

# Diagnosztikus problémák és prognosztikai faktorok prosztatatarákban

TARJÁN MIKLÓS

Szegedi Tudományegyetem, Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola, Szeged

TÉMAVEZETŐ: PROF. DR. CSERNI GÁBOR PH.D. D.SC.

## Levelezési cím:

Dr. Tarján Miklós, Central Hospital, Department of Pathology and Clinical Cytology, 79182 Falun, Sweden.  
E-mail: miklos.tarjan@ltdalarna.se

## Közlésre érkezett:

2015. január 13.

## Elfogadva:

2015. január 17.

Munkánk célja, hogy hisztológiai módszer segítségével már preoperatív biopsziában el tudjuk különíteni a ductális rákot (DAP) az acinárístól (AAP), és hogy igazolni tudjuk, hogy azok a prosztatatarákok, amelyek ductális differenciációt mutatnak, valóban agresszívebbek, mint a tiszta acináris megjelenésűek. Továbbá arra keressük a választ, hogy transzrektális ultrahangvezérelt sextáns- vagy oktánsbiopsziák elemzésével lehetőség van-e információt szerezni az extrakapszuláris terjedés (ECE) jelenlétéről. Tanulmányunkban 110, radikális prosztatektómián (RP) átesett beteg mintáját retrospektív hagyományos óriásmetszet-technikával, másrészt az intézetünkben kifejlesztett háromdimenziós (3D) technikával vizsgáltuk. Vizsgálatunkhoz 2000. január és 2006. december között operált betegek anyagát használtuk, az átlagos követési idő 5,1 év volt. A munkánkban 9 különböző immunhisztokémiai markert teszteltünk. 84 betegben elemeztük a transzrektális ultrahangvezérelt sextáns- (60 eset) vagy oktánsbiopsziákat (24 eset). A pozitív biopsziák száma és az ECE közötti összefüggést khi-négzet-teszttel vizsgáltuk. Meghatároztuk a specificitást, szenzitivitást és a pozitív, valamint negatív prediktív értékeket. A vizsgálat eredményének pontosítása miatt a pozitív biopsziák számát kombináltuk két másik paraméterrel: PSA-val és a Gleason score-ral. Háromdimenziós és hagyományos óriásmetszet-technikával 13 esetben igazoltunk DAP-t, és 97 esetben AAP-t. DAP-ben szignifikánsan nagyobb gyakorisággal fordult elő pT3 vagy előrehaladottabb daganat ( $p < 0,0001$ ), 20 mm-nél nagyobb tumorgóc ( $p = 0,0020$ ), magas grádusú PIN ( $p = 0,0079$ ), Gleason score  $\geq 7$  ( $p < 0,0001$ ), pozitív sebészi szél ( $p = 0,0219$ ), ECE ( $p < 0,0001$ ), érinvázio ( $p = 0,0033$ ), ondóhólyag-érintettség ( $p = 0,0213$ ), biokémiai/lokális visszaesés, ( $p = 0,0015$ ), regionális nyirokcsomó- és távoli metasztázis

*We aimed to refine the methodology for discriminating ductal (DAP) and acinar adenocarcinomas (AAP) of the prostate preoperatively with a high degree of accuracy, and confirm that prostate carcinoma of ductal origin is a more aggressive subtype. Moreover, we intended to evaluate the clinical utility of transrectal ultrasound-guided systematic sextant or octant biopsies in prediction of extracapsular extension (ECE) at radical prostatectomy. A blinded retrospective analysis of 3-dimensional histology specimens from 110 consecutive radical prostatectomy (RP) cases operated between 2000 and 2006 was carried out (average follow-up: 5.1 years). The samples were also analyzed for 9 different biomarkers. We performed a retrospective analysis of 84 cases of patients who underwent transrectal ultrasound-guided systematic sextant (in 60 cases) or octant (in 24 cases) biopsy. The presence of ECE was correlated to the number of positive biopsies on each side of the prostate by chi-square analysis. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values were calculated for both positive (two or three positive biopsies per side) and negative (no or only one positive biopsy per side) test results. The number of positive cores was thereafter combined with two other parameters: prostate-specific antigen (PSA) and Gleason score. 3-dimensional and conventional histology classified 97 cases of AAP and 13 cases of DAP. DAP cases had a significantly greater frequency of pT3a and more advanced cancers ( $p < 0.0001$ ),  $>20$  mm tumor focus ( $p = 0.0020$ ), high-grade PIN ( $p = 0.0079$ ), Gleason score  $\geq 7$  ( $p < 0.0001$ ), positive surgical margin ( $p = 0.0219$ ), ECE ( $p < 0.0001$ ), vascular invasion ( $p = 0.0033$ ), seminal vesicle infiltration ( $p = 0.0213$ ), biochemical/local recurrence ( $p = 0.0015$ ), regional lymph*

