετικοί τύποι υπεύθυνοι για τον καρκίνο του προστάτη

Ο καρκίνος είναι μία πολυπαραγοντική νόσος με αλληλεπίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Ορισμένοι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) αυξάνουν την ευαισθησία για την εμφάνιση καρκίνου (*Manolio, 2010*). Οι πολυμορφισμοί αυτοί, σε συγκεκριμένους γενετικούς τύπους, ενδέχεται να προσφέρουν πληροφορίες για την γενετική προδιάθεση κάποιου ατόμου, ως προς την εμφάνιση ενός συγκεκριμένου καρκίνου.

3.4.1. Χρωμοσωμική θέση 8q24



Εικόνα 15. Τα *c-MYC* και *FAM84B* είναι γνωστά γονίδια στο 8q24 που συνορεύουν με τη λεγόμενη “έρημο” γονιδίων (*Kastler et al, 2009*).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει, στον καρκίνο του προστάτη, η χρωμοσωμική περιοχή 8q24, γνωστή και ως “γονιδιακή έρημος” του χρωμοσώματος 8. Η περιοχή αυτή του χρωμοσώματος ανακαλύφθηκε μέσω μίας λεπτομερούς χαρτογράφησης για τον καρκίνο του προστάτη στα πλαίσια μίας οικογενειακής μελέτης της deCODE genetics, η οποία αποκάλυψε κοινά αλληλόμορφα για τον καρκίνο του προστάτη, του παχέος εντέρου και του μαστού (**Grisanzio & Freedman, 2010; Amundadottir et al, 2006; Haiman, 2007α; Haiman, 2007β**).

Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν έναν κοινό βιολογικό μηχανισμό, που αποτελεί τη βάση της συσχέτισης του καρκίνου με τους πολυμορφισμούς που έχουν καταγραφεί στη χρωμοσωμική περιοχή 8q24. Η περιοχή αυτή περιέχει κυρίως ρυθμιστικά στοιχεία και ενισχυτές. Το πλησιέστερο γνωστό γονίδιο είναι το ογκογονίδιο MYC.

Η χρωμοσωμική θέση 8q24 αποτελεί μία σημαντική περιοχή στη γενετική ευαισθησία για τον καρκίνο του προστάτη (**Haiman, 2007β; Darst et al, 2020**). Όπως προαναφέρθηκε, η περιοχή αυτή είναι γνωστή ως μια έρημος γονιδίων, μήκους 1,2 Mb, μεταξύ των γονιδίων *FAM84B* και *c-MYC*. Το πλησιέστερο SNP ευαισθησίας που σχετίζεται με τον καρκίνο του προστάτη, εδράζεται περίπου 200 kb ανοδικά του ογκογονιδίου *MYC*. Το ογκογονίδιο *MYC* κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζει τα γονίδια που εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπτυξη, διαφοροποίηση και απόπτωση. Το MYC υπερεκφράζεται συνήθως σε νεοπλάσματα του προστάτη και θεωρείται παίζει ρόλο στην καρκινογένεση και ιδιαίτερα στην εξέλιξη της νόσου (**Koh et al, 2010**).

Ωστόσο υπάρχουν πολλά άλλα γονίδια και μη κωδικοποιητικά RNA (ncRNAs) που βρίσκονται στην 8q24 χρωμοσωμική θέση, όπως το *POU5F1B* (που μέχρι πρόσφατα χαρακτηριζόταν ως ψευδογονίδιο), τα PRNCR1, CASC11 και CCAT2, τα οποία υπερεκφράζονται επίσης στον καρκίνο του προστάτη και παίζουν ενδεχομένως ρόλο στην ανάπτυξη ή/και εξέλιξη του (**Kastler et al, 2009**); (**Chung et al, 2010**), (**Bawa et al, 2015**), (**Zheng et al, 2016**).

Το γονίδιο *POU5F1B* χαρακτηριζόταν ως ψευδογονίδιο (*POU5F1P1*). Ωστόσο, μία πρόσφατη μελέτη αναφέρει τον πιθανό του ρόλο ως ασθενή ενεργοποιητή της μεταγραφής. Ο γενετικός τόπος PVT1 εκφράζει αρκετά μη κωδικοποιητικά μετάγραφα και πιστεύεται ότι αποτελεί τον ξενιστή σε ένα σύμπλεγμα microRNAs (miR-1204). Ωστόσο, δεν έχει προσδιορισθεί σαφής λειτουργικός ρόλος για κανένα από αυτά τα

μετάγραφα και η έλλειψη κωδικοποιητικών γονιδίων στη συγκεκριμένη περιοχή, οδήγησε στον χαρακτηρισμό αυτής ως «γονιδιακή έρημος 8q24» (*Huppi et al, 2012*).

3.4.2 Χρωμοσωμική θέση 19q13

Η χρωμοσωμική θέση 19q13 περιέχει αρκετούς μεταγραφικούς παράγοντες, οι οποίοι σχετίζονται με τον καρκίνο του προστάτη. Σε αντίθεση με τους καλά μελετημένους ρυθμιστές AR, HOXB13 και ERG στον καρκίνο του προστάτη, το γονίδιο *HOXA2* ανακαλύφθηκε σχετικά πρόσφατα και δεν έχει μελετηθεί καλά. Ωστόσο, πρόσφατες εργασίες, σχετικά με τη λειτουργία του *HOXA2* στον καρκίνο του προστάτη, έδειξαν ότι πρόκειται για ένα γονίδιο που ανταποκρίνεται στα ανδρογόνα και είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη και τη διεισδυτικότητα των νεοπλασματικών κυττάρων του προστάτη. Βρέθηκε επίσης ότι τα επίπεδα των *HOXA2* mRNA μεταγράφων αυξάνονται σημαντικά σε πρωτοπαθή και μεταστατικά δείγματα ασθενών με καρκίνο του προστάτη. Τα υψηλά επίπεδα έκφρασης του *HOXA2* αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη υποτροπής και συνολικής επιβίωσης του καρκίνου του προστάτη. Τα PCAT19 και CEACAM21 αποτελούν γονίδια άμεσου στόχου για το *HOXA2* (*Xia & Wei, 2018*).

Στη χρωμοσωμική θέση 19q12-13 εδράζονται γονίδια της οικογένειας των καλλικρεϊνών (KLK). Πρόκειται για 15 γονίδια που εκτείνονται σε μια περιοχή μήκους 300 kb, στον γενετικό τόπο 19q13.4 και κωδικοποιούν το μεγαλύτερο γνωστό σύμπλεγμα πρωτεασών σερίνης στο ανθρώπινο γονιδίωμα (*Yousef, Luo, & Diamandis, 1999; Diamandis et al, 2000*). Τα KLK3 και KLK2 γονίδια, εδράζονται δίπλα το ένα στο άλλο και εκφράζονται σχεδόν αποκλειστικά στον προστατικό ιστό. Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP) στις περιοχές αυτές σχετίζονται με τον καρκίνο του προστάτη (*Huifeng et al, 2020*).

Το *KLK3* γονίδιο κωδικοποιεί το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) (*Riegman et al, 1989*). Το *KLK2* γονίδιο κωδικοποιεί την ανθρώπινη καλλικρεΐνη 2 (hK2), η οποία είναι ειδική για τον προστάτη και ρυθμίζει την έκφραση του PSA (*Partin et al, 1999*). Η hK2 εκφράζεται σε υψηλότερα επίπεδα σε κακώς διαφοροποιημένους καρκίνους προστάτη και εμπλέκεται ενδεχομένως στην καρκινογένεση αυτού (*Tremblay, 1997*).

4 ΣΚΟΠΟΣ

Η παρουσία πολυμορφισμών σε γονίδια σημαντικά για την ανάπτυξη και τη λειτουργία του προστάτη αδένος, θα οδηγούσαν ενδεχομένως σε ποσοτικές και ποιοτικές λειτουργικές διαφορές στην έκφραση των αντίστοιχων πρωτεϊνών με αποτέλεσμα τη διατάραξη της φυσιολογίας των υγιών ιστών (Lander, 1996; Ponder, 2001).

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη των πολυμορφισμών rs4242382, rs1447295 και rs2735839 στις χρωμοσωμικές θέσεις 8q24 locus και 19q13. Ο rs4242382 SNP εδράζεται 230 kb μακριά από το ογκογονίδιο MYC, στη δεύτερη περιοχή του 8q24 και ο rs1447295 SNP βρίσκεται περίπου 263 kb μακριά από άκρο του MYC, στην πρώτη περιοχή του 8q24 (*Liu et al, 2015; Zhao et al, 2014*). Ο πολυμορφισμός rs2735839, αποτελεί έναν διαγονιδιακό πολυμορφισμό, ο οποίος εδράζεται στην χρωμοσωμική θέση 19q13.33, 600 kb καθοδικά της μη μεταφράσιμης περιοχής του γονιδίου πεπτιδάσης 3 (KLK3) (*Kote-Jarai et al 2011*).

Στόχος της μελέτης μας είναι να εξετάσουμε την κατανομή των συγκεκριμένων πολυμορφισμών σε ασθενείς με καρκίνο προστάτη στον ελληνικό πληθυσμό και να διερευνήσουμε τον πιθανό τους ρόλο ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

5 ΥΛΙΚΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε 49 ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Οι ασθενείς προσήλθαν στην Ουρολογική Κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Στα πλαίσια της εργασίας συλλέξαμε περιφερικό αίμα, τόσο από τους ασθενείς όσο και από 29 υγιή άτομα που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου (control group).

5.1 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ ΑΙΜΑ ΥΓΙΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΚΑΙ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΗ

Η απομόνωση του γενωμικού DNA έγινε με τη βοήθεια του QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, GERMANY) σύμφωνα με το ακόλουθο πρωτόκολλο:

1. Μεταφορά 400 μl περιφερικού αίματος από φιαλίδιο γενικής αίματος με EDTA σε σωληνάριο τύπου Eppendorf των 2 ml.
2. Προσθήκη 40 μl διαλύματος πρωτεϊνάσης K.
3. Προσθήκη 200 μl λυτικού διαλύματος AL.
4. Καλή ανάμιξη (Vortex) και σύντομη φυγοκέντρηση (spin) για την απομάκρυνση των σταγονιδίων από το καπάκι και τα τοιχώματα του σωληναρίου.
5. Επώαση σε υδατόλουτρο στους 56°C για 15 λεπτά.
6. Σύντομη φυγοκέντρηση (Spin).
7. Προσθήκη 200 μl διαλύματος απόλυτης αιθυλικής αλκοόλης (100%).
8. Μεταφορά του διαλύματος σε στήλη (QIAamp Mini Spin Column) σε σωληνάριο συλλογής των 2 ml.
9. Φυγοκέντρηση στις 15.000 στροφές (rpm) για 5 λεπτά.
10. Μεταφορά της στήλης σε νέο σωληνάριο συλλογής.
11. Προσθήκη 500 μl διαλύματος έκπλυσης 1 (Wash Buffer 1) και φυγοκέντρηση στις 15.000 στροφές (rpm) για 5 λεπτά.
12. Μεταφορά της στήλης σε νέο σωληνάριο συλλογής.
13. Προσθήκη 500 μl διαλύματος έκπλυσης 2 (Wash Buffer 2) και φυγοκέντρηση στις 15.000 στροφές (rpm) για 10 λεπτά.
14. Μεταφορά της στήλης σε νέο σωληνάριο συλλογής.

15. Προσθήκη 50 μl δις απεσταγμένο νερό (ddH₂O).
16. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 5 λεπτά και φυγοκέντρηση στις ίδιες συνθήκες για 5 λεπτά.
17. Προσθήκη των ιδίων 50μl ddH₂O στη στήλη, επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και φυγοκέντρηση στις ίδιες συνθήκες για 5 λεπτά.
18. Αποθήκευση του σωληναρίου Eppendorf , που περιέχει το γενωμικό DNA στην κατάψυξη (-20°C) μέχρι την επόμενη χρήση.

5.2 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΩΜΙΚΟΥ DNA

5.2.1 Φωτομέτρηση

Η φωτομέτρηση είναι μια μέθοδος για τη μέτρηση της καθαρότητας, της ποιότητας και της συγκέντρωσης των διαλυμάτων των νουκλεϊκών οξέων. Στο πείραμα μας πραγματοποιήθηκε η διαδικασία της φωτομέτρησης των δειγμάτων του γενωμικού DNA προκειμένου να αξιολογήσουμε την καθαρότητά του και αν εκτιμήσουμε τη συγκέντρωση. Η καθαρότητα του δείγματος προσδιορίζεται με τη μέτρηση της απορρόφησης του δείγματος σε δύο μήκη κύματος, στα 260nm και στα 280nm και εκτιμάται από το λόγο OD260/OD280. Οι τιμές μεταξύ 1.7-1.9, αντιπροσωπεύουν ένα υψηλής καθαρότητας DNA. Τιμές <1.7 είναι ενδεικτικές της ύπαρξης προσμίξεων, συνήθως πρωτεϊνών ή αιθανόλης, ενώ τιμές >1.9 είναι ενδεικτικές πρόσμιξης με άλλα μακρομόρια. Για τον υπολογισμό, λοιπόν, της συγκέντρωσης του δίκλωνου DNA χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος:

$$\text{CdsDNA}(\mu\text{g/ml}) = \text{τιμή OD260} \times 50 \times \text{συντελεστή αραίωσης}$$

5.2.2 Ηλεκτροφόρηση των απομονωθέντων δειγμάτων γενωμικού DNA

Ακολούθησε η ηλεκτροφόρηση των δειγμάτων DNA σε πήκτωμα αγαρόζης 1.5%, προκειμένου να ελέγξουμε την ακεραιότητα του δείγματός μας με την τοποθέτηση του σε πήκτωμα αγαρόζης υπό υπεριώδες φως (UV).

