



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Мирослав С. Мишовић

**Повезаност концентрације слободне
циркулишуће *lncRNA GAS5* са
патохистолошким, лабораторијским и
радиолошким карактеристикама
карцинома простате**

докторска дисертација

Крагујевац, 2022



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Miroslav S. Mišović

**Association of free circulating *lncRNA*
GAS5 concentration with
pathohistological, laboratory and
radiological characteristics of prostate
cancer**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2022

Аутор
Име и презиме: Мирослав С. Мишовић
Датум и место рођења: 11.11.1977. године, Београд, Србија
Садашње запослење: радиолог, Институт за радиологију Војномедицинске академије, Црнотравска 17, Београд, Србија
Докторска дисертација
Наслов: Повезаност концентрације слободне циркулишуће <i>lncRNA GAS5</i> са патохистолошким, лабораторијским и радиолошким карактеристикама карцинома простате
Број страница: 95
Број слика, графикана, табели: 15 слика, 25 графикана, 22 табеле
Број библиографских података: 167
Установа и место где је рад израђен: Војномедицинска академија, Црнотравска 17, Београд, Србија
Научна област (УДК): Онкологија
Ментор: др Бојана Цикота- Алексић, виши научни сарадник, Центар за клиничку фармакологију Војномедицинске академије, Црнотравска 17, Београд, Србија
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 17.12.2019. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: 05-1726/14 од 19.02.2020. године
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата: 1. Проф. др Весна Станковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, председник; 2. Проф. др Предраг Алексић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Хирургија, члан; 3. Проф. др Радиша Војиновић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Радиологија, члан.
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације:
Датум одбране дисертације:

Author
Name and surname: Miroslav S. Mišović
Date and place of birth: 11.11.1977., Belgrade, Serbia
Current employment: radiologist, Institute of Radiology, Military Medical Academy, Crnotravska 17, Belgrade, Serbia
Doctoral Dissertation
Title: Association of free circulating <i>lncRNA GAS5</i> concentration with pathohistological, laboratory and radiological characteristics of prostate cancer
No. of pages: 95
No. of images: 15 pictures, 25 graphs, 22 tables
No. of bibliographic data: 167
Institution and place of work: Military Medical Academy, Crnotravska 17, Belgrade, Serbia
Scientific area (UDK): Oncology
Mentor: Bojana Cikota- Aleksić, senior research associate, Centre of Clinical Pharmacology, Military Medical Academy, Crnotravska 17, Belgrade, Serbia
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 17.12.20219.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: 05-1726/14, 19.02.2020.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate:
1. Prof. Dr Vesna Stanković, associate professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, pathology, chairman;
2. Prof. Dr Predrag Aleksić, full professor, Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defence in Belgrade, surgery, member;
3. Prof. Dr Radiša Vojinović, associate professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, radiology, member.
Commission for evaluation and defense of doctoral:
Date of Dissertation Defense:

Сажетак

Увод/Циљ. Карцином простате (КП) је други карцином по учесталости у мушкој популацији. Иако је висока инциденца обољевања од ове врсте карцинома, у највећем броју случајева прогноза болести је повољна са дугорочно задовољавајућим квалитетом живота болесника. Један од главних циљева у истраживању КП је проналажење нових и ефикаснијих биомаркера. Циљ рада је био да се утврде разлике у вредностима *lncRNA GAS5* у плазми код здравих испитаника и болесника са КП, као и између оболелих од КП са различитим прогностичким стадијумима, као и корелација његове концентрације у плазми са резултатима *MDCT* стејџинга, патохистолошког налаза и *PSA*.

Метод. У студију је било укључено 60 болесника са КП и 30 здравих особа као контролна група. Болесници са КП су подељени у две подгрупе (у свакој по 30 болесника) на основу прогностичких критеријума *American Joint Committee on Cancer*. Подаци о болесницима су прикупљени и анализирани; *GAS5* је квантификован коришћењем *real-time PCR* методе. Статистичка анализа је извршена помоћу програма *IBM SPSS Statistics 26.0*.