( $p < 0,0001$ ). Három biomarker (kromogranin A, EGFR, p53) kombinációjával 94% [AUC 0,94; 95% CI: 0,88–0,99] pontossággal elkülöníthető a két daganat. ECE 24%-ban (20/84) igazolódott a RP-s mintákban. Khi-négyzet-teszttel szignifikáns összefüggést igazoltunk a pozitív biopsziák száma és az ECE jelenléte között. 168 prosztataoldal elemzésekor a pozitív prediktív érték 46,7%, míg a negatív prediktív érték 89% volt. A domináns oldal elemzésével ugyanezen paraméterek vizsgálatakor 37%-ot, illetve 94%-ot kaptunk. A 10 ng/ml-nél magasabb preoperatív PSA-értékeket és 7 vagy annál nagyobb Gleason score-t az irodalmi adatok alapján magas rizikójú paraméternek tekintettük. A pozitív biopsziák számát kombináltuk a preoperatív PSA és biopsziás Gleason score értékeivel, és ezáltal ECE vonatkozásában magas, illetve alacsony rizikójú betegcsoportokat kaptunk. Alacsony rizikójú paraméterek mellett, ha legfeljebb egy biopszia tartalmazott daganatot, nem volt ECE. Ezzel szemben, ha magas rizikójú paraméterek mellett egynél több biopsziás minta tartalmazott daganatot, 77%-ban találtunk ECE-t. A 3D hisztológiai módszer használata RP-s mintán kombinálva a három immunhisztokémiai markerrel alkalmas arra, hogy elég jó pontossággal el tudjuk különíteni a DAP-t az AAP-tól. E tudás birtokában lehetőség van a terápia tervezésére is. Bizonyos AAP-esetekben alkalmazni lehetne a kevésbé radikális eljárásokat, míg DAP-ben szükség lenne sokkal hatásosabb kezelési eljárásokat kifejleszteni. Az ECE jelenléte igen jól előrejelezhető szextáns- vagy oktánsbiopsziákban a pozitív biopsziák számával vagy ezt kombinálva más paraméterekkel. Magyar Onkológia 60:72-77, 2016

**Kulcsszavak:** duktális adenokarcinóma, immunhisztokémia, óriásmetszet-hisztológia, 3D hisztológia, radikális prosztatektómia, extrakapszuláris terjedés

## BEVEZETÉS

A prosztatarák (Pca) a leggyakrabban előforduló rosszindulatú daganat férfiakban, elsősorban a nyugati társadalmakban. Különböző hisztológiai tényezőket javasolnak a betegség prognózisának meghatározására. Ezek közül a legfontosabbak a hisztológiai grádus (Gleason score), a hisztológiai típus, a sebészi szél állapota, az extrakapszuláris terjedés (ECE) jelenléte, a vesicula seminalis érintettsége, a tumor nagysága, a patológiai stádium, a nyirokcsomók állapota és az érbetörés. A tapasztalat azonban az, hogy e morfológiai paraméterek pontos meghatározása ellenére sem jósolható meg minden esetben a betegség lefolyása. Ezért szükségét érezzük további prognosztikai markerek felismerésének és igazolásának, hogy pontosabban tudjuk megbecsülni a betegség lefolyását, és elkerüljük a betegek esetleges túl- vagy alulkezelését.

Nemzetközi tanulmányok azt igazolják, hogy azok a Pca-k, amelyek duktális megjelenést mutatnak, agresszívebben viselkednek, mint azok, amelyekben ez nem igazolható.

*node metastases and distant metastases ( $p < 0,0001$ ). Three biomarkers in combination (chromogranine A, EGFR, p53) distinguished DAP from AAP with an accuracy of 94% (AUC 0.94; 95% CI: 0.88–0.99). ECE was evidenced at RP in 24% (20/84) of the patients. Chi-square analysis demonstrated a significant correlation between the number of positive biopsies and presence of ECE. Analysis of the 168 prostate sides and dominant sides revealed that systematic needle biopsies had a positive predictive value of 46.7% and 37% and a negative predictive value of 89%, and 94%, respectively. Combination of parameters (biopsy Gleason score  $\geq 7$  vs.  $< 7$ , PSA  $> 10$  ng/ml vs.  $\leq 10$  ng/ml and more than one positive cores vs. 0 or 1 positives) identified patients at high or low risk of ECE, respectively. On the extremes, with only low-risk parameters none of the 10 patients, while 77% of those with high-risk group had ECE at RP. Both 3-dimensional histology and the three selected biomarkers can accurately distinguish DAP from AAP. This discriminatory ability offers AAP cases less radical treatment regimens and emphasizes the need to develop more effective treatment regimens for DAP cases. The probability of ECE at radical prostatectomy can be accurately predicted based on the number of positive sextant and octant biopsies, solely or in combination with other parameters.*

*Tarján M. Diagnostic problems and prognostic factors in prostate cancer. Hungarian Oncology 60:72-77, 2016*

**Keywords:** ductal adenocarcinoma, immunohistochemistry, large section histopathology, 3D pathology, radical prostatectomy, extracapsular extension

Biopsziás mintákban a duktális jelleg felismerése nem egyszerű, hiszen a minta nagysága nem teszi lehetővé, hogy az egész daganatot vizsgáljuk, ezért jogos igény, hogy olyan biomarkereket találjunk, amelyek segítik a tumortípus pontos meghatározását preoperatív mintákon is.