5.2.3 Παρασκευή πηκτώματος αγαρόζης

Για την παρασκευή του πηκτώματος αγαρόζης ακολουθήθηκε το παρακάτω πρωτόκολλο:

1. Μέτρηση σε ζυγό ακριβείας της επιθυμητής ποσότητας αγαρόζης (UltraPure Agarose, ThermoScientific) σε σκόνη και μεταφορά της σε ογκομετρική φιάλη. Προσθήκη 300 ml ρυθμιστικού διαλύματος ηλεκτροφόρησης TBE Buffer (TRIS-BORIC-EDTA) 10X και ανάδευση.
 - για πήκτωμα αγαρόζης σύστασης 1.5% => 4,5 γραμμάρια αγαρόζης
 - για πήκτωμα αγαρόζης σύστασης 3% => 9 γραμμάρια αγαρόζης
2. Τοποθέτηση της ογκομετρικής φιάλης σε φούρνο μικροκυμάτων και θέρμανση του μίγματος ώστε να διαλυθεί η αγαρόζη και να γίνει διαυγές το διάλυμα.
3. Τοποθέτηση του μίγματος σε απαγωγό και προσθήκη του βρωμιούχου του αιθιδίου στο μίγμα (0,5μg/ml). Η ένωση αυτή εισέρχεται στις βάσεις του DNA και φθορίζει παρουσία υπεριώδους φωτός (UV).
4. Ήπια ανάδευση του μίγματος και τοποθέτηση του περιεχομένου σε κατάλληλο εκμαγείο.
5. Παραμονή σε απαγωγό έως ότου πολυμεριστεί η αγαρόζη και στερεοποιηθεί το πήκτωμα.
6. Αφαίρεση του πηκτώματος από το εκμαγείο, τοποθέτηση σε μεμβράνη και αλουμινόχαρτο, ώστε να προστατευθεί από το φως και την αφυδάτωση και αποθήκευσή του στη συντήρηση (ψυγείο).

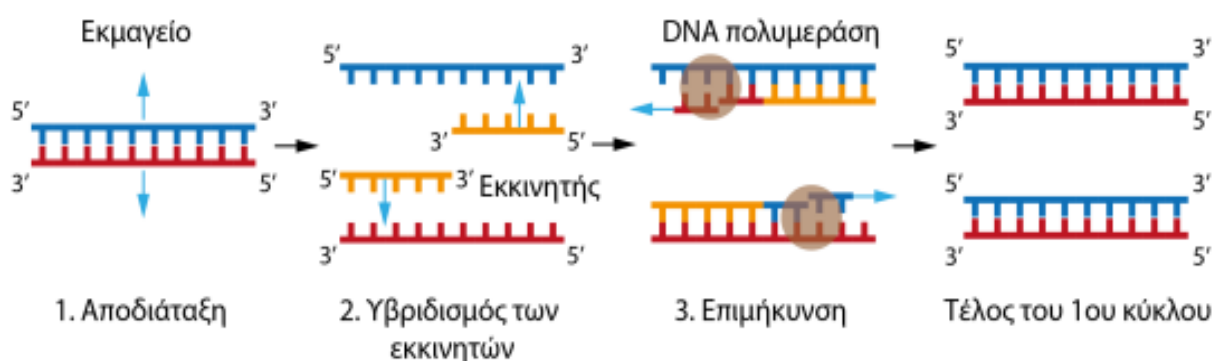
5.3 ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (Polymerase Chain Reaction, PCR)

5.3.1 Αρχή Λειτουργίας

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) είναι η κύρια μέθοδος ενζυμικής ενίσχυσης ενός τμήματος γενετικού υλικού *in vitro*, με σκοπό την περαιτέρω μελέτη και διερεύνησή του. Η PCR χωρίζεται σε τρία στάδια τα οποία επαναλαμβάνονται διαδοχικά (Εικόνα 16). Τα στάδια αυτά είναι:

1. Η **αποδιάταξη** των ελίκων του δίκλωνου DNA (denaturation), κατά την οποία οι δύο αλυσίδες του DNA αποδιατάσσονται με θέρμανση ($94^{\circ}\text{C} - 95^{\circ}\text{C}$) για τρία έως πέντε λεπτά.
2. Ο **υβριδισμός** των εκκινητών (hybridization), στάδιο κατά το οποίο μειώνεται η θερμοκρασία ($55 - 56^{\circ}\text{C}$) και οι κατάλληλοι για την εκάστοτε αντίδραση εκκινητές υβριδοποιούνται με τις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες στις αλυσίδες του DNA.
3. Η **επιμήκυνση** (extension), όπου η θερμοκρασία αυξάνεται στους 72°C και με τη βοήθεια της Taq DNA πολυμεράσης και μίγματος dNTPs (τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια) οι εκκινητές επιμηκύνονται με βάση τη συμπληρωματική τους αλληλουχία με ρυθμό σύνθεσης των νέων αλυσίδων, περίπου 1000 ζ.β. ανά λεπτό.

Τα στάδια αυτά επαναλαμβάνονται από 25 έως 35 φορές και όλη η διαδικασία πραγματοποιείται σε θερμικό κυκλοποιητή (thermal cycler), που μπορεί να εναλλάσσει τη θερμοκρασία αυτόματα βάσει του προγράμματος που εμείς ρυθμίζουμε.



Εικόνα 16. Στάδια της PCR. Πηγή: (Παλαιολόγου, Κατσαρέλη & Παπανικολάου, 2010).

Η διαδικασία της PCR είναι πολύπλοκη και κάθε συστατικό της αντίδρασης ενίσχυσης επηρεάζει την αποτελεσματικότητα και την επιτυχία του αποτελέσματος. Παράγοντες όπως η συγκέντρωση των εκκινητών, το εκμαγείο, τα dNTPs, τα ιόντα μαγνησίου (Mg^{2+}), ο τύπος της χρησιμοποιούμενης πολυμεράσης, η περιεκτικότητα σε GC και οι συνθήκες που εκτελείται η PCR αντίδραση πρέπει να είναι ισορροπημένοι, ώστε να εξασφαλίσουμε τη βέλτιστη απόδοση.

Τα βασικά συστατικά για τη διενέργεια της αντίδρασης είναι τα εξής:

1. Η μήτρα (DNA ή RNA), το οποίο χρησιμοποιείται ως εκμαγείο για την αντίδραση και περιέχει την αλληλουχία που θέλουμε να ενισχύσουμε.
2. Η DNA πολυμεράση (Taq DNA Polymerase), ένα θερμοανθεκτικό ένζυμο που συνθέτει μια συμπληρωματική αλυσίδα DNA, χρησιμοποιώντας ένα μονόκλωνο μόριο ως εκμαγείο και έναν εκκινητή ως σημείο εκκίνησης. Η σύνθεση της νέας αλυσίδας έχει κατεύθυνση $5' \rightarrow 3'$.
3. Οι εκκινητές (Primers), οι οποίοι είναι ολιγονουκλεοτίδια γνωστής αλληλουχίας και οριοθετούν την αλληλουχία του DNA, που πρόκειται να πολλαπλασιαστεί.
4. Το ρυθμιστικό διάλυμα της αντίδρασης (Buffer) που ρυθμίζει το pH περίπου στο 8.5 καθώς και την ιοντική ισχύ λόγω της παρουσίας αλάτων της αντίδρασης.
5. Το χλωριούχο μαγνήσιο ($MgCl_2$), που δημιουργεί διαλυτά σύμπλοκα με τα dNTPs, την αλυσίδα του DNA και τους εκκινητές.
6. Τα νουκλεοτίδια (dNTPs), ένα ισομοριακό μίγμα τεσσάρων νουκλεοτιδίων (ATP, TTP, CTP και GTP) που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση της νέας αλυσίδας αλυσίδας.

(Παλαιολόγου, Κατσαρέλη & Παπανικολάου, 2010)

5.3.2 Amplification-Refractory Mutation System (ARMS) PCR

Το σύστημα ενίσχυσης-ανθεκτικής μετάλλαξης (ARMS), είναι γνωστό και ως αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αλληλομόρφων (ASPCR) ή ενίσχυση PCR συγκεκριμένων αλληλόμορφων. Αποτελεί μια απλή, γρήγορη και αξιόπιστη μέθοδο για την ανίχνευση οποιασδήποτε μετάλλαξης που περιλαμβάνει αλλαγές μίας βάσης ή μικρές διαγραφές. Βασίζεται στη χρήση ειδικών για την αλληλουχία εκκινητών, που επιτρέπουν την ενίσχυση της επιθυμητής DNA αλληλουχίας μόνο όταν το

αλληλόμορφο στόχος περιέχεται στο δείγμα. Μετά τη διεξαγωγή της αντίδρασης ARMS, η παρουσία ή η απουσία του προϊόντος της PCR είναι διαγνωστική, για την παρουσία ή την απουσία του αλληλόμορφου στόχου αντίστοιχα (*Little, 2001*).

Στην πειραματική διαδικασία που ακολουθήσαμε, για τον προσδιορισμό του κάθε SNP χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία PCR (T-ARMS-PCR) με τη βοήθεια τεσσάρων εκκινητών (Tetra-primer amplification). Η επιλογή των εκκινητών έγινε με βάση τη βιβλιογραφία. Οι εκκινητές ελέγχθηκαν ως προς την αλληλουχία τους μέσω της βάσης Primer-BLAST-NCBI. Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται τέσσερις εκκινητές σε μία μόνο αντίδραση για την ανίχνευση του γονοτύπου, οι οποίοι περιλαμβάνουν δύο εξωτερικούς, μη ειδικούς εκκινητές και δύο εσωτερικούς, ειδικούς για τα αλληλόμορφα που εξετάζουμε.

Στις αλληλουχίες των εκκινητών, το νουκλεοτίδιο που καθορίζει τα διαφορετικά αλληλόμορφα και τα προϊόντα της ARMS-PCR αντίδρασης παρατίθενται παρακάτω. Ο θετικός έλεγχος (C+) είναι το προϊόν των δύο μη ειδικών εξωτερικών εκκινητών. Χρησιμοποιήθηκε επίσης αρνητικός μάρτυρας, για τον έλεγχο πιθανής επιμόλυνσης κατά την αντίδραση της PCR (*Beikzadeh, 2020*).

Πίνακας 5: Αλληλουχίες εκκινητών και προϊόντα της PCR αντίδρασης				
		<i>rs1447295</i>	<i>rs2735839</i>	<i>rs4242382</i>
Forward (Fi)*	inner	AAGTGCCATTGGGGAGGT ATGTAAGAC <u>C</u>	GCCTAGGGATCTGGTTCTG TCTTGTGGAC <u>G</u>	GAACATTTTGTCCCTCT AGTTATCTTCAC <u>G</u>
Reverse (Ri)*	inner	TCCTGTTGCTTTTTTCCA TAGCGC <u>I</u>	CCTTCTTGGGATAGCCCCA TGGTCCAAT <u>I</u>	TACTGCCTGATTCTTGA TGGGCCCG <u>I</u>
Forward (Fo)	outer	ATTCTAGAACACATATTGC CTGCCACTGA	CTGTTAGCATGAATCATCT GGCACGGCC	TTCTCTTTCCATTCCCTG TCCTCTCCC
Reverse (Ro)	outer	CTTAAATTTCTTTTCTCC CAGATTTTCCC	TAACCTCAGGGTGGGAATT CCTCCAGCA	TTATGAACATCTGCATA GAGGGACGCTG
Προϊόντα PCR κατά την		C (wild) = 152 bp A (mutant) = 228 bp	G (wild) = 179 bp A (mutant) = 268 bp	G (wild) = 233 bp A (mutant) = 355 bp

ηλεκτροφόρηση	A/C = 228/152 bp C+ = 327 bp	A/G = 268/179 bp C+ = 388 bp	A/G = 355/233 bp C+ = 532 bp
*με έντονα γράμματα εμφανίζονται τα νουκλεοτίδια που παίζουν ρόλο στην αλληλουχία των εκκινητών *Οι primers που χρησιμοποιήθηκαν είναι της εταιρίας Eurofins			

Στη συγκεκριμένη εργασία, η PCR πραγματοποιήθηκε σε θερμικό κυκλοποιητή τύπου Eppendorf (EP MASTER CYCLER), με χρήση του HotStarTaq Master της εταιρείας QIAGEN και εκκινητές της εταιρείας Eurofins Genomics. Οι αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το πρωτόκολλο που απεικονίζεται στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6: Συστατικά Mastermix PCR ανά αντίδραση για SNP: rs1447295	
Mastermix	Όγκος
HotStarTaq Master Mix	9 μl
Primer Fi	0.6 μl
Primer Ri	0.6 μl
Primer Fo	0.6 μl
Primer Ro	0.6 μl
ddH ₂ O	16.6 μl
Vτελ=30μl, VDNA=2μl, Vmix=28μl	

Πίνακας 7: Συστατικά Mastermix PCR ανά αντίδραση για SNP: <i>rs2735893</i>	
Mastermix	Όγκος
HotStarTaq Master Mix	9 μ l
Primer Fi	0.6 μ l
Primer Ri	0.6 μ l
Primer Fo	0.6 μ l
Primer Ro	0.6 μ l
ddH ₂ O	16.6 μ l
V _{τελ} =30 μ l, V _{DNA} =2 μ l, V _{mix} =28 μ l	

Πίνακας 8: Συστατικά Mastermix PCR ανά αντίδραση για SNP: <i>rs4242382</i>	
Mastermix	Όγκος
HotStarTaq Master Mix	12 μ l
Primer Fi	0.8 μ l
Primer Ri	0.8 μ l
Primer Fo	0.8 μ l
Primer Ro	0.8 μ l
ddH ₂ O	12.8 μ l
V _{τελ} =30 μ l, V _{DNA} =2 μ l, V _{mix} =28 μ l	