Резултати. Ниво експресије *GAS5* био је статистички значајно нижи код пацијената са КП у односу на контролну групу ($p=0,009$). Такође, закључено је да разлика у нивоу експресије *GAS5* између пацијената у првој подгрупи и контролној групи није показала статистичку значајност ($p=0,066$). Истовремено, нађена је статистички значајна разлика у нивоу експресије *GAS5* између пацијената у другој подгрупи и контролној групи ($p=0,007$). Између пацијената у првој и другој подгрупи добијена је статистички незначајна разлика у вредностима нивоа експресије *GAS5* ($p=0,371$).

Закључак. Сprovedено истраживање указује на значај *lncRNAs* у КП, као и на повезаност ниских вредности нивоа експресије *GAS5* са лошом прогнозом код различитих тумора.

Кључне речи: карцином простате, биомаркер, дуги некодирајући ланци *RNA*, *lncRNA*, *GAS5*, *PSA*, *MDCT*, *Gleason* скор.

Abstract

Introduction/Aim. Prostate cancer (PCa) is the second most frequent cancer in the male population. Even though PCa incidence rates are high, in most cases the disease prognosis is favourable with an acceptable long-term quality of life. One of the main objectives in PCa research is identifying novel and more efficient biomarkers. This study's goal was to determine the difference between lncRNA GAS5 plasma levels between healthy subjects and the PCa patients, and to correlate the plasma concentration with the results of MDCT staging, pathohistological findings and PSA levels.

Methods. The study included 60 PCa patients and 30 healthy individuals in the control group. The PCa patients were divided in two subgroups (30 patients each) based on the American Joint Committee on Cancer prognostic criteria. Patient data were collected and analysed; GAS5 was quantified by using the real-time PCR methods. Statistical analysis was performed using the IBM SPSS Statistics 26.0 program.

Results. The GAS5 expression levels were significantly lower in PCa patients compared to the control group ($p=0.009$). The difference in the expression levels of GAS5 between patients in the first subgroup and the control group are not significant ($p=0.066$). However, there is a significant difference between patients in the second subgroup and the control group. ($p=0.007$). Comparing the first and the second subgroup there is no significant difference in the expression levels of GAS5 ($p=0.371$).

Conclusion. Conducted research provides strong evidence of the significance of lncRNAs in PCa, as well as the correlation of decreased expression of GAS5 and poor prognosis in various tumours.

Key words: prostate cancer; biomarker; long non-coding RNA; lncRNA, GAS5, PSA, MDCT, Gleason score.

Садржај:

1. Увод	
1.1. Карцином простате	1
1.1.1. Епидемиологија карцинома простате	1
1.1.2. Етиологија и фактори ризика за карцином простате	7
1.1.3. Класификација карцинома простате	8
1.2. Дијагностика карцинома простате	10
1.2.1. Дигито-ректални преглед	10
1.2.2. Лабораторијска дијагностика	11
1.2.2.1. Простата специфични антиген (<i>PSA</i>)	11
1.2.2.2. Однос слободног према тоталном <i>PSA</i> (<i>f/tPSA</i>)	12
1.2.3. Радиолошка дијагностика	14
1.2.3.1. Ултразвучна дијагностика	14
1.2.3.2. Трансректална ултразвучна дијагностика	14
1.2.3.3. Мултидетекторска компјутеризована томографија	15
1.2.3.4. Магнетна резонанца	18
1.2.4. Биопсија простате	20
1.3. Дугачки ланци некодирајуће РНК	23
1.3.1. Дугачки ланци некодирајуће РНК код карцинома простате	25
1.3.2. <i>Growth Arrest Specific transkript 5 (GAS5)</i>	28
2. Циљеви и хипотезе студије	30
2.1. Циљеви	30
2.2. Хипотезе	30
3. Материјал и метод истраживања	31
3.1. Врста студије	31
3.2. Популација која је истраживана	31
3.3. Узорковање	31
3.3.1. Критеријуми за укључивање у групу случајева	31
3.3.2. Критеријуми за искључивање из групе случајева	32
3.3.3. Критеријуми за укључивање у контролну групу	32
3.3.4. Критеријуми за искључивање из контролне групе	32
3.4. Варијабле које се мере у студији	33
3.4.1. Независне варијабле	33
3.4.1.1. <i>MDCT</i> прегледи	33