A sikeres kezelés szempontjából lényeges kérdés, hogy a daganat a diagnózis pillanatában a szervben belül helyezkedik-e el, vagy már azon túlterjedt. Ennek megítélésére az általában használt klinikai prognosztikai paraméterek (szérum PSA-szintjének mérése, rektális digitális vizsgálat), a Gleason score, továbbá a fejlett képalkotó vizsgálatok (pl. MRI) sem mindig elegendők.

## CÉLKITŰZÉSEK

1. Annak vizsgálata, hogy azok a Pca-k, amelyek duktális differenciációt mutatnak, valóban agresszívebben viselkednek-e, mint azok, amelyek tiszta acináris megjelenésűek.

2. A munkánkban 9 különböző immunhisztokémiai markert (Ki-67, p53, p16, p27, Cox-2, EGFR, tenascin-C, kromo-

granin A, bcl-2) teszteltünk abból a célból, hogy alkalmasak-e a ductális megjelenés igazolására.

3. A hisztológiai módszer tökéletesítése annak érdekében, hogy preoperatív biopsziában el tudjuk különíteni a ductális rákot (DAP) az acinárístól (AAP).

4. Arra keressük a választ, hogy transzrektális ultrahangvezérelt szextáns- vagy oktánsbiopsziák elemzésével lehetőség van-e információt szerezni az ECE jelenlétéről, azaz a pozitív biopsziák száma alapján tudunk-e segíteni az urológusnak a radikális prosztatektómia (RP) indikációjában.

5. A meglévő prognosztikai faktorok segítségével próbálunk kidolgozni egy hasznos kombinációt, amelynek ismerete pontosabb terápiás tervezést tesz lehetővé a klinikus számára.

## BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

### Betegek

Tanulmányunkhoz 110, RP-n átesett beteg mintája állt rendelkezésre, akiket 2000. január és 2006. december között operáltak kórházunkban. Ezek közül 21 esetben bilaterális kismedencei limfadenektómiát is végeztek. Minden esetben a preoperatív stádiumfelmérés szerven belüli tumort igazolt. A lényeges hisztológiai morfológiai adatok mellett egyéb fontos klinikai információkat gyűjtöttünk össze. Minden egyes betegnél figyelembe vettük a preoperatív, posztoperatív és a legutolsó PSA-értékeket. Információkat szereztünk a különböző nem sebészi terápiás beavatkozásokról. Adatokat gyűjtöttünk az esetleges lokális recidíváról, lokoregionális nyirokcsomó- és/vagy távoli áttétekről, illetve a biokémiai visszaesésről (PSA  $\geq$ 0,2 ng/ml). A fent említett szempontok alapján a betegek követése 2010. augusztus 31-én zárult le, ami 5,1 éves (4–10 év) átlagos követési időt jelentett.

Egy korábbi időszakból (2000. január–2005. augusztus) 84 betegben elemeztük a transzrektális ultrahangvezérelt szextáns- (60 eset) vagy oktánsbiopsziákat (24 eset).

### Szövettani vizsgálat

A RP-s mintákat, melyeket teljes egészében beágyaztunk, egyrésztől hagyományos óriásmetszet (10×8 cm-es blokk) technikával, másrészt az intézetünkben kifejlesztett háromdimenziós (3D) technikával vizsgáltuk. Ez a kombinált módszer alkalmas arra, hogy morfológiai alapon nagyobb biztonsággal elkülönítsük a DAP-t az AAP-tól. A ductális jelleg meghatározásánál figyelembe vettük az irodalomban már leírt szövettani kritériumokat, melyek alapján papilláris, kribriform és szolid DAP-k ismertek. A 3D vizsgálattal a DAP morfológiai kritériuma a következő: torz, szabálytalan alakú és/vagy számtalan ductális képlet jelenléte periuretrális és/vagy szubkapszuláris lokalizációban; ezek a tumorban vagy annak közelségében helyezkednek el. E feltételek alapján meghatározott tiszta DAP (1 eset) és kevert, DAP-AAP esetek között nem tettünk különbséget, és a továbbiakban összevonva, DAP-ként tárgyaltuk őket. A ductális differenciáció kiterjedését nem vizsgáltuk.