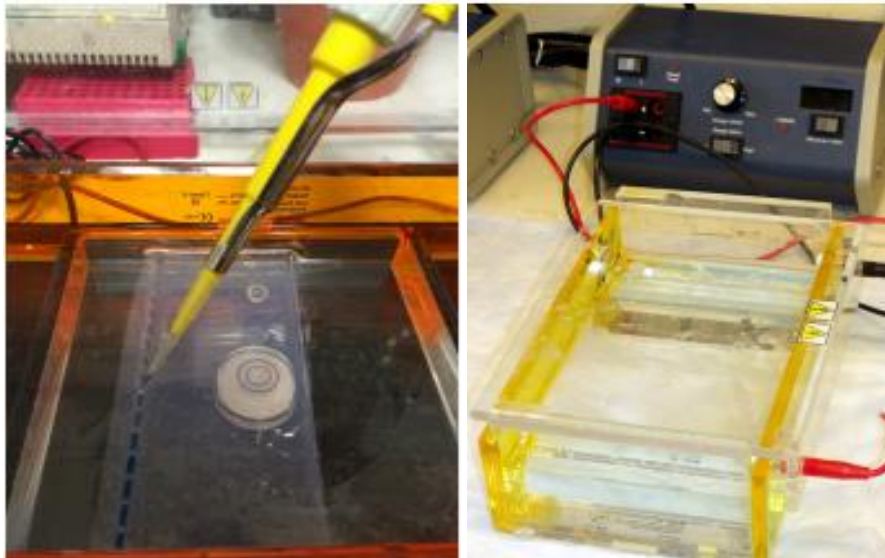
Οι συνθήκες εκτέλεσης της PCR αντίδρασης στον θερμικό κυκλοποιητή:

Program: (PRO1) για <i>rs1447295, rs2735893</i>	
Θερμοκρασία	Χρόνος
95°C	15'
35 κύκλοι:	
95°C	45''
60°C	45''
72°C	45''
72°C	8'
4°C	∞

Program: (PRO2) για <i>rs4242382</i>	
Θερμοκρασία	Χρόνος
95°C	15'
35 κύκλοι:	
95°C	45''
63°C	45''
72°C	45''
72°C	8'
4°C	∞

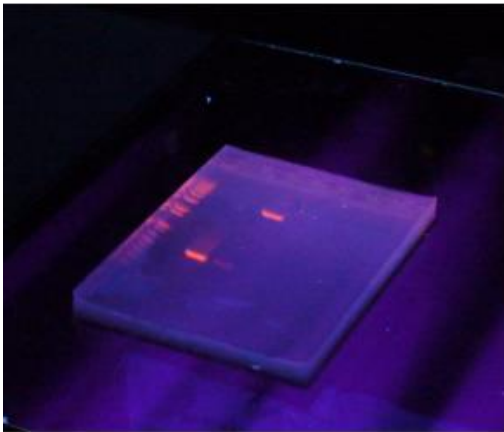
5.4 ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΩΝ PCR ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Η ηλεκτροφόρηση είναι μια ευρέως διαδεδομένη τεχνική για το διαχωρισμό και την ανάλυση των νουκλεϊκών οξέων (DNA, RNA) και των πρωτεϊνών. Βασίζεται στην κίνηση φορτισμένων μορίων κατά μήκος ενός στερεού πορώδους υποστρώματος στα άκρα του οποίου εφαρμόζεται ηλεκτρική τάση. Η μετακίνηση των μορίων γίνεται προς την άνοδο (+) λόγω του αρνητικού φορτίου που τους προσδίδει η παρουσία των φωσφορικών ομάδων. Ο διαχωρισμός των μορίων γίνεται κατά κύριο λόγο με το μέγεθός τους.



Εικόνα 17. Α. Έγχυση δειγμάτων σε πήκτωμα αγαρόζης. **Β.** Εφαρμογή ηλεκτρικής τάσης σε πήκτωμα αγαρόζης «Gel electrophoresis apparatus» του Jeffrey M. Vinocur με άδεια CC BY 2.5. Πηγή: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gel_electrophoresis_apparatus.JPG#/media/File:Gel_electrophoresis_apparatus.JPG

Ταυτόχρονα με τα δείγματα φορτώνεται ανάμεσα τους και ένας μάρτυρας γνωστού μοριακού βάρους για την εκτίμηση του μεγέθους των προϊόντων. Το τελευταίο στάδιο είναι η μεταφορά του πήκτωματος υπό λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) και η αξιολόγηση των εμφανιζόμενων δειγμάτων με τη δημιουργία εικόνας μέσω προγράμματος στον υπολογιστή.

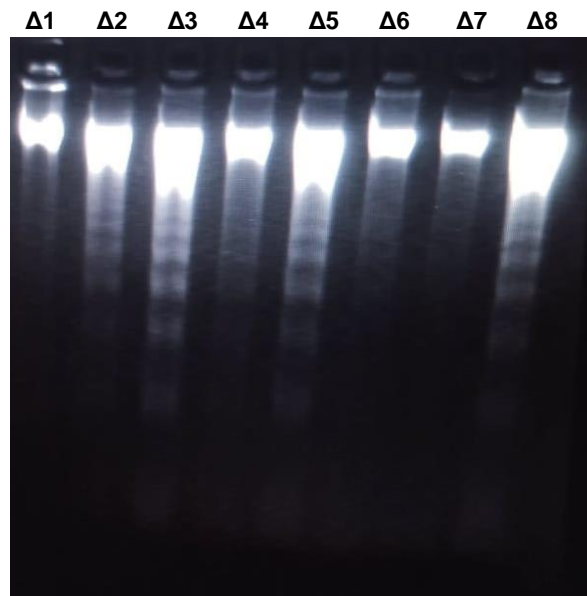


Εικόνα 18. Παρατήρηση του πήκτωματος αгарόζης σε τράπεζα υπεριώδους ακτινοβολίας. Η φθορίζουσα χρωστική που έχει προστεθεί στο πήκτωμα, κάνει τα μόρια του DNA να φθορίζουν και γίνονται ορατά ως πορτοκαλόχρωμες ζώνες. Πηγή: «Cutting of the agarose gel» από Coen με άδεια CC BY 2.0.

Πηγή: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cutting_of_the_agarose_gel.jpg#/media/File:Cutting_of_the_agarose_gel.jpg.

6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία μελετήθηκαν συνολικά 78 άτομα, τα οποία προσήλθαν στην Ουρολογική κλινική και από τα οποία συλλέχθηκαν κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά, όπως αυτά απεικονίζονται στον **(Πίνακα 9)**. Από τα 78 άτομα, 49/78 άτομα (62.82%) ήταν ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και 29/78 άτομα (37.18%) ήταν υγιή (ομάδα ελέγχου). Έγινε συλλογή περιφερικού αίματος και ακολούθησε απομόνωση γενωμικού DNA. Τα δείγματα ελέγχθηκαν ποιοτικά με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αгарόζης 2% και εκτίμηση υπό υπεριώδη ακτινοβολία (UV) (Εικόνα 19). Στη συνέχεια, με τη χρήση των κατάλληλων εκκινητών πραγματοποιήθηκε ενίσχυση των περιοχών του DNA που περιέχουν τους υπό εξέταση πολυμορφισμούς rs1447295 (C/A), rs2735839 (G/A) του γονιδίου *KLK3* και rs4242382 (G/A). Ακολούθησε ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αгарόζης, προκειμένου να ελεγχθεί ότι ενισχύθηκε ο σωστός γενετικός τόπος. Ως μάρτυρας στην ηλεκτροφόρηση χρησιμοποιήθηκε ο μάρτυρας γνωστού μοριακού βάρους 100 ζεύγη βάσεων (ζ.β.) της εταιρείας Solis Biodyne.



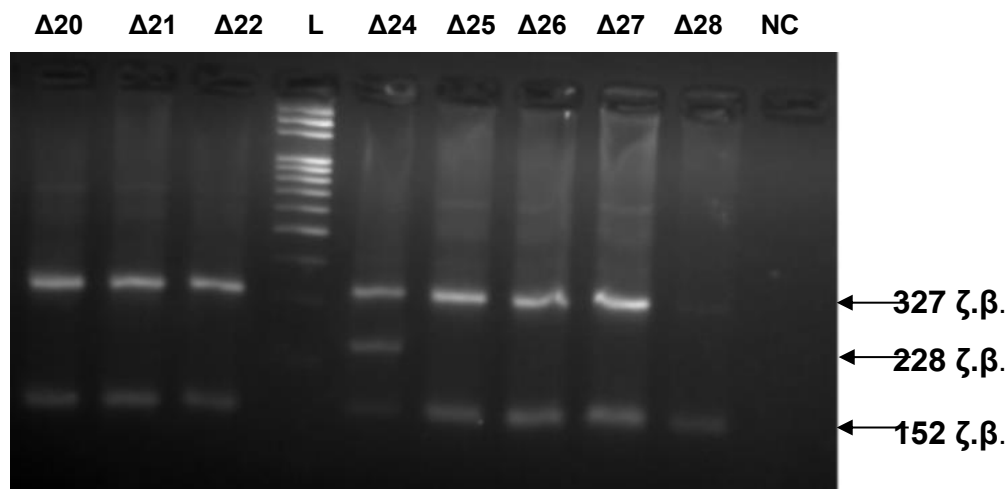
Εικόνα 19. Ηλεκτροφόρηση δειγμάτων γενωμικού DNA σε 2% πηκτή αραρόζης.

Πίνακας 9. Κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών με καρκίνο του προστάτη.

		Καρκίνος του προστάτη n (%)
Ηλικία	< 60 ετών	4 (8.2%)
	60-69 ετών	16 (32.7%)
	≥ 70 ετών	19 (38.8%)
PSA (ng/ml)	≤ 4	2 (4.1%)
	4,1 – 10	17 (34.7%)
	≥ 10	14 (28.6%)
Gleason score	< 7	14 (28.6%)
	7	21 (42.9%)
	≥ 8	7 (14.3%)

Για τον πολυμορφισμό rs1447295 εξετάστηκαν 3 γονότυποι: ο γονότυπος CC, ο γονότυπος CA και ο γονότυπος AA. Η ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR καθόρισε τον γονότυπο του κάθε δείγματος με βάση το πρότυπο ζωνώσεων (Εικόνα 20). Η ζώνη μεγέθους 152 ζ.β. αντιστοιχεί στο γονότυπο CC, ενώ η ζώνη μεγέθους 228 ζ.β. αντιστοιχεί στο γονότυπο AA. Ο γονότυπος CA (που αντιστοιχεί σε ετερόζυγο

άτομο) έχει πρότυπο ζωνώσεων 152 ζ.β και 228 ζ.β. (**Πίνακας 10**). Σε κάθε δείγμα, υπήρχε και μια ζώνη θετικού ελέγχου (C+) μεγέθους 327 ζ.β., που ήταν το προϊόν δύο μη-ειδικών εξωτερικών εκκινητών.



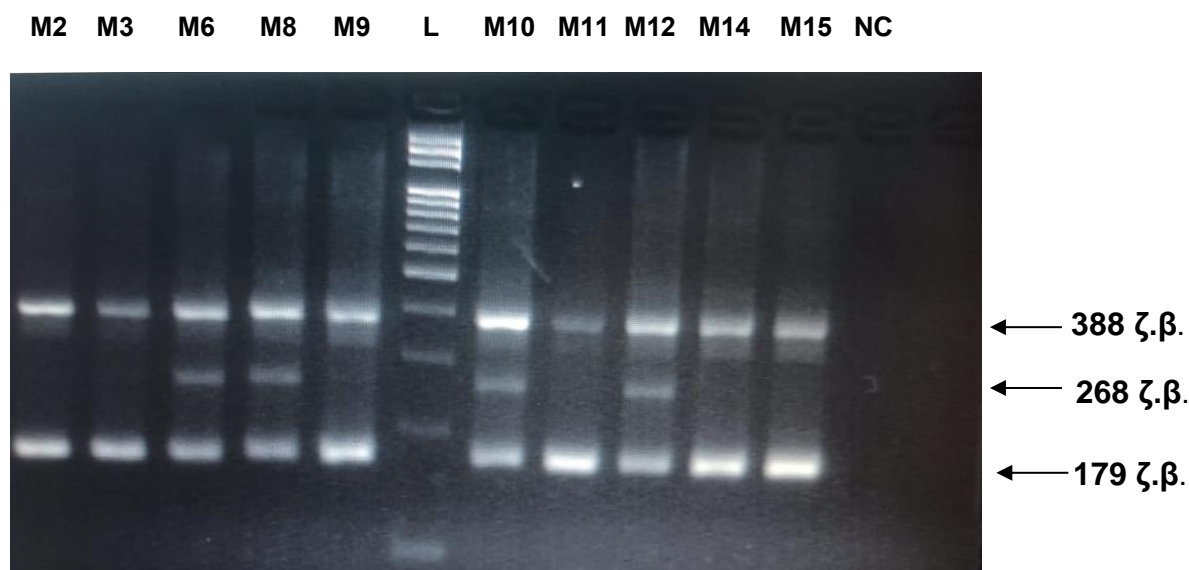
Εικόνα 20. Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων σε πήκτωμα αγαρόζης 3% για τον πολυμορφισμό rs1447295, γονότυπος CC: 152 ζ.β., γονότυπος AA: 228 ζ.β. L: 100 bp μάρτυρας (Solis Biodyne), NC: αρνητικός μάρτυρας, δείγματα: Δ20, Δ21, Δ22, Δ25, Δ26, Δ27, Δ28: γονότυπος CC, δείγμα Δ24: γονότυπος CA.

Πίνακας 10. Γονότυποι και αντίστοιχα μεγέθη προϊόντων της PCR για τον πολυμορφισμό rs1447295.