3.4.1.2. Патохистолошки налази	34
3.4.2. Зависне варијабле	34
3.4.2.1. Сакупљање узорка и изолација <i>RNA</i>	34
3.4.2.2. Квантификација <i>lncRNA GAS5</i>	34
3.4.2.3. Одређивање серумских вредности <i>PSA</i> и његових деривата	35
3.5. Снага студије и величина узорка	35
3.6. Статистичка обрада података	35
4. Резултати	37
4.1. Карактеристике пацијената са карциномом простате	37
4.2. Анализа контролне групе испитаника	42
4.2.1. Утицај појединих фактора ризика на ниво експресије <i>GAS5</i> у контролној групи	45
4.3. Упоредна анализа преоперативне групе пацијената у односу на контролну групу	46
4.4. Упоредна анализа пацијената са карциномом простате у преоперативном и постоперативном стадијуму	50
4.5. Анализа нивоа експресије <i>GAS5</i> у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно	53
4.6. Корелација нивоа експресије <i>GAS5</i> у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно са другим варијаблама	59
4.7. Прогностичка вредност нивоа експресије <i>GAS5</i> у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно	60
5. Дискусија	64
6. Закључци	74
7. Литература	75
Прилог 1	88
Прилог 2	91
Биографија аутора	92
Образац 1	93
Образац 2	94
Образац 3	95

1. Увод

1.1. Карцином простате

1.1.1. Епидемиологија карцинома простате

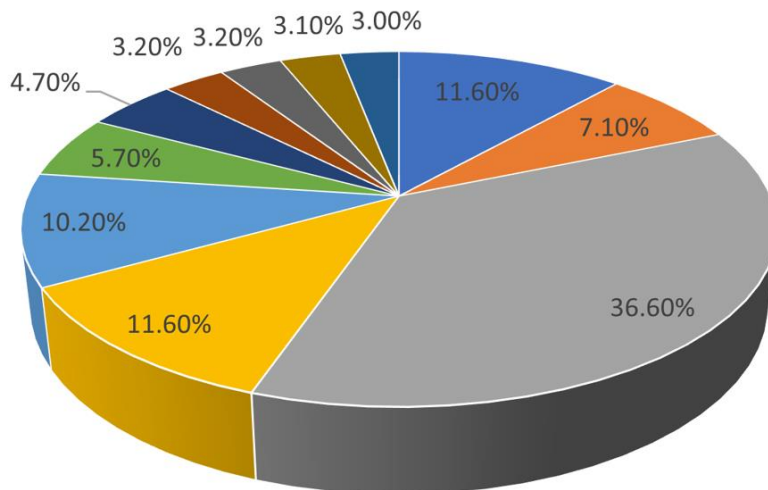
Карцином простате је четврти најчешћи малигнитет у општој популацији, а други по учесталости, након карцинома плућа, у мушкој популацији широм света (1). Према последњим подацима током 2018. године у свету је регистровано 1.276.106 нових случајева карцинома простате, што чини 7,1% свих новорегистрованих случајева карцинома, а 13,5% новорегистрованих случајева карцинома у мушкој популацији (Графикон 1) (2, 3). У истом периоду од последица карцинома простате умрло је 358.989 људи, што чини 3,8% свих смрти везаних за карциноме, односно 6,7% смрти од карцинома у мушкој популацији, што га чини петим водећим узроком смрти од карцинома у мушкој популацији (Графикон 2) (1).

На основу очекиваног раста светске популације и чињенице да светска популација постаје све старија, процењује се да ће се до 2030. године годишње регистровати око 1.700.000 нових случајева карцинома простате и 499.000 смртних случајева од карцинома простате (4).