A hagyományos óriásmetszet-technika lehetővé teszi azt is, hogy pontosan meghatározzunk egyéb szövettani jellemzőket, így a daganat pontos differenciációját (Gleason score), multifokálisitását, az egyes tumorgócok méretét, az ECE-t, a radikalitást, az érbetörést és a vesicula seminalis érintettségét. E morfológiai paraméterek mellett az intraepithelialis neoplasia (PIN) jelenlétét is rögzítettük. A teljes anyagot (84 preoperatív biopszia és 110 RP-minta) retrospektív módszerrel vizsgáltuk.

### Immunhisztokémiai vizsgálat

Az immunhisztokémiai vizsgálatához úgynevezett többszörös biopsziás blokkot, szöveti multiblokkot – tissue microarray (TMA) – alkalmaztunk, és a mintákat az egyes beágyazott prosztatektómiás blokkból a legreprezentatívabb tumoros területből vettük. Kilenc különböző immunhisztokémiai markert vizsgáltunk. Ki-67, p53, p16, p27 és bcl-2 esetében a 10%-os határértéket vettük figyelembe annak érdekében, hogy elkülönítsük a magasan és alacsonyan expresszázó csoportokat. A kromogranin A esetében szemikvantitativ módszert alkalmaztunk, melynek lényege, hogy 400-szoros nagyításon megszámoltuk a sejteket a „legaktívabb” területen. Ez alapján négy csoportot alkottunk 0-tól 3-ig (0, negatív; 1, 1–4 pozitív sejt; 2, 5–19 pozitív sejt; 3, 20 vagy több pozitív sejt). A Cox-2 vizsgálatában a festődés intenzitása alapján egy négyes skálát (0, negatív; 1, gyenge; 2, közepes; 3, erős) alkalmaztunk. Ezekben az esetekben a 2 és 3 értékeket vettük pozitívnak.

Tenascin C esetében a tumoros stromában és periglandulárisan is három csoportot alkotva (0, negatív/normális; 1, enyhe/közepes; 2, erős) vizsgáltuk a festődés intenzitását, és az 1, valamint a 2 értékeket számítottuk pozitívnak. Epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) esetében négyes skálát (0, negatív; 1, a tumorsejtek <10%-ában teljes membránpozitivitás vagy a tumorsejtek >10%-ában inkomplett pozitivitás; 2, enyhe, közepes membránpozitivitás a tumorsejtek >10%-ában; 3, erős pozitivitás a tumorsejtek >10%-ában) vettünk figyelembe. Bármilyen 10% feletti komplett festődést már pozitív eredménynek tekintettünk.

### A biomarker-tanulmány statisztikai elemzése

Az egyes paraméterek és a biomarkerek AAP-hez és DAP-hez való viszonyának értékeléséhez khi-négyzet-tesztet alkalmaztunk. Azokban az esetekben, ahol az esetek száma kevesebb volt ötnél, Fisher-féle egzakt próbát használtunk. Logisztikus regressziós modell segítségével minden egyes biomarker esetében meghatároztuk az esélyhányadost (odds ratio) AAP és DAP vonatkozásában. Az egyváltozós analízis során szignifikáns különbséget mutató biomarkerek esetében a többváltozós logisztikus regressziós modell segítségével kiválasztottuk a legjelentősebb biomarkereket. ROC (receiver-operating characteristic) görbe segítségével ábrázoltuk a három kiválasztott biomarker AAP és DAP elkülönítésében mutatkozó értékét, és Hanley szerint értékeltük a görbe alatti

területet és annak 95%-os konfidenciaintervallum- (CI) értékét. A három kiválasztott biomarker elkülönítő képességét a DAP megjósolására 24 preoperatív mintán is teszteltük, aminek kapcsán a három biomarker 8-féle különböző kombinációját állítottuk fel.

### ECE-tanulmány statisztikai elemzése

84 betegben elemeztük a transzrektális ultrahangvezérelt szextáns- (60 eset) vagy oktánsbiopsziákat (24 eset), és minden esetben meghatároztuk a pozitív biopsziák számát. A pozitív biopsziák száma és a prosztatektómiás mintákban igazolt ECE közötti összefüggést khi-négyzet-teszttel vizsgáltuk, először 168 prosztataoldal (84 beteg) tekintetében, majd következő lépésben a domináns (a legnagyobb tumorgócot tartalmazó) prosztataoldal vonatkozásában is. Mindkét esetben meghatároztuk a specificitást, szenzitivitást és a pozitív, valamint negatív prediktív értékeket. A 10 ng/ml-nél magasabb preoperatív PSA-értékeket és 7 vagy annál nagyobb Gleason score-t az irodalmi adatok alapján magas rizikójú paraméternek tekintettük. E paramétereket kombináltuk a pozitív biopsziák számával, és khi-négyzet-próbával elemeztük a prediktív értéküket az ECE megítélésének vonatkozásában.