Γονότυποι πολυμορφισμού rs1447295	Μέγεθος προϊόντων PCR αντίδρασης (ζ.β.)
CC	152
CA	152+228
AA	228

Για τον πολυμορφισμό rs2735839 εξετάστηκαν 3 γονότυποι: ο γονότυπος GG, ο γονότυπος GA και ο γονότυπος AA. Με βάση το πρότυπο ζωνώσεων από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR καθορίστηκε ο γονότυπος του κάθε δείγματος (Εικόνα 21). Η ζώνη μεγέθους 179 ζ.β. αντιστοιχεί στο γονότυπο GG, ενώ η ζώνη μεγέθους 268 ζ.β. αντιστοιχεί στο γονότυπο AA. Ο γονότυπος GA (που

αντιστοιχεί σε ετερόζυγο άτομο) έχει πρότυπο ζωνώσεων 179 ζ.β και 268 ζ.β. (Πίνακας 11). Σε κάθε δείγμα, υπήρχε και μια ζώνη θετικού ελέγχου (C+) μεγέθους 388 ζ.β., που ήταν το προϊόν δύο μη-ειδικών εξωτερικών εκκινήτων.



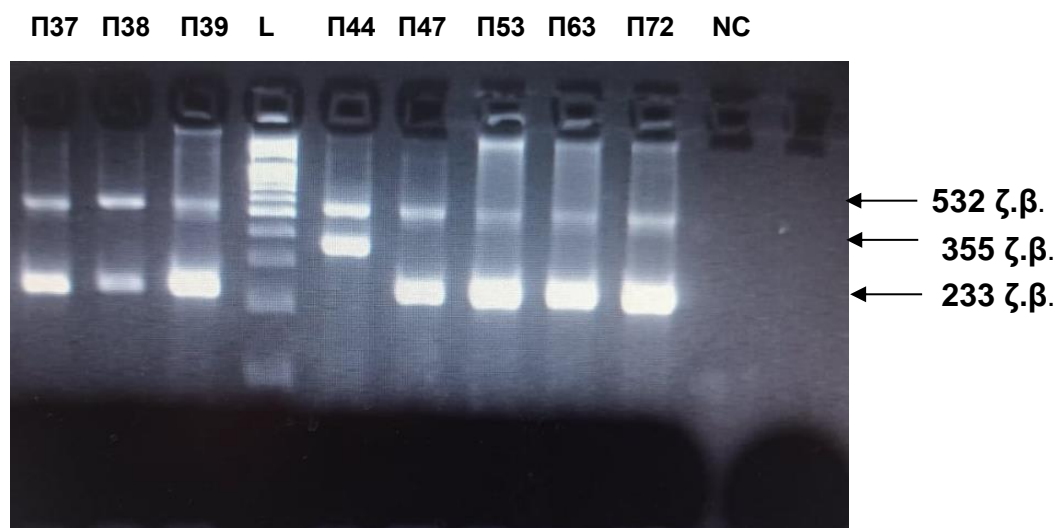
Εικόνα 21. Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων σε πήκτωμα αγαρόζης 3% για τον πολυμορφισμό rs2735839, γονότυπος GG: 179 ζ.β., γονότυπος AA: 268 ζ.β. L: 100 bp μάρτυρας (Solis Biotryne), NC: δείγμα αρνητικού ελέγχου, δείγματα: M6, M8, M10, M12: γονότυπος GA, δείγματα M2, M3, M9, M11, M14, M15: γονότυπος GG.

Πίνακας 11. Γονότυποι και αντίστοιχα μεγέθη προϊόντων της PCR για τον πολυμορφισμό rs2735839.

Γονότυποι πολυμορφισμού rs2735839	Μέγεθος προϊόντων PCR αντίδρασης (ζ.β.)
GG	179
GA	179+268
AA	268

Για τον πολυμορφισμό rs4242382 εξετάστηκαν 3 γονότυποι: ο γονότυπος GG, ο γονότυπος GA και ο γονότυπος AA. Με βάση το πρότυπο ζωνώσεων από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR καθορίστηκε ο γονότυπος του κάθε δείγματος (Εικόνα 22). Η ζώνη μεγέθους 233 ζ.β. αντιστοιχεί στο γονότυπο GG, ενώ

η ζώνη μεγέθους 355 ζ.β. αντιστοιχεί στο γονότυπο AA. Ο γονότυπος GA (που αντιστοιχεί σε ετερόζυγο άτομο) έχει πρότυπο ζωνώσεων 233 ζ.β και 355 ζ.β. (Πίνακας 12). Σε κάθε δείγμα, υπήρχε και μια ζώνη θετικού ελέγχου (C+) μεγέθους 532 ζ.β., που ήταν το προϊόν δύο μη-ειδικών εξωτερικών εκκινητών.



Εικόνα 22. Ηλεκτροφόρηση των PCR προϊόντων σε πήκτωμα αγαρόζης 3% για τον πολυμορφισμό rs4242382, γονότυπος GG: 233 ζ.β., γονότυπος AA: 355 ζ.β. L: 100 bp μάρτυρας (Solis Biodyne), NC: δείγμα αρνητικού ελέγχου, δείγματα: P37-P39, P47, P53, P63, P72: γονότυπος GG, δείγμα P44: γονότυπος AA.

Πίνακας 12. Γονότυποι και αντίστοιχα μεγέθη προϊόντων της PCR για τον πολυμορφισμό rs4242382.

Γονότυποι πολυμορφισμού rs4242382	Μέγεθος προϊόντων PCR αντίδρασης (ζ.β.)
GG	233
GA	233+355
AA	355

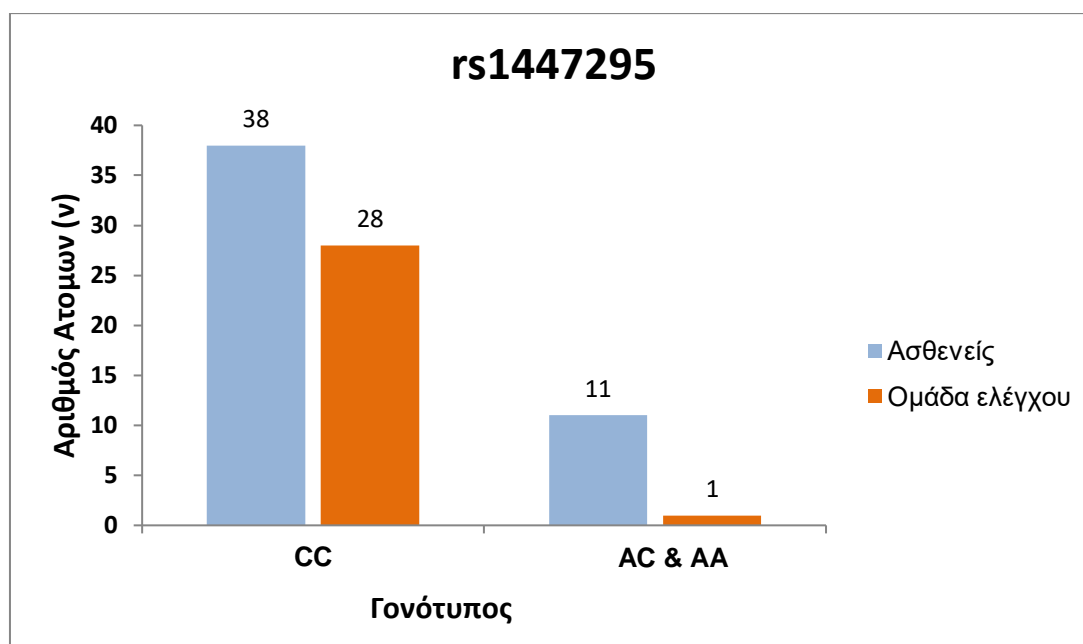
Στην παρούσα ερευνητική εργασία μελετήσαμε την παρουσία τριών πολυμορφισμών σε γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, που εκκρίνονται από τον προστάτη, τόσο σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη όσο και σε υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Ειδικότερα, μελετήσαμε τη συχνότητα των πολυμορφισμών στον ελληνικό πληθυσμό και εξετάσαμε τον πιθανό τους ρόλο ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Για τους ασθενείς με καρκίνο του προστάτη συλλέχθηκαν πληροφορίες σχετικά με το Gleason score και τις τιμές του PSA στο πλάσμα.

Στους ασθενείς με καρκίνο του προστάτη, το ηλικιακό εύρος ήταν μεταξύ 56-75 έτη και ο μέσος όρος ήταν 67 ± 5 έτη. Οι 14/49 ασθενείς (28.6%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 6, 21/49 ασθενείς (42.9%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 7, 4/49 ασθενείς (8.2%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 8 και 3/49 ασθενείς (6.1%) κατηγοριοποιήθηκαν με Gleason score 9. Δεν υπήρχαν δεδομένα για το Gleason score 7 ασθενών (7/49, 14.2%). Σχετικά με το PSA, υπήρχαν μετρήσεις σε 33/49 ασθενείς (67.3%). Η μέση τιμή PSA των ασθενών υπολογίστηκε 13.94 ± 15.96 ng/ml και το εύρος των τιμών του PSA κυμαινόταν από 0.007- 87.6.

Προκειμένου να εξετάσουμε την πιθανή συσχέτιση των προαναφερθέντων πολυμορφισμών με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη 29 υγιείς άνδρες, χωρίς οικογενειακό ιστορικό καρκίνου. Τα αποτελέσματα της PCR αντίδρασης αξιολογήθηκαν και καταγράφηκαν, ώστε να ακολουθήσει η στατιστική τους επεξεργασία με τη χρήση του προγράμματος SPSS version 22. Η ανάλυση έγινε χρησιμοποιώντας το chi-square με κατώφλι σημαντικότητας $p < 0.05$ και CI 95%.

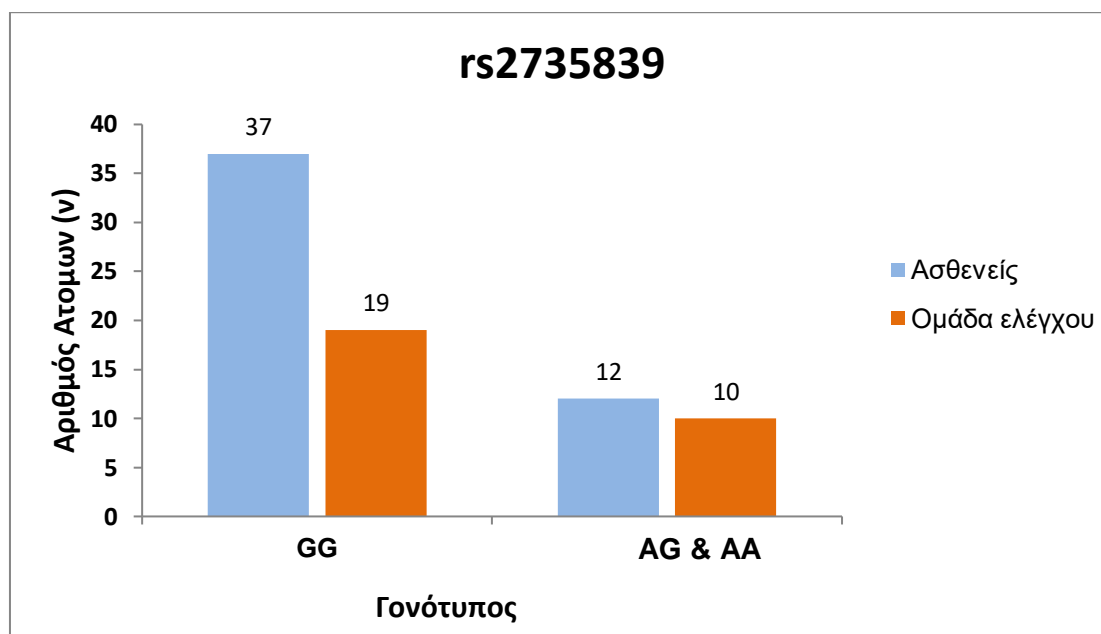
Σχετικά με τον πολυμορφισμό rs1447295, 28/29 υγιή άτομα (96.6%) φέρουν το αλληλόμορφο C σε ομοζυγωτία (γονότυπος CC), ενώ το λιγότερο συχνό στον γενικό πληθυσμό αλληλόμορφο A ανιχνεύθηκε σε 1/29 υγιή άτομα (3.4%) σε ετεροζυγωτία (γονότυπος CA). Στους ασθενείς, 38/49 έφεραν το αλληλόμορφο C σε ομοζυγωτία (77.6%) (γονότυπος CC), ενώ οι υπόλοιποι ασθενείς (11/49, 22.4%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A, είτε σε ομοζυγωτία (2/11, 18.2%) (γονότυπος AA) είτε σε ετεροζυγωτία (9/11, 81.8%) (γονότυπος CA). Υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στην κατανομή των αλληλομόρφων μεταξύ των δύο ομάδων που ελέγχθηκαν ($p < 0,05$) (**Διάγραμμα 1**).

Διάγραμμα 1. Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs1447295 στην ομάδα ελέγχου και στους ασθενείς.