Инциденца јављања карцинома простате варира по регионима широм света, тако да је *age-standardized incidence rate (ASR)* највиши у Аустралији и Океанији (79,1/100.000 становника) и Северној Америци (73,7), након чега следи Европа (62,1). Насупрот овоме, инциденца јављања је значајно нижа у Африци (26,6) и Азији (11,5) (Слика 1) (3, 5). Разлог за постојање оваквих разлика између земаља није у потпуности јасан. У Европи, карцином простате је најчешће дијагностикован карцином у мушкој популацији, чинећи 24% свих новооткривених карцинома у 2018. години, са око 450.000 новооткривених случајева, док је у Сједињеним Америчким Државама на другом месту са 9,5%, односно 164.690 новорегистрованих случајева у 2018. години (6).

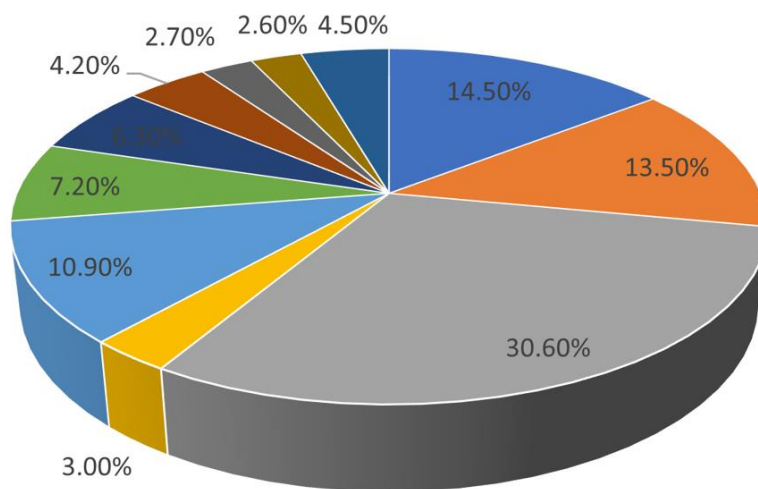
Истовремено, према подацима Института за заштиту здравља Србије „Др Милан Јовановић Батут“ из 2018. године, у Републици Србији карцином простате је био на петом месту по учесталости у општој популацији (5,6%) (Графикон 3), а на трећем месту по учесталости у мушкој популацији (10,5%) (Графикон 4), одмах после карцинома плућа (21,2%) и колоректалног карцинома (13,0%). Према истим подацима, у Републици Србији карцином простате је пети водећи узрок смрти од карцинома у општој популацији (4,8%), и трећи водећи узрок смрти од карцинома у мушкој популацији (8,6%). Такође, приметан је тренд раста новодијагностикованих случајева карцинома простате у Републици Србији, од 662 у 1999. години, 1.673 у 2009. години, до 2.320 у 2018. години (7).

а



- | | | |
|-------------------|-------------------|------------------|
| ■ плућа | ■ простата | ■ остало |
| ■ дојка | ■ колоректум | ■ желудац |
| ■ јетра | ■ једњак | ■ грлић материце |
| ■ штитаста жлезда | ■ мокраћна бешика | |