## EREDMÉNYEK

### DAP és AAP összehasonlítása

Kombinált, 3D és hagyományos óriásmetszet-technikával 13 (12 kevert és 1 tiszta forma) esetben igazoltunk DAP-t. A maradék 97 esetben AAP-t találtunk. DAP-ben a következő paraméterek fordultak elő szignifikánsan nagyobb gyakorisággal: pozitív rektális digitális vizsgálat ( $p=0,0049$ ), transzrektális ultrahanggal meghatározott nagyobb prosztataméret ( $p=0,0021$ ), pT3 vagy előrehaladottabb daganat ( $p<0,0001$ ), legnagyobb tumorgóc  $>20$  mm ( $p=0,0020$ ), magas grádusú PIN ( $p=0,0079$ ), Gleason score  $\geq 7$  ( $p<0,0001$ ), pozitív sebészi szél ( $p=0,0219$ ), ECE ( $p<0,0001$ ), érinvázió ( $p=0,0033$ ), ondóhólyag-érintettség ( $p=0,0213$ ), biokémiai/lokális visszaesés ( $p=0,0015$ ), regionális nyirokcsomó- és távoli metasztatízis ( $p<0,0001$ ). AAP-ben a következő paraméterek fordultak elő szignifikánsan nagyobb gyakorisággal: előfordulási arány, pT1 és pT2 daganat ( $p<0,0001$ ), legnagyobb tumorgóc  $<20$  mm ( $p=0,0020$ ), Gleason score  $\leq 6$  ( $p<0,0001$ ). Nem találtunk szignifikáns statisztikai különbséget a betegek életkorában, a pre- és posztoperatív PSA-szintben, a tumoros góccok számában és a tumor kiterjedésében.

A RP-s minták részletes feldolgozása során a DAP tumorokban mindössze 15%-ban (2/13), AAP esetében pedig 73%-ban (71/97) igazoltuk a daganat szervben belüli elhelyezkedését. Az átlagosan 5,1 éves követési idő alatt az összes DAP-s betegben igazolható volt a betegség valamilyen fokú progressziója: biokémiai visszaesés 8 esetben, csak nyirokcsomó-metasztatízis 2 esetben és távoli áttét 3 esetben. Egy beteg a betegség szövődménye következtében meghalt. Ezzel szemben a 97 AAP-s beteg közül 86 (89%) esetében nem volt

progresszió. A maradék 11 esetben is csak a PSA-szint emelkedésével igazolt biokémiai visszaesés mutatkozott. Ezen AAP-s tumorokra a daganat nagy kiterjedése volt jellemző, vagy legalább 25 mm-es legnagyobb tumorgóccal vagy extenzív többgócúsággal. Az AAP-s betegek közül 3 halálesetet regisztráltak, amelyek egyike sem volt összefüggésbe hozható az alapbetegséggel.

### Rossz prognózisra utaló biomarkerek elemzése

Figyelembe véve a korábban leírt kritériumokat, Ki-67-tel a DAP-k 69%-ban, az AAP-k 26%-ban mutattak expressziót legalább a sejtek 10%-ában. Továbbiakban az AAP tumorok kromogranin A-val 18%-ban, EGFR-rel 5%-ban, p53-mal 12%-ban mutattak pozitívítást. Ugyanakkor a DAP tumorok ugyanezen markerekkel 69, 46, illetve 77%-ban voltak pozitívak. A tenascin C AAP tumorokban stromális festődést 5%-ban, periglanduláris festődést 74%-ban mutatott, míg ugyanezen lokalizációban dukális tumorokban expressziója 23%, illetve 100% volt. A p27, Cox-2, p16 és bcl-2 kifejeződésében statisztikailag szignifikáns különbséget nem találtunk a két tumortípus között. A többváltozós (adjusted) analízis alapján megállapítható, hogy a vizsgált biomarkerek közül három képes legjobban a két tumortípus elkülönítésére. Az EGFR-nek 11-szeres (aOR=11,25; 95% CI: 1,71–74,10), a kromogranin A-nak 12-szeres (aOR=11,56; 95% CI: 2,04–65,38), a p53-nak 21-szeres (aOR=20,83; 95% CI: 3,71–116,94) a megkülönböztető ereje, és a három biomarker kombinációjával 94% (AUC 0,94; 95% CI: 0,88–0,99) pontossággal elkülöníthető a két daganat. E biomarkerek kiváló prediktív értékét a 24 preoperatív (12 AAP és 12 DAP) biopszián elvégzett statisztikai elemzéssel is alátámasztottuk. Megállapítható volt, hogy a DAP kockázata a pozitív biomarkerek számával emelkedik. Így ha mindhárom marker pozitív, majdnem 100%, kettő pozitív esetén 91–95%, egy pozitív eredmény esetén 46–61%, és ha mindegyik negatív, akkor csak 7% az esély a DAP-re.