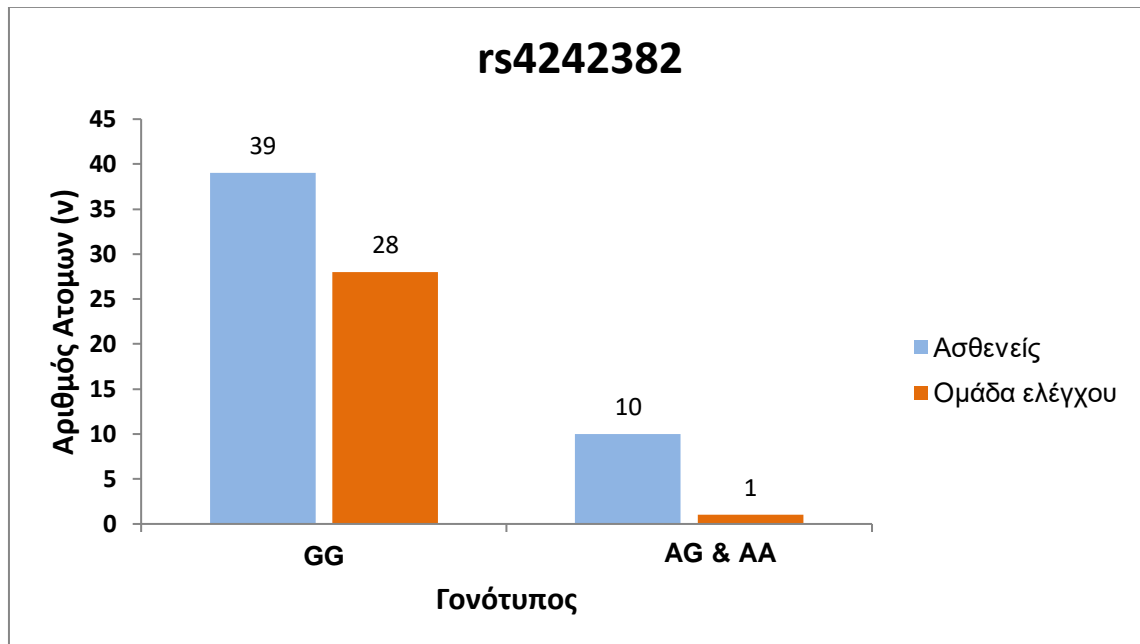
Ο δεύτερος πολυμορφισμός που εξετάστηκε ήταν ο rs2735839 του γονιδίου *KLK3*. 19/29 υγιή άτομα (65.5%) φέρουν το αλληλόμορφο G σε ομοζυγωτία (γονότυπος GG), ενώ το λιγότερο συχνό στον γενικό πληθυσμό αλληλόμορφο A ανιχνεύθηκε σε 10/29 υγιή άτομα (34.5%) σε ετεροζυγωτία (γονότυπος GA). Όσον αφορά την ομάδα των ασθενών, 37/49 έφεραν το αλληλόμορφο G σε ομοζυγωτία (75.5%) (γονότυπος GG), ενώ οι υπόλοιποι ασθενείς (12/49, 24.5%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A, είτε σε ομοζυγωτία (2/12, 16.7%) (γονότυπος AA) είτε σε ετεροζυγωτία (10/12, 83.3%) (γονότυπος GA). Δεν προέκυψε κάποια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p > 0.05$), καθώς η κατανομή των αλληλομόρφων είναι παρόμοια στις δύο εξεταζόμενες ομάδες (**Διάγραμμα 2**).

Διάγραμμα 2. Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs2735839 στην ομάδα ελέγχου και στους ασθενείς.



Ο τελευταίος πολυμορφισμός που εξετάστηκε ήταν ο rs4242382. 28/29 υγιή άτομα (96.6%) φέρουν το αλληλόμορφο G σε ομοζυγωτία (γονότυπος GG), ενώ το λιγότερο συχνό στον γενικό πληθυσμό αλληλόμορφο A ανιχνεύθηκε σε 1/29 υγιή άτομα (3.4%) σε ετεροζυγωτία (γονότυπος GA). Όσον αφορά την ομάδα των ασθενών, 39/49 έφεραν το αλληλόμορφο G σε ομοζυγωτία (79.6%) (γονότυπος GG), ενώ οι υπόλοιποι ασθενείς (10/49, 20.4%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A, είτε σε ομοζυγωτία (2/10, 20.0%) (γονότυπος AA) είτε σε ετεροζυγωτία (8/10, 80.0%) (γονότυπος GA). Υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στην κατανομή των αλληλομόρφων μεταξύ των δύο ομάδων ($p < 0.05$) (**Διάγραμμα 3**).

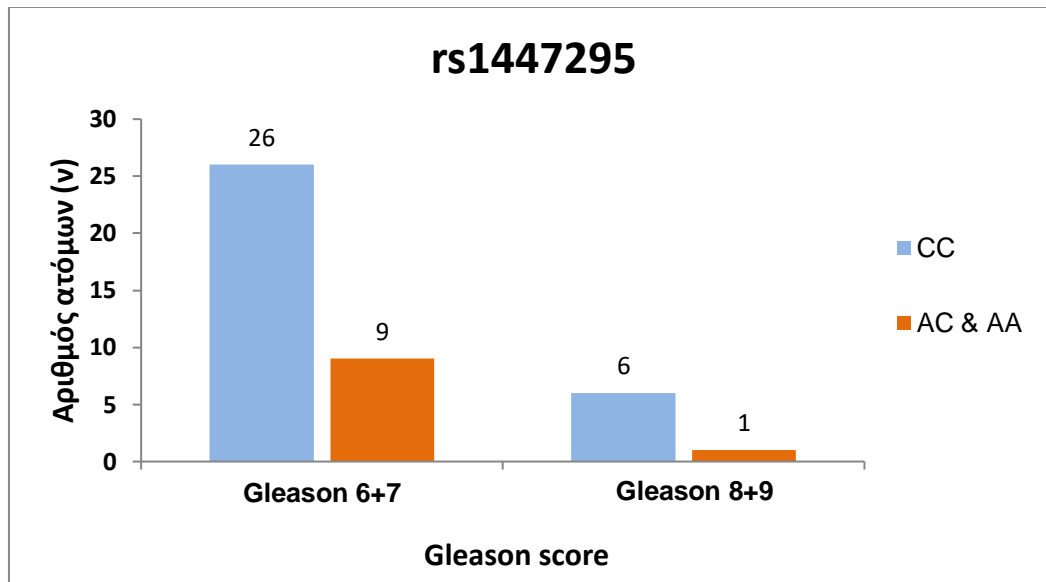
Διάγραμμα 3. Κατανομή των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs4242382 στην ομάδα ελέγχου και στους ασθενείς.



Επιπρόσθετα, εξετάσαμε την πιθανή συσχέτιση των προαναφερθέντων πολυμορφισμών με το σκορ κατά Gleason. Από τους 49 ασθενείς υπήρχαν διαθέσιμες οι μετρήσεις του σκορ κατά Gleason για 42 ασθενείς. Έγινε ομαδοποίηση των ασθενών σε δύο κατηγορίες: i) ασθενείς με χαμηλή βαθμολογία κατά Gleason (6+7) και ii) ασθενείς με υψηλή βαθμολογία κατά Gleason (8+9). Στη συνέχεια, διερευνήθηκε η πιθανή συσχέτιση των πολυμορφισμών με το σκορ κατά Gleason των ασθενών.

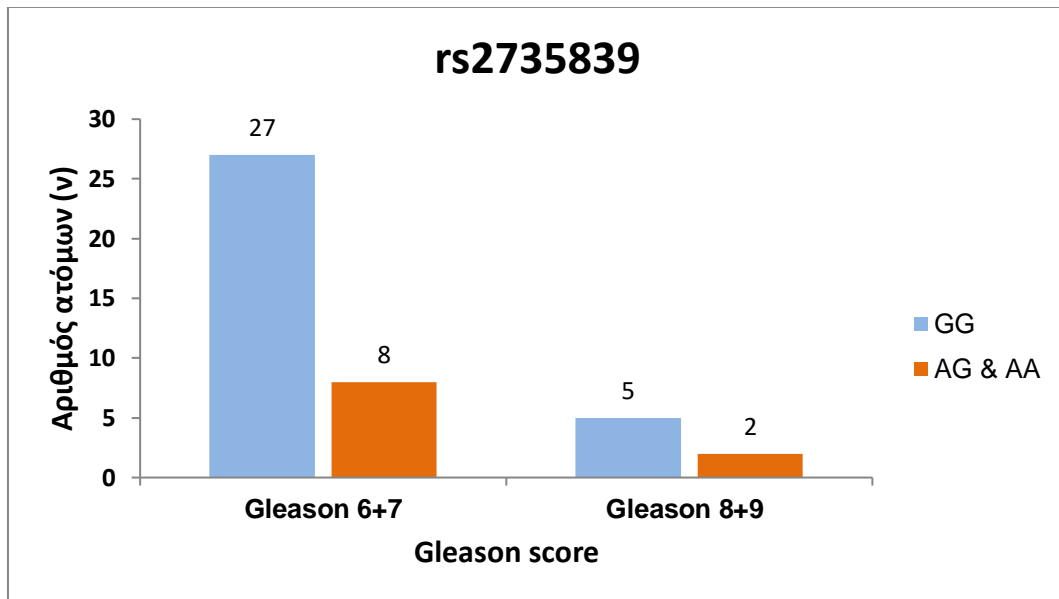
Από τους 42 ασθενείς, οι 35/42 (83.3%) διαγνώστηκαν με χαμηλό σκορ κατά Gleason (6+7) και οι 7/42 ασθενείς (16.7%) διαγνώστηκαν με υψηλό σκορ κατά Gleason (8+9). Σχετικά με τον πολυμορφισμό rs1447295, από την ομάδα των ασθενών με χαμηλό σκορ κατά Gleason, 26/35 ασθενείς (74.3%) έφεραν το γονότυπο CC και 9/35 ασθενείς (25.7%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (CA) ή ομοζυγωτία (AA). Στην ομάδα των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, 6/7 ασθενείς (85.7%) έφεραν τον γονότυπο CC και ένας ασθενής (1/7, 14.3%) έφερε το αλληλόμορφο A σε ομόζυγη μορφή (AA). Η στατιστική επεξεργασία των ευρημάτων δεν ανέδειξε κάποια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p > 0.05$) (Διάγραμμα 4).

Διάγραμμα 4. Κατανομή του πολυμορφισμού rs1447295 και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.



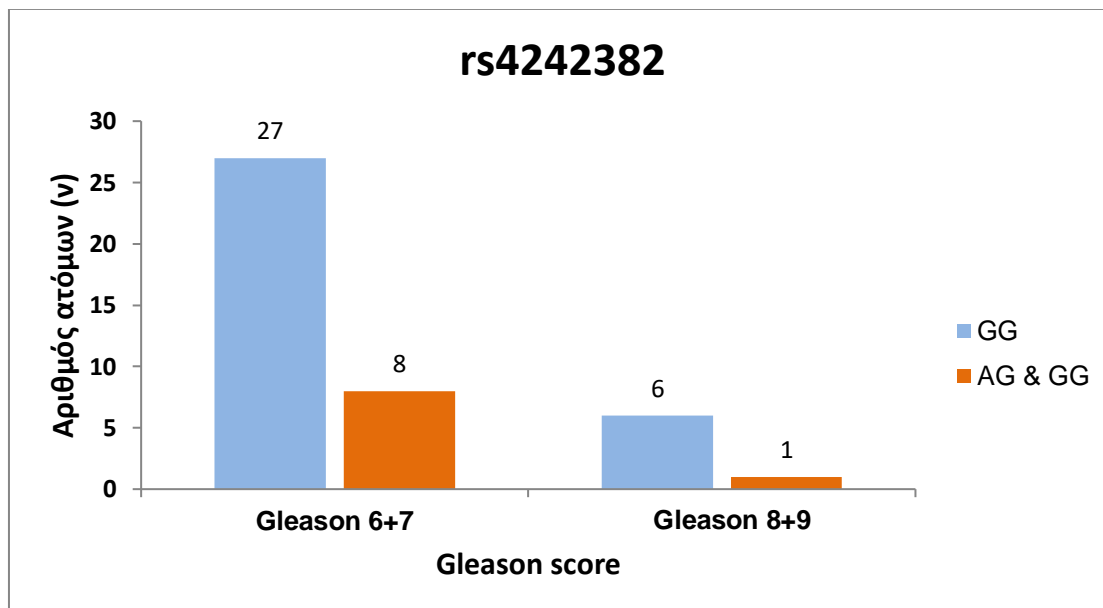
Σχετικά με τον πολυμορφισμό rs2735839 του γονιδίου *KLK3*, από την ομάδα των ασθενών με χαμηλό σκορ κατά Gleason, 27/35 ασθενείς (77.1%) έφεραν το γονότυπο GG και 8/35 ασθενείς (22.9%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (GA) ή σε ομοζυγωτία (AA). Στην ομάδα των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, 5/7 ασθενείς (71.4%) έφεραν τον γονότυπο GG και δύο ασθενείς (2/7, 28.6%) έφεραν το αλληλόμορφο A σε ετερόζυγη μορφή (GA). Η στατιστική επεξεργασία των ευρημάτων δεν ανέδειξε κάποια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p > 0.05$) (**Διάγραμμα 5**).

Διάγραμμα 5. Κατανομή του πολυμορφισμού rs2735839 και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.



Για τον πολυμορφισμό rs4242382, από την ομάδα των ασθενών με χαμηλό σκορ κατά Gleason, 27/35 ασθενείς (77.1%) έφεραν το γονότυπο GG και 8/35 ασθενείς (22.9%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (GA) ή σε ομοζυγωτία (AA). Στην ομάδα των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, 6/7 ασθενείς (85.7%) έφεραν τον γονότυπο GG, ενώ ένας ασθενής έφερε το αλληλόμορφο A σε ετερόζυγη μορφή (1/7, 14.3%). Η στατιστική επεξεργασία των ευρημάτων δεν ανέδειξε κάποια στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p > 0.05$) (**Διάγραμμα 6**).

Διάγραμμα 6. Κατανομή του πολυμορφισμού rs4242382 και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.



Από την ομάδα των ασθενών με Gleason score 7, 14/19 ασθενείς (73.7%) είχαν άθροισμα 3+4 και 5/19 ασθενείς (26.3%) είχαν άθροισμα 4+3. Για τον πολυμορφισμό rs1447295, από τους ασθενείς με άθροισμα 3+4 στο σκορ κατά Gleason, 11/14 ασθενείς (78.6%) έφεραν το γονότυπο CC και 3/14 ασθενείς (21.4%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (CA) ή ομοζυγωτία (AA). Από τους ασθενείς με άθροισμα 4+3 στο σκορ κατά Gleason, 3/5 ασθενείς (60.0%) έφεραν το γονότυπο CC και 2/5 ασθενείς (40.0%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (CA). Κανένας ασθενής δεν έφερε τον γονότυπο (AA).