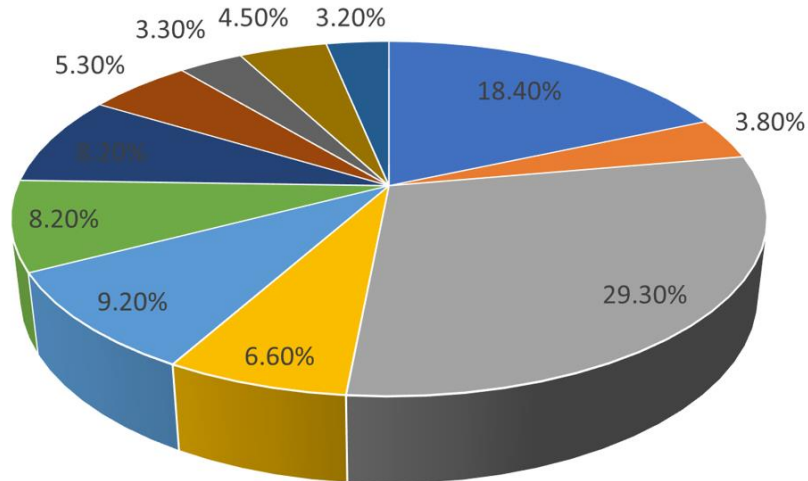
б



- | | | |
|-----------------------|-------------------|-----------|
| ■ плућа | ■ простата | ■ остало |
| ■ Non- Hodgkin лимфом | ■ колоректум | ■ желудац |
| ■ јетра | ■ једњак | ■ бубрези |
| ■ леукемија | ■ мокраћна бешика | |

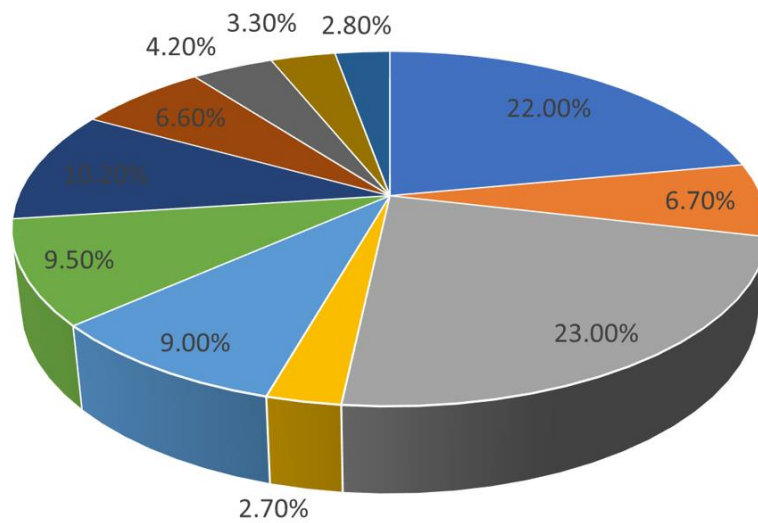
Графикон 1. Водеће локализације у оболевању од малигнух тумора у светској популацији, код оба пола (а) и код мушког пола (б), 2018. година (3)