### ECE előrejelzése

A 168 prosztataoldal vizsgálatával a három, illetve négy core-biopsziából 39 esetben (23,2%) a biopsziák mindegyike daganatmentes volt, 67 esetben (39,8%) egy, 39 esetben (23,2%) kettő, és 23 esetben (13,6%) három biopsziában volt daganat. A vizsgálat során szignifikáns kapcsolat mutatkozott a pozitív biopsziák száma és a szövettanilag igazolt ECE között ( $p=0,0003$ ). Amikor egy sem, vagy legfeljebb egy biopszia tartalmazott daganatot, ECE csak 5,1%-ban, illetve 13,4%-ban volt a RP anyagában. Ezzel szemben, amikor kettő, illetve három biopszia volt érintett, már 35,8%-ban és 65,2%-ban volt jelen ECE. A domináns oldal vizsgálatával is hasonló eredményt kaptunk. ECE az esetek 5,7%-ában volt jelen, ha csak egy biopszia tartalmazott daganatot. Ezzel szemben két minta érintettsége esetén 20,6%-ban, három biopszia pozitívítása esetén 60%-ban igazoltunk ECE-t ( $p=0,008$ ). A fentiek alapján megállapítható, hogy ha legfeljebb egy biopsziában van daganat, az jelentősen alacsonyabb rizikót

jelent az ECE-re, mint amikor kettő vagy három minta érintett. Így a további statisztikai elemzéskor az érintetlen vagy legfeljebb egy érintett minta eseteit negatív teszteredménynek tekintettük. Ezzel szemben, amikor kettő vagy három minta volt érintett, az eseteket a statisztikai vizsgálat kapcsán pozitív eredménynek minősítettük. Ezen elvek alapján a 168 prosztataoldal elemzésekor a pozitív prediktív érték 46,7%, míg a negatív prediktív érték 89% volt. A domináns oldal elemzésével ugyanezen paraméterek vizsgálatakor 37%-ot, illetve 94%-ot kaptunk.

Amennyiben a pozitív biopsziák számát kombináltuk a preoperatív PSA és biopsziás Gleason score értékeivel, növelni tudtuk a vizsgálat prediktív értékét. Abban az esetben, amikor 10 ng/ml-nél alacsonyabb preoperatív PSA-érték mellett a Gleason score 7-nél kisebb volt, és nem több, mint egy biopszia tartalmazott csak daganatot, a daganat minden esetben a prosztatán belül volt. Ezzel szemben, amikor a PSA-érték  $\geq 10$  ng/ml, a Gleason score  $\geq 7$  és egynél több biopsziás minta tartalmazott daganatot, 77%-ban találtunk ECE-t.

## MEGBESZÉLÉS

Az irodalmi adatok alapján a DAP tiszta formájának gyakorisága 0,4–1%-ra tehető, míg a kevert AAP/DAP tumorok gyakoriságát 5% felső határig említik. Vizsgálatunkban mi sokkal magasabb arányban, 11,8%-ban találtunk dukális differenciációt, ami talán a nem szokványos 3D és a hagyományos óriásmetszet-technika kombinációjából származó jobb vizualizációval indokolható.

A DAP sokkal agresszívebb formája a prosztataráknak, mint az AAP. Az 5 éves túlélés mindössze 15–43% DAP-s betegekben. Továbbá a betegek 25–40%-ában már metasztázis van a diagnózis pillanatában, hozzátevé, hogy a metasztázis helye is néha szokatlan a prosztatarákban, mint például here, bőr, hímvessző és egyéb zsigeri szervek. Tanulmányunk is számos adattal támasztja alá, hogy a dukális differenciáció jelenléte egy agresszívebb lefolyást jelent, továbbá a követési idő alatt kizárólag csak DAP-s betegekben észleltünk zsigeri metasztázist (2 eset), lokoregionális nyirokcsomóáttétet (2 eset), csontmetasztázist (2 eset) és prosztatarákkal összefüggő halálozást (1 eset).

Az irodalomban nem találtunk olyan átfogó dolgot, amely a DAP immunhisztokémiai elkülönítésével foglalkozott volna, bár néhány közlemény fellelhető, amelyben arról számolnak be, hogy esetleg bcl-2- vagy CK20-pozitivitás jellemző lenne a DAP-re, de egy specifikus immunhisztokémiai panelt eddig még nem sikerült felállítani. Munkánkban rámutattunk arra, hogy a kromogranin A, p53, EGFR és Ki-67 fokozottabb expressziója kapcsolatba hozható a dukális differenciáció jelenlétével, ami alapján ezek ígéretes immunhisztokémiai markereknek tűnnek a dukális fenotípus igazolására.