Σχετικά με τον πολυμορφισμό rs2735839 του γονιδίου *KLK3*, από τους ασθενείς με άθροισμα 3+4 στο σκορ κατά Gleason, 10/14 ασθενείς (71.4%) έφεραν το γονότυπο GG και 4/14 ασθενείς (28.6%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (GA) ή ομοζυγωτία (AA). Από τους ασθενείς με άθροισμα 4+3 στο σκορ κατά Gleason, 3/5 ασθενείς (60.0%) έφεραν το γονότυπο GG και 2/5 ασθενείς (40.0%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (GA), ενώ κανένας ασθενής δεν έφερε τον γονότυπο (AA).

Για τον πολυμορφισμό rs4242382, από τους ασθενείς με άθροισμα 3+4 στο σκορ κατά Gleason, 12/14 ασθενείς (85.7%) έφεραν το γονότυπο GG και 2/14 ασθενείς (14.3%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (GA) ή ομοζυγωτία (AA). Από τους ασθενείς με άθροισμα 4+3 στο σκορ κατά Gleason, 3/5

ασθενείς (60.0%) έφεραν το γονότυπο GG και 2/5 ασθενείς (40.0%) έφεραν το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A σε ετεροζυγωτία (GA). Κανένας ασθενής δεν έφερε τον γονότυπο (AA).

Η συσχέτιση των τιμών του δείκτη PSA με την κατανομή των αλληλομόρφων των πολυμορφισμών δεν κατέστη εφικτή, καθώς ήταν περιορισμένος ο αριθμός των ατόμων, για τα οποία υπήρχαν μετρήσεις, γεγονός που δεν επιτρέπει την περαιτέρω ανάλυση και συσχέτιση των ευρημάτων με ασφάλεια.

Στους ασθενείς με καρκίνο του προστάτη, το ηλικιακό εύρος ήταν μεταξύ 56-75 ετών και ο μέσος όρος ήταν 67 ± 5 έτη. Στοιχεία για την ηλικία είχαμε για τους 40/48 ασθενείς (83.3%). Δεν αναδείχθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας και της κατανομής των αλληλομόρφων των πολυμορφισμών ($p > 0.05$).

7 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο καρκίνος του προστάτη στην Ευρώπη αποτελεί την πρώτη σε συχνότητα και τη δεύτερη σε θνησιμότητα κακοήθεια στα άρρενα άτομα. Είναι ο συχνότερα διαγνωσμένος καρκίνος στα άρρενα άτομα σε περισσότερες από τις μισές (105 από 185) χώρες του κόσμου, ιδίως στην Αμερική, τη Βόρεια και Δυτική Ευρώπη, την Αυστραλία/Νέα Ζηλανδία και σε μεγάλο μέρος της Υποσαχάριας Αφρικής. Η συχνότητά του αυξάνεται σταθερά τις τρεις τελευταίες δεκαετίες και αναμένεται να αυξηθεί περαιτέρω τα επόμενα χρόνια. Εκτιμώνται περισσότερες από 2.300.000 νέες περιπτώσεις παγκοσμίως και τουλάχιστον 740.000 θάνατοι έως το 2040 λόγω της αύξησης και της γήρανσης του ανθρώπινου πληθυσμού (**Bray et al, 2018**).

Ο καρκίνος του προστάτη αποτελεί πολυπαραγοντική νόσο που σχετίζεται άμεσα με την εθνικότητα και την κληρονομικότητα. Μεταξύ των παραγόντων κινδύνου για καρκίνο του προστάτη, η κληρονομικότητα αποτελεί σημαντική παράμετρο. Άρρενα άτομα που έχουν συγγενείς πρώτου βαθμού που νοσούν, παρουσιάζουν σε σημαντικό ποσοστό, της τάξης του 57%, κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (**Mucci et al, 2015**). Σημαντικός παράγοντας κινδύνου θεωρείται επίσης η παχυσαρκία. Τα υψηλότερα ποσοστά καρκίνου του προστάτη εμφανίζουν οι Αφροαμερικανοί, ενώ οι Ασιατικής καταγωγής άρρενες καταγράφουν τα χαμηλότερα ποσοστά εμφάνισης της νόσου. Όσο αναφορά στην Ελλάδα, σύμφωνα με τα δεδομένα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας το 2018 καταγράφηκαν συνολικά 2.048 θάνατοι που οφείλονταν στον καρκίνο του προστάτη. Ο αριθμός αυτός αντιστοιχεί σε ποσοστό 2.05% των συνολικών θανάτων στη χώρα.

Μελέτες συσχέτισης και ανάλυσης του γονιδιώματος (GWAS) έχουν προσδιορίσει τουλάχιστον 150 πολυμορφισμούς μεμονωμένων νουκλεοτιδίων (SNPs), οι οποίοι συμβάλλουν σε μικρό ποσοστό στον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Η συντριπτική πλειονότητα των SNPs εμπίπτει σε μη κωδικοποιητικές γονιδιακές περιοχές. Οι πολυμορφισμοί αυτοί είναι δύσκολο να εξεταστούν και να ερμηνευτούν, καθώς δεν είναι εμφανής η δράση τους στην παραγόμενη πρωτεΐνη. Ωστόσο, πολυμορφισμοί αυτού του είδους εδράζονται συχνά στους εκκινητές, στους ενισχυτές και σε άλλες ρυθμιστικές περιοχές των αντίστοιχων γονιδίων, δρώντας έμμεσα στη μεταγραφή και στο μάτισμα του αντίστοιχου mRNA μορίου (**Xia & Wei, 2018**).

Οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs), η πιο κοινή γενετική παραλλαγή, έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την έκφραση ή την επιλογή θέσης στόχου των miRNAs

και εμπλέκονται σε μια σειρά βιολογικών διεργασιών αλληλεπίδρασης μεταξύ των miRNAs και των mRNA-στόχων (*Mishra et al, 2009*); (*Gao et al, 2014*).

Το χρωμόσωμα 8 και συγκεκριμένα η περιοχή 8q24 είναι μια από τις πιο έντονα και συχνά παραλλαγμένες περιοχές του γονιδιώματος στην καρκινογένεση του προστάτη. Είναι απαλλαγμένη από γονίδια και καλείται “γονιδιακή έρημος”. Ωστόσο, πλαισιώνεται από τα γονίδια *FAM84B* και *MYC* (*Grampp et al, 2016*).

Το γονίδιο *MYC* ρυθμίζει το 15% των γονιδίων σε επίπεδο γενωμικής αλληλουχίας, δρώντας ως ρυθμιστικός παράγοντας στην περιοχή του ενισχυτή, αλλά και μέσω επιγενετικής στρατολόγησης ακετυλοτρανσφερασών ιστόνης. Η παραγόμενη πρωτεΐνη προάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και τον κυτταρικό μετασχηματισμό (*Gearhart et al, 2007*).

Η χρωμοσωμική περιοχή 19q13 αποτελεί επίσης μία περιοχή με αρκετούς μεταγραφικούς παράγοντες, που σχετίζονται με τον καρκίνο του προστάτη. Στην περιοχή αυτή εδράζεται η οικογένεια γονιδίων της καλλικρεΐνης (KLK) (*Yousef, Luo & Diamandis, 1999*); (*Diamandis et al, 2000*).

Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε τους πολυμορφισμούς rs1447295, rs2735839 και rs4242382 σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και διερευνήσαμε τον πιθανό τους ρόλο ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Εξετάσαμε επιπλέον, την πιθανή συσχέτιση της παρουσίας των τριών υπό μελέτη πολυμορφισμών με το Gleason score των ασθενών.

Στη μελέτη συμμετείχαν συνολικά 78 άτομα, τα οποία προσήλθαν στην Ουρολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, 49 ασθενείς με διάγνωση καρκίνου του προστάτη και 29 υγιή άτομα (ομάδα ελέγχου). Οι κλινικοπαθολογικές παράμετροι που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη είναι η ηλικία και το Gleason score των ασθενών. Πραγματοποιήθηκε απομόνωση γενωμικού υλικού από δείγματα περιφερικού αίματος, ενίσχυση των περιοχών ενδιαφέροντος με T-ARMS-PCR και έλεγχος των γονοτύπων με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη μέθοδο chi-square στο λογισμικό IBM SPSS v22.

Στον πολυμορφισμό rs1447295, το αλληλόμορφο C εμφανίστηκε στους ασθενείς σε ποσοστό 77.6% σε ομοζυγωτία, ενώ στην ομάδα ελέγχου εμφανίστηκε στο 96.6% σε ομοζυγωτία, αναδεικνύοντας μία στατιστικώς σημαντική συσχέτιση ($p < 0.05$).

Η κατανομή του πολυμορφισμού rs1447295 με το Gleason score των ασθενών φαίνεται να μην εμφανίζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση, καθώς η κατανομή του

ομόζυγου γονότυπου CC και των AA, CA σε ασθενείς χαμηλού και υψηλού Gleason score είναι ανάλογη.

Στη μελέτη των Beikzadehetal και συνεργατών, στον Ιρανικό πληθυσμό, το αλληλόμορφο A του πολυμορφισμού rs1447295 συσχετίστηκε με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, αλλά δε σχετίστηκε με κάποια από τις κατηγορίες Gleason score των ασθενών (**Beikzadeh, 2020**).

Σε ανάλογες μελέτες, που συνέκριναν τη σχέση της ηλικιακής ομάδας και της παρουσίας του rs1447295, υπήρχε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση με τη νεαρότερη ηλικία διάγνωσης σε Αφροαμερικανούς άνδρες, έναντι ανδρών που διαγνώστηκαν σε ηλικία άνω των 60 ετών. Αντιθέτως άρρενες της Καυκάσιας φυλής, φορείς του αλληλόμορφου A (AA, CA) βρίσκονταν σε μεγαλύτερο κίνδυνο ανεξαρτήτως ηλικίας (**Schumacher et al, 2007**). Στη μελέτη των Terada και συνεργατών (2008), σε πληθυσμό άρρενων ατόμων με καρκίνο προστάτη από την Ιαπωνία, το αλληλόμορφο A του rs1447295 συσχετίστηκε με αυξημένη ευαισθησία στον καρκίνο του προστάτη και με πιο επιθετική μορφή της νόσου (**Terada et al, 2008**).

Σε διαφορετική μελέτη, με μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού σε Καυκάσιους ασθενείς με καρκίνο του προστάτη, η παρουσία του rs1447295 αποτελεί παράγοντα αθροιστικής πρόβλεψης (με το οικογενειακό ιστορικό ως έκτο παράγοντα) του συνολικού κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Οι γονότυποι AA και AC του rs1447295 σχετίζονται με μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη στον συγκεκριμένο πληθυσμό (**Zheng et L 2008**).

Μια μετα-ανάλυση του 2018 αναφέρει απουσία συσχέτισης του πολυμορφισμού rs1447295 με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του προστάτη (**Zhang et al, 2014**);(**Oskina et al, 2014**); (**Chan et al, 2013**); (**Chan et al, 2014**); (**Larkin and Townsend, 2012**), (**Okobia et al, 2011**);(**Zeegers et al, 2011**); (**Wokołorczyk et al, 2010**), (**Xie, 2010**); (**Wang et al 2007**).

Αντίστοιχα δεδομένα υπάρχουν και σε άλλες μελέτες, οι οποίες διερευνούν τη πιθανή συσχέτιση της παρουσίας του πολυμορφισμού rs1447295 με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη. Οι μελέτες δείχνουν την απουσία συσχέτισης για τον καρκίνο στομάχου, μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, παχέος εντέρου, του μαστού και του θυρεοειδούς (**Haerian et al, 2017**). Ωστόσο, οι Lochhead και συνεργάτες διαπίστωσαν σημαντική μείωση του κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του στομάχου μεταξύ των φορέων του πολυμορφισμού rs1447295, αλλά σημαντική αύξηση για τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του ήπατος και του πνεύμονα (**Du et al, 2018**).

Ο δεύτερος πολυμορφισμός που μελετήθηκε είναι ο rs2735839 SNP του γονιδίου *KLK3*. Στη μελέτη μας, το συχνότερο αλληλόμορφο G ανιχνεύτηκε σε ομοζυγωτία σε ποσοστό της τάξης 65.5% στην ομάδα ελέγχου και σε ποσοστό της τάξης 75.5% των ασθενών που εξετάστηκαν. Το λιγότερο συχνό αλληλόμορφο A βρέθηκε σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία στο 34.5% στην ομάδα ελέγχου και στο 24.5% στην ομάδα ασθενών. Η συσχέτιση δεν ήταν στατιστικώς σημαντική. Δεν σημειώνεται επίσης στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας του πολυμορφισμού και των ομάδων κατά Gleason των ασθενών.

Στη μελέτη των Beikzadeh και συνεργατών (2020), η παρουσία του πολυμορφικού αλληλομόρφου A συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη, αλλά και σημαντική συσχέτιση με υψηλότερα Gleason scores. Τα ευρήματα της δικής μας μελέτης δε συμφωνούν με την εν λόγω μελέτη, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στον μικρό αριθμό δειγμάτων της μελέτης μας.

Σε δύο ανεξάρτητες μελέτες φαίνεται πως το παραλλαγμένο αλληλόμορφο (A) του rs2735839 σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη (**He et al, 2014**). Οι Pomerantz και συνεργάτες βρήκαν πως το rs2735839 (A) αλληλόμορφο σχετίζεται με αυξημένη θνησιμότητα σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη. Ωστόσο, σε μια μετα-ανάλυση (2018) για τρεις πολυμορφισμούς του *KLK3* γονιδίου, δεν αναφέρεται συσχέτιση του rs2735839 με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη (**Beikzadeh, 2020**).