а



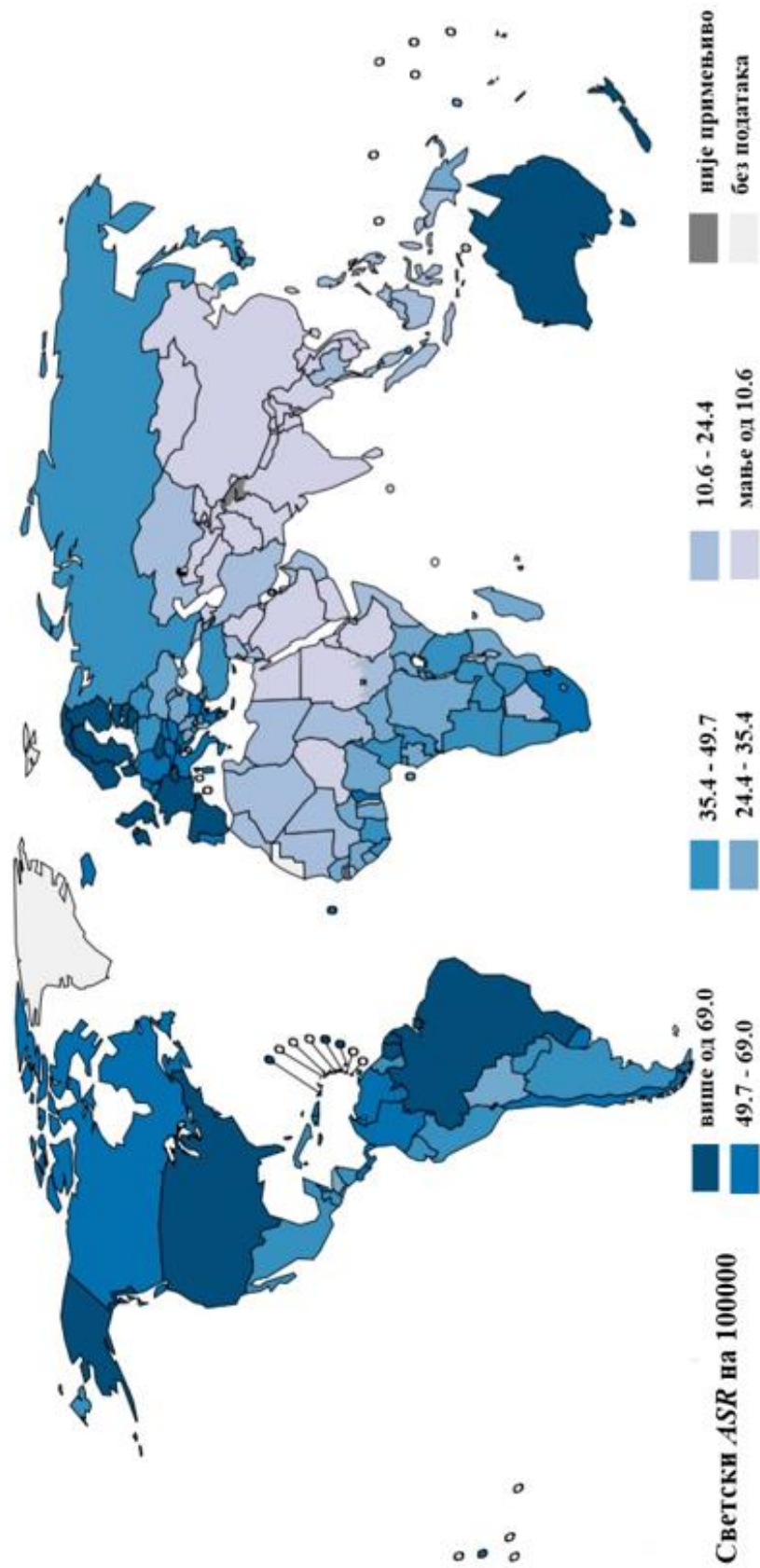
- плућа
- простата
- остало
- дојка
- колоректум
- желудац
- јетра
- једњак
- грлић материце
- панкреас
- леукемија