Néhány szerző arra mutatott rá, hogy a neuroendokrin differenciáció (NED) jelenléte prosztatarákban kapcsolatban van olyan prognosztikus faktorokkal (pl. magasabb Gleason

score), amelyek az agresszívebb biológiai lefolyást jelzik. A neuroendokrin sejtek nagyobb számát találták azokban a daganatokban, melyek már előrehaladottabb stádiumban voltak, és különösen azokban a betegekben, akik androgénszuppressziós kezelésben részesültek.

A legtöbb humán tumor esetében, így Pca-ban is igazolták a p53 tumorszuppresszor gén vagy a p53-as útvonal hibás működését. A TP53 gén mutációja ismert késői esemény a Pca karcinogenezisében, de nem teljesen tisztázott, hogy vajon a vad típusú p53 jelentős mértékben expresszálódik-e a Pca korai stádiumában is. A nukleáris p53-pozitivitás kapcsolatba hozható a high-grade tumorokkal, az előrehaladottabb stádiummal, és bizonyították a negatív prognosztikus értékét, amit munkánkkal is alá tudtunk támasztani.

Az EGFR tirozinkináz-aktivitással rendelkező transzmembrán fehérje, mely fiziológiásan fontos szabályozó szerepet tölt be a sejtproliferáció, a migráció és az apoptózis biológiai folyamataiban. A tirozinkináz jelpálya szabályozatlan működése a tumorsejtek megnövekedett proliferációját és túlélését, valamint emelkedett inváziós és áttétképző képességét eredményezi. E jelátviteli utak rendellenes működését számos szolid tumorban írták már le, így Pca-ban is, amelyben az EGFR fokozottabb expressziója összefüggésbe hozható a rosszabb klinikai kórlefelgyással, a magasabb Gleason score-ral és a daganat hormonrefrakter fenotípusával.

Munkánk során statisztikailag igazolni tudtuk, hogy a kromogranin A, p53 és EGFR kombinációjával lehetőség van a DAP tumorokat elkülöníteni az AAP tumoroktól, és ennek elsősorban a preoperatív biopsziák vizsgálatában van jelentősége.

A várható radikalitás pontos preoperatív meghatározása, azaz hogy a daganat még szerven belül helyezkedik-e el, lényeges klinikai információ a kezelés megtervezéséhez. Általánosan elfogadott tény, hogy a pozitív sebési szél kapcsolatba hozható a betegség-specifikus túléléssel. Ismereteink szerint Gancarczky és munkatársai 1510 beteget magába foglaló tanulmánya jelenti a legátfogóbb munkát, melyben igazolták azt, hogy a biopsziákban a daganatszövet aránya százalékban kifejezve a legerősebb független paraméter az ECE megítélésére. Tőlük függetlenül mások is leírták, hogy a biopsziákban a daganat százalékos aránya, a kezelés előtti PSA-érték és a biopsziás Gleason score a három legerősebb prediktív paramétere a betegség lokális kiterjedésének.

Bemutattuk, hogy a legalább 6 biopsziából álló transzrektális ultrahangvezérelt mintavétel alkalmas módszer lehet az ECE jelenlétének megbecsülésére. A prosztataoldal vizsgálatát igazolta, hogy ha kettő vagy három biopszia pozitív, akkor sokkal magasabb a rizikója az ECE-nek, mint akkor, ha legfeljebb egy minta tartalmaz daganatot. Igazoltuk, hogy ha a három-négy biopsziából kettő vagy három tartalmaz daganatot, a vizsgálat pozitív prediktív értéke alacsony, 37%, illetve 46,7%. Ugyanakkor e vizsgálat negatív prediktív értéke magas: 89%, illetve 94%, ha a három-négy biopsziából egyben sem vagy legfeljebb egyben van daganat.

Az irodalomból jól ismert, hogy bizonyos eltérés lehet a preoperatív és a végleges Gleason score között. Munkánkban bemutattuk, hogy ez a különbség csökkenthető volt a preoperatív biopsziák számának növelésével. Szextánsbiopsziák esetében 57,6%, oktánsbiopsziáknál 79,2% volt az egyezés. Továbbá az is általánosan elfogadott tény, hogy a magas Gleason score (7 vagy több) rosszabb prognózist jelent, míg alacsonyabb (5-6) esetén sokkal jobb az életkilátások. Ezt alátámasztva, vizsgálatunkban pozitív összefüggést találtunk a preoperatív Gleason score és ECE jelenléte között.

A klinikai gyakorlatban különböző nomogramokat alkalmaznak a várható patológiai stádium és a betegség progressziójának megbecsülésére; ezek alapját képezhetik a kezelés megtervezésének. Svédországban három adatot vesznek figyelembe, úgymint a klinikai stádiumot, a biopsziás Gleason score-t és a PSA-t, ezek mértéke alapján alacsony, közepes és magas rizikójú csoportokat definiálnak, amelyekben a várható 10 éves betegségmentes túlélés 83, 46, illetve 29%-os.