Ο τελευταίος πολυμορφισμός που διερευνήθηκε είναι ο rs4242382. Το αλληλόμορφο G εμφανίστηκε στην πλειοψηφία των υγιών ατόμων (96.6%) και σε ποσοστό 79.6% των ασθενών σε ομοζυγωτία. Το αλληλόμορφο A ανιχνεύθηκε σε ποσοστά 3.4% και 20.4% σε ομοζυγωτία και ετεροζυγωτία αντίστοιχα. Η συσχέτιση που προέκυψε ήταν στατιστικώς σημαντική. Αντίστοιχη είναι και η κατανομή στις δύο ομάδες Gleason score των ασθενών, όπου το 77.1% των ασθενών με χαμηλό Gleason score και το 85.7% των ασθενών με υψηλό Gleason score φέρουν το αλληλόμορφο G σε ομοζυγωτία. Το αλληλόμορφο A εμφανίζεται σε ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία στο 22.9% των ασθενών με χαμηλό Gleason score και στο 14.3% των ασθενών με υψηλό σκορ κατά Gleason, συσχέτιση επίσης στατιστικώς μη σημαντική.

Τα αποτελέσματα της μελέτης των Beikzadeh και συνεργατών (2020), δείχνουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη σε ασθενείς που έφεραν το αλληλόμορφο A σε ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία, αλλά απουσία συσχέτισης με το Gleason score των ασθενών. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τη μελέτη των Zheng

και συνεργατών (2007), όπου παρατηρείται αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του προστάτη παρουσία του αλληλόμορφου A του πολυμορφισμού rs4242382, σε ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία (**Zheng et al, 2007**), (**Beikzadeh, 2020**).

Πολυμορφισμοί στην χρωμοσωμική περιοχή 8q24 φαίνεται να σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη και έχει αναφερθεί ότι αυξάνουν τη δραστηριότητα του ενισχυτή του γονιδίου *MYC* (**Sotelo et al, 2010**). Μεταξύ των πολυμορφισμών που εδράζονται στην περιοχή 8q24, ο πολυμορφισμός rs4242382 συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου σε πληθυσμούς της Βόρειας Αμερικής, της Αφρικής και της Ευρώπης. Ωστόσο τα δεδομένα για τους Ασιατικούς πληθυσμούς είναι αμφιλεγόμενα (**Ahn et al, 2011**); (**Lachance et al, 2018**).

Οι FitzGerald και συνεργάτες (2009) αναφέρουν πως η δράση του rs4242382 ενδέχεται να επηρεάζεται από το οικογενειακό ιστορικό. Το αλληλόμορφο A συσχετίστηκε με σημαντική αύξηση του κινδύνου για καρκίνο του προστάτη σε άνδρες χωρίς οικογενειακό ιστορικό, αλλά όχι σε εκείνους με οικογενειακό ιστορικό της νόσου (**FitzGerald et al, 2009**).

Συνοψίζοντας, υπάρχει μεγάλη ετερογένεια στα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών όσον αφορά τους συγκεκριμένους πολυμορφισμούς για τον πιθανό τους ρόλο στην καρκινογένεση του προστάτη. Οι πολυμορφισμοί αυτοί φαίνεται να συνδέονται με παράγοντες προδιάθεσης, αλλά παρουσιάζουν ποικίλη γεωγραφική κατανομή. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας αποτελούν πρώτες ενδείξεις για τη σύνδεση των υπό μελέτη πολυμορφισμών rs1447295, rs2735839 και rs4242382 με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του προστάτη στον Ελληνικό πληθυσμό. Τα αρχικά ευρήματα είναι σε συμφωνία με ορισμένες μελέτες που αναφέρονται στη βιβλιογραφία. Ωστόσο η μεγάλη ποικιλομορφία που σημειώνεται τονίζει την ανάγκη για ενδελεχή έρευνα σε μεγάλες πληθυσμιακές ομάδες προκειμένου να προκύψουν ασφαλή συμπεράσματα.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- A.B. Jani, P.A. Johnstone, S.L. Liauw, V.A. Master, O.W. Brawley. Age and grade trends in prostate cancer (1974-2003): a Surveillance, Epidemiology, and End Results Registry analysis. *Am J Clin Oncol* 2008;31:375-378.
- Abbouassaly, R., Thompson, I.M., Platz, E. A. Klein, E.A., Epidemiology, etiology and prevention of prostate cancer. Campbell - Walsh Urology. 10th Edition. Philadelphia. Elsevier Saunders. 2012. p:2690.
- Ahn J, Kibel AS, Park JY, et al (2011). Prostate cancer predisposition loci and risk of metastatic disease and prostate cancer recurrence. *Clin Cancer Res*, 17, 1075-81.
- Amundadottir LT, Sulem P, Gudmundsson J, Helgason A, Baker A, et al. (2006) A common variant associated with prostate cancer in European and African populations. *Nat Genet* 38: 652–658.
- Bawa, P.; Zackaria, S.; Verma, M.; Gupta, S.; Srivatsan, R.; Chaudhary, B.; Srinivasan, S. Integrative Analysis of Normal Long Intergenic Non-Coding RNAs in Prostate Cancer. *PLoS ONE* 2015, 10, e0122143.
- Beikzadeh, B., Angaji, S. A., & Abolhasani, M. (2020). Association study between common variations in some candidate genes and prostate adenocarcinoma predisposition through multi-stage approach in Iranian population. *BMC Medical Genetics*, 21(1). doi:10.1186/s12881-020-01014-0.
- Bhatia-Gaur R, et al. Roles for Nkx3.1 in prostate development and cancer. *Genes Dev.* 1999;13: 966–77.
- Bostwick, D. G., Burke, H. B., Djakiew, D., Euling, S., Ho, S., Landolph, J., Timms, B. (2004). Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, 101(S10), 2371–2490. doi:10.1002/cncr.20408.
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. doi:10.3322/caac.21492.
- Brierley, J.D., et al., TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer. 8th edn. 2017.
- Carter, B.S., Bova, G.S., Beaty, T.H. Steinberg, G.D., Childs, B. Isaacs, W.B., Walsh. P.C., Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features. *J Urol.* 1993;150:797-802.
- Chan JY, Li H, Singh O, Mahajan A, Ramasamy S, Subramaniyan K, Kanesvaran R, Sim HG, Chong TW and Teo YY. 8q24 and 17q prostate cancer susceptibility loci in a multiethnic Asian cohort. *Urol Oncol* 2013; 31: 1553-1560.

- Chung, S.; Nakagawa, H.; Uemura, M.; Piao, L.; Ashikawa, K.; Hosono, N.; Takata, R.; Akamatsu, S.; Kawaguchi, T.; Morizono, T.; et al. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility. *Cancer Sci.* 2010, 102, 245–252.
- Coffey D, The molecular biology, endocrinology, and physiology of the prostate and seminal vesicles. In: *Campbell's Urology*, 6th edn., ed. P. C. Walsh, A. B. Retik, T. A. Stamley, et al., Philadelphia: W B Saunders, 1992; 49–52.
- Cooperberg, M.R., et al. The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy. *J Urol*, 2005. 173: 1938.
- Darst, B.F.; Wan, P.; Sheng, X.; Bensen, J.T.; Ingles, S.A.; Rybicki, B.A.; Nemesure, B.; John, E.M.; Fowke, J.H.; Stevens, V.L.; et al. A Germline Variant at 8q24 Contributes to Familial Clustering of Prostate Cancer in Men of African Ancestry. *Eur. Urol.* 2020, 78, 316–320.
- Diamandis EP, Yousef GM, Luo LY, Magklara A, Obiezu CV (2000) The human kallikrein gene family: implications in carcinogenesis. *Trends Endocrinol Metab* 11:54–60.
- Du, P., Zhu, J., He, Chong, Hu, G., Li, S., Ye, M.Y., Liu, Y.X., Zheng, J.S., (2018), The rs1447295 polymorphism in the 8q24 gene contributes to cancer risk, especially prostate cancer: a meta-analysis. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi, China. *ExpMed.* /ISSN:1940-5901/IJCEM0080640.
- Epstein, J. I., Egevad, L., Amin, M. B., Delahunt, B., Srigley, J. R., & Humphrey, P. A. (2015). The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 1. doi:10.1097/pas.0000000000000530
- Fair, W. R., Wehner, N.: The prostatic antibacterial factor, identity and significance. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 6, 383 (1976).
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Dyba, T., Randi, G., Bettio, M., Bray, F. (2018). Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *European Journal of Cancer*. doi:10.1016/j.ejca.2018.07.005).
- Ferlay, J., Soerjomataram, I., Ervik, M., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., Rebelo, M., Parkin, DM., Forman, D., Bray F., GLOBOCAN 2012 v 1.1, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2014.
- Ferro, M., Buonerba, C., Terracciano, D., Lucarelli, G., Cosimato, V., Bottero, D., De Cobelli, O. (2016). Biomarkers in localized prostate cancer. *Future Oncology*, 12(3), 399–411. doi:10.2217/fon.15.318.

- FitzGerald, L. M., Kwon, E. M., Koopmeiners, J. S., Salinas, C. A., Stanford, J. L., & Ostrander, E. A. (2009). Analysis of Recently Identified Prostate Cancer Susceptibility Loci in a Population-based Study: Associations with Family History and Clinical Features. *Clinical Cancer Research*, 15(9), 3231–3237. doi:10.1158/1078-0432.ccr-08-2190.
- Gao Y, Liu Y, Liu GL, Ran LK, Zeng F, Wu JY and Song FZ. Association between the pre-mir-218 polymorphism and cancer risk in the Chinese population: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 2517.
- Gearhart J, Pashos EE and Prasad MK. Pluripotency redux--advances in stem-cell research. *N Engl J Med* 2007; 357: 1469-1472.
- Gilany, K., Minai-Tehrani, A., Savadi-Shiraz, E., Rezadoost, H. & Lakpour, N. Exploring the human seminal plasma proteome: an unexplored gold mine of biomarker for male infertility and male reproduction disorder. *J. Reprod. Infertil.* 16, 61–71 (2015).
- Grampp S, Platt JL, Lauer V, Salama R, Kranz F, Neumann VK, Wach S, Stöhr C, Hartmann A and Eckardt KU. Genetic variation at the 8q24.21 renal cancer susceptibility locus affects HIF binding to a MYC enhancer. *Nat Commun* 2016; 7: 13183.
- Grisanzio, C., & Freedman, M. L. (2010). Chromosome 8q24-Associated Cancers and MYC. *Genes & Cancer*, 1(6), 555–559. doi:10.1177/1947601910381380.
- Grozescu T., Popa F. (2016), Prostate cancer between prognosis and adequate\proper therapy., *Journal of medicine and lifer* 10 (5-12) (2017).
- Haerian MS, Haerian BS, Molanaei S, Kosari F, Sabeti S, Bidari-Zerehpooch F and Abdolali E. Lack of association of CASC8 rs1447295 with colorectal cancer in Iranian population: a multicenter case-control study. *Gene* 2017; 634: 74-76., 7, 15, 20, 22, 24, 33, 37.
- Haiman CA, Le Marchand L, Yamamoto J, Stram DO, Sheng X, et al. (2007) A common genetic risk factor for colorectal and prostate cancer. *Nat Genet* 39: 954–956.
- Haiman CA, Patterson N, Freedman ML, Myers SR, Pike MC, et al. (2007) Multiple regions within 8q24 independently affect risk for prostate cancer. *Nat Genet* 39: 638–644.
- Han, Y.; Rand, K.A.; Hazelett, D.J.; Ingles, S.A.; Kittles, R.A.; Strom, S.S.; Rybicki, B.A.; Nemesure, B.; Isaacs, W.B.; Stanford, J.L.; et al. Prostate Cancer Susceptibility in Men of African Ancestry at 8q24. *J. Natl. Cancer Inst.* 2016, 108.
- He, Y., Gu, J., Strom, S., Logothetis, C. J., Kim, J., & Wu, X. (2014). The Prostate Cancer Susceptibility Variant rs2735839 Near KLK3 Gene Is Associated with Aggressive Prostate Cancer and Can Stratify Gleason Score 7 Patients. *Clinical Cancer Research*, 20(19), 5133–5139. doi:10.1158/1078-0432.ccr-14-0661.
- Howlader N., A.M. Noone, M. Krapcho, J. Garshell, D. Miller, S.F. Altekruse, C.L. Kosary, M. Yu, J. Ruhl, Z. Tatalovich, A. Mariotto, D.R. Lewis, H.S. Chen, E.J. Feuer, K.A. Cronin.

- SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012, National Cancer Institute. Bethesda, MD, http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/).
- Huifeng Li, Xiawei Fei, Yanting Shen, Zhenqi Wu, Association of gene polymorphisms of KLK3 and prostate cancer: A meta-analysis *F*, 2020;29(8):1001–1009.
- Huppi, K., Pitt, J. J., Wahlberg, B. M., & Caplen, N. J. (2012). The 8q24 Gene Desert: An Oasis of Non-Coding Transcriptional Activity. *Frontiers in Genetics*, 3. doi:10.3389/fgene.2012.00069.
- Junqueira. Basic Histology, 8th edition, 1995, Lange, ISBN 0-8385-0587-2., McNeal JE. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol* 1989; 12:619-633.
- Kastler, S., Honold, L., Luedeke, M., Kuefer, R., Möller, P., Hoegel, J., Assum, G. (2009). POU5F1P1, a putative cancer susceptibility gene, is overexpressed in prostatic carcinoma. *The Prostate*, n/a–n/a. doi:10.1002/pros.21100.
- Kastler, S.; Honold, L.; Luedeke, M.; Kuefer, R.; Möller, P.; Hoegel, J.; Vogel, W.; Maier, C.; Assum, G. POU5F1P1, a putative cancer susceptibility gene, is overexpressed in prostatic carcinoma. *Prostate* 2009, 70.
- Koh, C.M.; Bieberich, C.J.; Van Dang, C.; Nelson, W.G.; Yegnasubramanian, S.; De Marzo, A.M. MYC and Prostate Cancer. *Genes Cancer* 2010, 1, 617–628).
- Kote-Jarai Z, Al Olama AA, Leongamornlert D, Tymrakiewicz M, Saunders E, Guy M, et al. Identification of a novel prostate cancer susceptibility variant in the KLK3 gene transcript. *Hum Genet*. 2011;129(6):687.
- L. M. Franks, Atrophy and hyperplasia in the prostate proper. *J Pathol Bacteriol*, 68:2 (1954), 617–21.
- Lachance, J., Berens, A. J., Hansen, M. E. B., Teng, A. K., Tishkoff, S. A., & Rebbeck, T. R. (2018). Genetic Hitchhiking and Population Bottlenecks Contribute to Prostate Cancer Disparities in Men of African Descent. *Cancer Research*, 78(9), 2432–2443. doi:10.1158/0008-5472.can-17-1550.
- Larkin SE and Townsend PA. Association of common variations of 8q24 with the risk of prostate cancer in Koreans and a review of the Asian population. *BJU Int* 2012; 110: E326- E326., Liu M, Wang J, Xu Y, Wei D, Shi X and Yang Z. Risk loci on chromosome 8q24 are associated with prostate cancer in northern Chinese men. *J Urol* 2012; 187: 315.
- Lee, C. H., Akin-Olugbade, O., & Kirschenbaum, A. (2011). Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 40(3), 565–575. doi:10.1016/j.ecl.2011.05.012.
- LESLIE P. GARTNER, Ιστολογία, Έκδοση: 3η ΕΛΛΗΝΙΚΗ/ 4η ΑΓΓΛΙΚΗ, 2018.

- Little, S. (2001). Amplification-Refractory Mutation System (ARMS) Analysis of Point Mutations. *Current Protocols in Human Genetics*. doi:10.1002/0471142905.hg0908s07.
- Liu X, Hua R-X, Wang F, An H, Zhang W, Zhu J-H. Association of three 8q24 polymorphisms with prostate cancer susceptibility: evidence from a metaanalysis with 50,854 subjects. *Sci Rep*. 2015;5:12069.
- Lowsley O. Embryology, anatomy and surgery of the prostate gland. *Am J Surg* 1930; 8:526-541.
- Manolio, T. A. (2010). Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N. Engl. J. Med.* 363, 166–176. doi: 10.1056/NEJMra0905980.
- McNeal J. Regional morphology and pathology of the prostate. *Am J Clin Pathol* 1986; 49:347-357, McNeal JE. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol* 1989; 12:619-633.
- Merriell, S. W. D., Funston, G., & Hamilton, W. (2018). Prostate Cancer in Primary Care. *Advances in Therapy*. doi:10.1007/s12325-018-07661).
- Mishra PJ and Bertino JR. MicroRNA polymorphisms: the future of pharmacogenomics, molecular epidemiology and individualized medicine. *Pharmacogenomics* 2009; 10: 399-416.
- Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR, Czene K, Havelick DJ, Scheike T, Graff RE, Holst K, Möller S, Unger RH, et al. Figure 1. Molecular and clinical underpinnings of the aggressive prostate cancer risk 19q13 locus. Previous GWASs and our large-scale independent genetic analysis revealed an association of the 19q13 allele rs11672691 G with prostate cancer aggressiveness. The rs11672691 G allele is strongly correlated with elevated expression of CEACAM21 and the lncRNA PCAT19 in an eQTL analysis. Subsequently, HOXA2 was found to preferentially occupy a PCAT19 intronic enhancer carrying the G allele of rs11672691, which together with other transcription factors AR, HOXB13, and ERG contributed to enhanced expression of PCAT19 and CEACAM21, thereby promote prostate cancer cell proliferation and aggressiveness. In the clinical setting, the rs11672691 genotype, HOXA2, PCAT19, and CEACAM21 expression were discovered as a potential biomarker in prostate cancer prognosis. e1516451-2 J.-H. XIA AND G.-H. WEI Familial risk and heritability of cancer among twins in nordic countries. *JAMA*. 2016; 315(1): 68–76. doi:10.1001/ jama.2015.17703.
- Lowsley O., The development of the human prostate gland with reference to the development of other structures at the neck of the urinary bladder. *Am J Anat*, 13 (1912), 299–350.

- Okobia MN, Zmuda JM, Ferrell RE, Patrick AL and Bunker CH. Chromosome 8q24 variants are associated with prostate cancer risk in a high risk population of African ancestry. *Prostate* 2011; 71: 1054.
- Oskina NA, Boyarskikh UA, Lazarev AF, Petrova VD, Ganov DI, Tonacheva OG, Lifshits GI and Filipenko ML. A replication study examining association of rs6983267, rs10090154, and rs1447295 common single nucleotide polymorphisms in 8q24 region with prostate cancer in siberians. *Urol Oncol* 2014; 32: 37.e37- 37.e12.
- Partin AW, Catalona WJ, Finlay JA, Darte C, Tindall DJ, Young CY, Klee GG, Chan DW, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Woodrum DL (1999) Use of human glandular kallikrein 2 for the detection of prostate cancer: preliminary analysis. *Urology* 54:839–845.
- Pienta K. J., Esper P.S. Risk factors for prostate cancer. *Ann Intern Med.* 1993;118:793-803.], [L.M. Franks. Proceedings: Etiology, epidemiology and pathology of prostatic cancer. *Cancer.* 1973;32:1092-1095.
- Ploussard, G., et al. Decreased accuracy of the prostate cancer EAU risk group classification in the era of imaging-guided diagnostic pathway: proposal for a new classification based on MRI-targeted biopsies and early oncologic outcomes after surgery. *World J Urol*, 2020. 38: 2493. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31838560>.
- Riegman PH, Vlietstra RJ, van der Korput JA, Romijn JC, Trapman J (1989) Characterization of the prostate-specific antigen gene: a novel human kallikrein-like gene. *Biochem Biophys Res Comm* 159:95–102).
- Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*, 7th edition, 1995, 278-279, ISBN 0-683-07489-X.
- Sakr W, Haas G, Cassin B, Pontes J, Crissman J. The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients. *J Urol.* 1993;150:379–85.
- Schrecengost, R., & Knudsen, K. E. (2013). Molecular Pathogenesis and Progression of Prostate Cancer. *Seminars in Oncology*, 40(3), 244–258. doi:10.1053/j.seminoncol.2013.04.001.
- Schumacher, F.R., Feigelson, H.S., Cox, D.G., Haiman, C.A., Albanes, D., Buring, J., Calle, E.E., Chanock, S.J., Colditz, G.A., Diver, W.R., et al. 2007. A common 8q24 variant in prostate and breast cancer from a large nested case-control study. *CancerRes.* 67: 2951–2956.
- Sotelo J, Esposito D, Duhagon MA, et al (2010). Long-range enhancers on 8q24 regulate c-Myc. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 3001-5.

- Taitt, H. E. (2018). Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. *American Journal of Men's Health*, 155798831879827. doi:10.1177/1557988318798279.
- Tena-Sempere, M. Ghrelin, the gonadal axis and the onset of puberty. *Endocr. Dev.* 25, 69–82 (2013).
- Terada, N., Tsuchiya, N., Ma, Z., Shimizu, Y., Kobayashi, T., Nakamura, E., Ogawa, O. (2008). Association of genetic polymorphisms at 8q24 with the risk of prostate cancer in a Japanese population. *The Prostate*, 68(15), 1689–1695. doi:10.1002/pros.20831.
- Toundas G. Health status of the Greek population. Athens: Odisseas-Nea Igia; 2008.
- Tremblay RR, Deperthes D, Tetu B, Dube JY (1997) Immunohistochemical study suggesting a complementary role of kallikreins hK2 and hK3 (prostate-specific antigen) in the functional analysis of human prostate tumors. *Am J Pathol* 150:455–459.
- Verze, P., Cai, T., & Lorenzetti, S. (2016). The role of the prostate in male fertility, health and disease. *Nature Reviews Urology*, 13(7), 379–386. doi:10.1038/nrurol.2016.89.
- Wang L, McDonnell SK, Slusser JP, Hebring SJ, Cunningham JM, Jacobsen SJ, Cerhan JR, Blute ML, Schaid DJ and Thibodeau SN. Two common chromosome 8q24 variants are associated with increased risk for prostate cancer. *CancerRes* 2007; 67: 2944-2950.
- Williams, D. I., Chisholm, G. D.: *Scientific Foundations of Urology*. William Heinemann Medical Book Ltd., London 1976.
- Wokołarczyk D, Gliniewicz B, Stojewski M, Sikorski A, Złowocka E, Debniak T, Jakubowska A, Górski B, Wetering TV and Narod SA. The rs1447295 and DG8S737 markers on chromosome 8q24 and cancer risk in the Polish population. *Eur J Cancer Prev* 2010; 19: 167- 171.,
- Xia, J.-H., & Wei, G.-H. (2018). Oncogenic regulatory circuits driven by 19q13 rs11672691 underlies prostate cancer aggressiveness. *Molecular & Cellular Oncology*, 5(6), e1516451. doi:10.1080/23723556.2018.1516451.
- Xie HJ. Association study between single nucleotide polymorphisms on 8q24 with prostate cancer risk in Chinese han population. Tianjin Medical University 2010., Miao L, Kurosaki T, Suzuki M, Enomoto Y, Nishimatsu H, Arai T, Sawabe M, Hosoi T, Homma Y and Kitamura T. Significance of common variants on human chromosome 8q24 in relation to the risk of prostate cancer in native Japanese men. *BMC Genet* 2009; 10: 37-37.
- Yousef GM, Luo LY, Diamandis EP (1999) Identification of novel human kallikrein-like genes on chromosome 19q13.3–q13.4. *Anticancer Res* 19:2843–2852.
- Zeegers, M. P. A., Jellema, A., & Ostrer, H. (2003). *Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma*. *Cancer*, 97(8), 1894–1903.

- Zeegers MP, Khan HS, Schouten LJ, Dijk BACV, Goldbohm RA, Schalken J, Shajahan S, Pearlman A, Oddoux C and Brandt PA. Genetic marker polymorphisms on chromosome 8q24 and prostate cancer in the Dutch population: DG8S737 may not be the causative variant. *Eur J Hum Genet* 2011; 19: 118.
- Zhang Z, Wang J, Wei D, Sun L, Wang X, Zhang Y, Wang N, Hui J, Zhang Y and Li XH. Association study of 4 single nucleotide polymorphisms in 8q24 region and prostate cancer. *Journal of Ningxia Medical University* 2014; 36: 604-614.
- Zhao CX, Liu M, Wang JY, Xu Y, Wei D, Yang K and Yang Z. Association of 8 loci on chromosome 8q24 with prostate carcinoma risk in northern Chinese men. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 14: 6733-6738.
- Zhao C-X, Liu M, Xu Y, Yang K, Wei D, Shi X-H, et al. 8q24 rs4242382 polymorphism is a risk factor for prostate cancer among multi-ethnic populations: evidence from clinical detection in China and a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(19):8311–7.
- Zheng SL, Sun J, Cheng Y, Li G, Hsu F-C, Zhu Y, et al. Association between two unlinked loci at 8q24 and prostate cancer risk among European Americans. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(20):1525 –33.
- Zheng, J.; Zhao, S.; He, X.; Zheng, Z.; Bai, W.; Duan, Y.; Cheng, S.; Wang, J.; Liu, X.; Zhang, G. The up-regulation of long noncoding RNA CCAT2 indicates a poor prognosis for prostate cancer and promotes metastasis by affecting epithelial-mesenchymal transition. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2016, 480, 508–514.
- Zheng, S. L., Sun, J., Wiklund, F., Smith, S., Stattin, P., Li, G., Grönberg, H. (2008). Cumulative Association of Five Genetic Variants with Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(9), 910–919. doi:10.1056/nejmoa075819.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ανατομία του ουροποιογεννητικού συστήματος, Θ.Γ. Αναγνώστου, Μ.Δ.
Μελέκος, Hammerich, K. H., Ayala, G. E., & Wheeler, T. M.. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. *Prostate Cancer*, 1–14. 2009.
- Παλαιολόγου Δ., Κατσαρέλη Ε., Παπανικολάου Γ., Εργαστηριακές Ασκήσεις Γενετικής του Ανθρώπου, Κεφ. 7, Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης.}{Carr, J., Williams, D. G., & Hayden, R. T. (2010). Molecular Detection of Multiple Respiratory Viruses. *Molecular Diagnostics*, 289–300. doi:10.1016/b978-0-12-369428-7.00024-0}.

ΙΣΤΟΣΕΛΙΔΕΣ

<https://advances.umw.edu.pl/pdf/2020/29/8/1001.pdf>).

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File: Cutting_of_the_agarose_gel.jpg#/media/File:Cutting_of_the_agarose_gel.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cutting_of_the_agarose_gel.jpg#/media/File:Cutting_of_the_agarose_gel.jpg).)

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gel_electrophoresis_apparatus.JPG#/media/File:Gel_electrophoresis_apparatus.JPG)

[Gel_electrophoresis_apparatus.JPG#/media/File:Gel_electrophoresis_apparatus .JPG](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gel_electrophoresis_apparatus.JPG#/media/File:Gel_electrophoresis_apparatus.JPG)

<https://gr.depositphotos.com/180038126/stock-photo-human-prostate.html>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15879786>)

<https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/#4>)

<https://www.cancer.net/cancer-types/prostate-cancer/diagnosis>).

<https://www.care.gr/post/74/gennitika-organa-tou-andra> (εικόνα 1)

https://www.iatrikionline.gr/url_42/2.pdf info urology)

<https://www.proteinatlas.org/learn/dictionary/normal/prostate/>

<https://www.uicc.org/resources/tnm/publications-resources>.