б

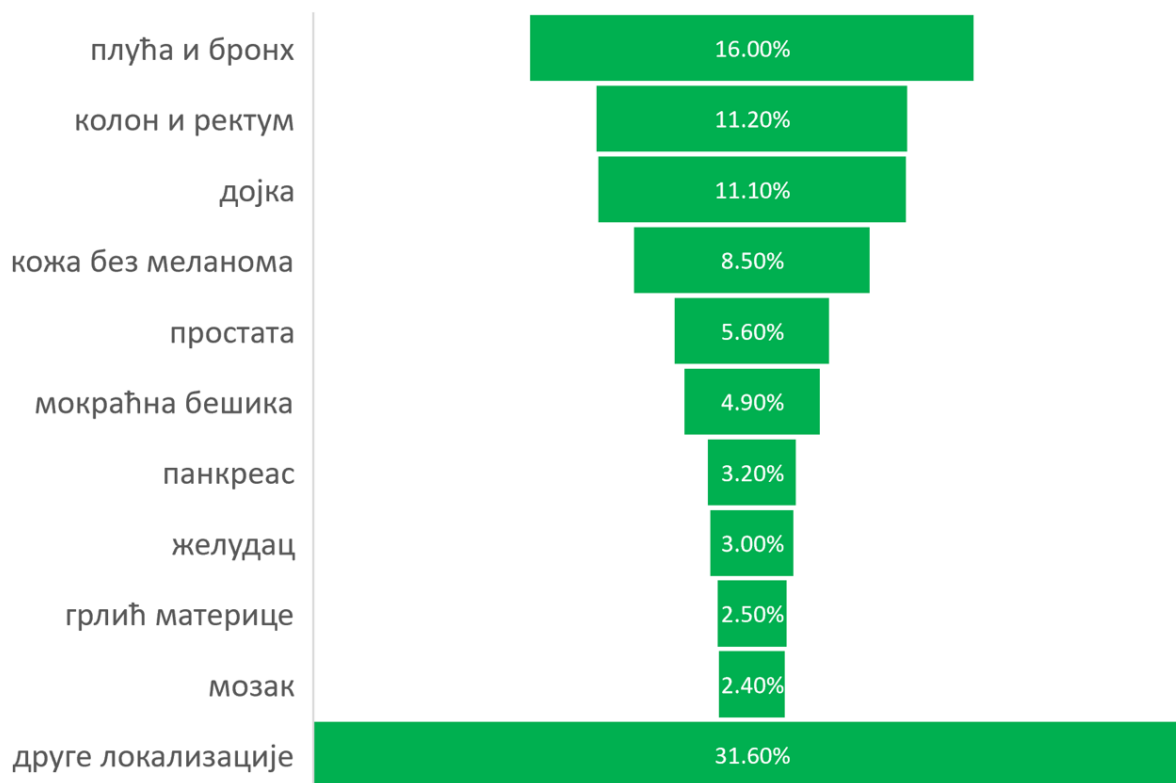


- плућа
- простата
- остало
- Non- Hodgkin лимфом
- колоректум
- желудац
- јетра
- једњак
- панкреас
- леукемија
- мокраћна бешика

Графикон 2. Водеће локализације у умирању од малигних тумора у светској популацији, код оба пола (а) и код мушког пола (б), 2018. година (3)



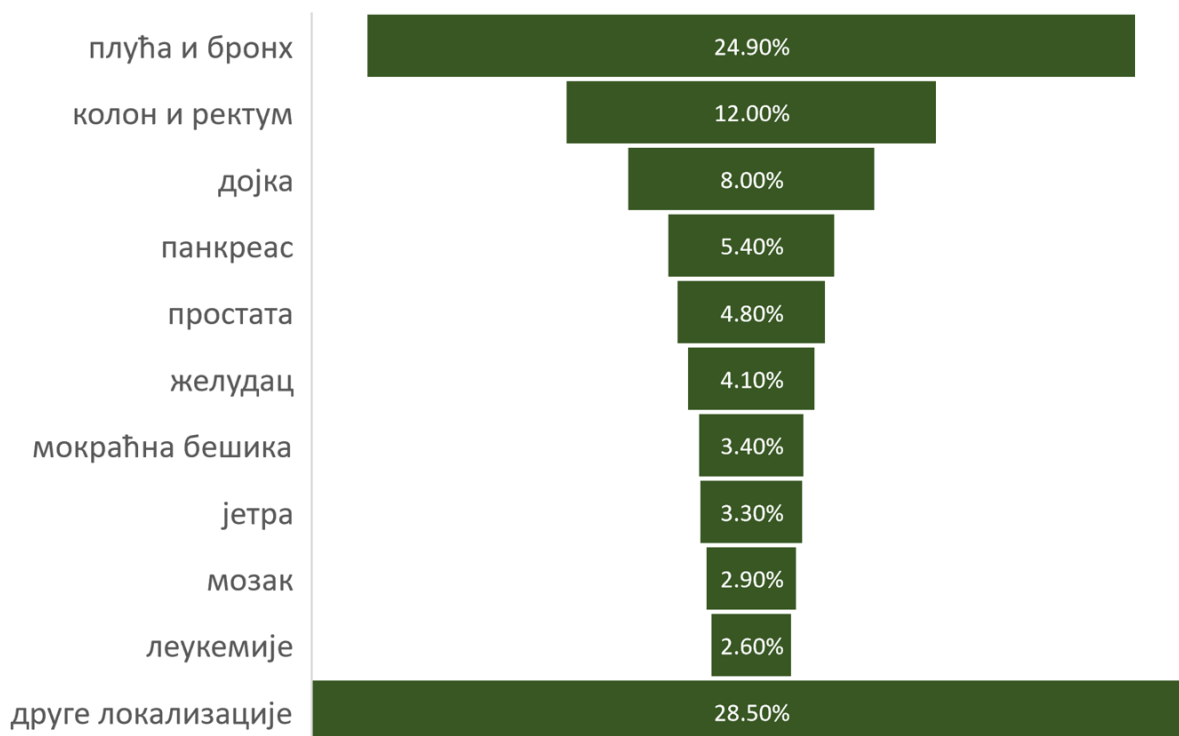
Слика 1. Age- standardized incidence rate (ASR) за карцином простате, подаци за цео свет, 2018. година (3)