A legismertebb algoritmus, amely a várható patológiai stádium megítélésére alkalmas, a hamburgi. Ez a rendszer is elsősorban a biopsziás Gleason score-t veszi alapul arra, hogy a lokoregionális nyirokcsomók állapotát megbecsülje. Briganti és mtsai munkájukban 278, RP-n átesett beteg anyagait dolgozták fel, akiknél egyidejűleg nyirokcsomó-disszekció is történt, és azt igazolták, hogy a biopsziás Gleason score és a daganatszövet százalékosan kifejezett értéke a két legelősebb paraméter a nyirokcsomó-állapot megbecsülésére.

Munkánk e részének egyik fő célja az volt, hogy bizonyos preoperatív paraméterek alkalmazásával olyan hasznos kombinációt találjunk, amellyel elég jól megítéljük a prosztatakapcsolatba érintettségét. A pozitív biopsziák számát, a preoperatív PSA-t és a biopsziás Gleason score-t kombinálva javítani tudtuk a módszer prediktív értékét az ECE vonatkozásában.

## ÖSSZEFOGLALÁS, KÖVETKEZTETÉSEK

1. Eredményeink megerősítik a korábbi megfigyeléseket, hogy a dukális differenciáció jelenléte prosztatarákban kapcsolatba hozható a kedvezőtlen prognosztikai változókkal és a kórlefolyással.

2. Az általunk vizsgált 9 immunhisztokémiai markerből a kromogranin A, a p53 és az EGFR fokozott expresszióját sikerült kimutatni a dukális differenciációt mutató daganatsejtekben. E biomarkerek alkalmazása nemcsak hasznos kiegészítő eljárás lehet majd a prosztatapatológiában, hanem egy alkalmas eszköz is a kedvezőtlen lefoyas megítélésére.

3. A 3D hisztológiai módszer használata RP-s mintán, kombinálva a fent említett immunhisztokémiai markerekkel alkalmas arra, hogy elég jó pontossággal el tudjuk különíteni a DAP-t az AAP-tól.

4. Vizsgálatunkban igazoltuk, hogy transzrektális ultrahangvezérelt szisztémás biopszia elemzésével hasznos információt kaphatunk a prosztatarák kiterjedéséről és az ECE jelenlétéről. A prosztata oldalainak vizsgálatával megállapítottuk, hogy ha három (szextánsbiopszia esetén) vagy négy (oktánsbiopszia esetén) biopsziából legfeljebb egyben van daganat, az jelentősen alacsonyabb rizikót jelent az ECE-re, mint amikor kettő vagy három minta érintett.

5. Amennyiben ezen információkat kombináltuk a preoperatív PSA és a biopsziás Gleason score értékeivel, növelni tudtuk a vizsgálat pozitív prediktív értékét is az ECE megítélésére.

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki elsősorban témavezetőmnek, Cserni Gábor professzornak, a Bács-Kiskun megyei kórház patológiai osztály vezetőjének, szakmai tanácsaiért és személyes támogatásáért, amellyel mindvégig segítette tudományos munkámat. Köszönöm jelenlegi főnökömnek, Tot Tibor professzornak, hogy hasznos tanácsaival támogatta a tudományos tevékenységemet, és osztályán lehetővé tette, hogy kiváló szakmai körülmények között végezhessem a munkámat. Köszönet illeti a tudományos munkában és a dolgozatok megírásában részt vevőket: Tabár László és Hsiu-His Chen professzorokat, Wendy Wut, Anna Lenngrént, Peter B. Deant, Dan Hellberget, akik nélkül ez az értekezés nem jöhetett volna létre. Köszönettel tartozom a jelenlegi munkahelyem összes dolgozójának, akik magas fokú szakmai felkészültségükkel hozzájárultak a tudományos munka sikerességéhez. Nem utolsósorban, hálás vagyok feleségemnek, gyermekeimnek és szüleimnek, hogy szeretetükkel, türelmükkel és példamutatásukkal szilárd hátteret biztosítottak számomra.

## AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK

Tarján M, Tot T. Prediction of extracapsular extension of prostate cancer based on systematic core biopsies. Scand J Urol Nephrol 40:459-464, 2006  
 Tarján M. Prognostic significance of focal neuroendocrine differentiation in prostate cancer: cases with autopsy-verified cause of death. Indian J Urol 26:41-45, 2010

Tarján M, Lenngrént A, Hellberg D, Tot T. Immunohistochemical verification of ductal differentiation in prostate cancer. APMIS 120:510-518, 2012  
 Tarján M, Chen H-H, Tot T, et al. Improved differentiation between ductal and acinar prostate cancer using 3-dimensional histology and biomarkers. Scand J Urol Nephrol 46:258-266, 2012