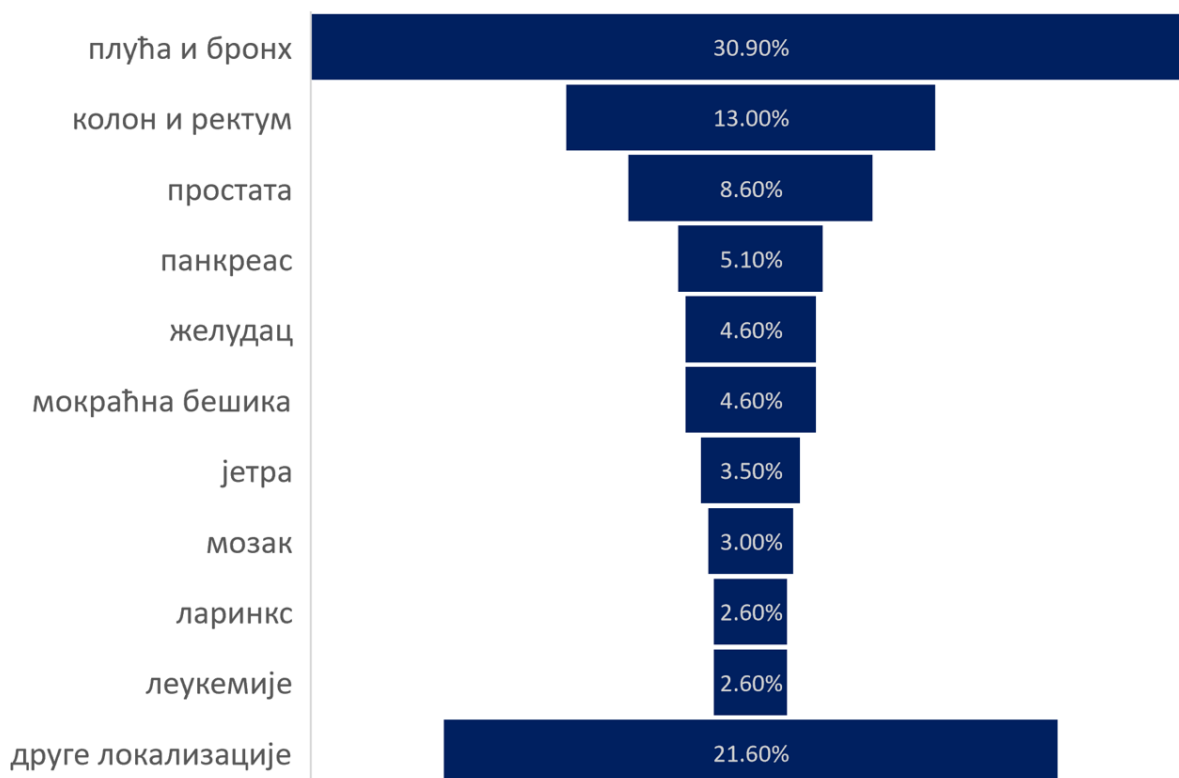
Графикон 3. Водеће локализације у оболевању од малигнух тумора код оба пола, Република Србија, 2018. година (7)



Графикон 4. Водеће локализације у оболевању од малигнух тумора код мушког пола, Република Србија, 2018. година (7)



Графикон 5. Водеће локализације у умирању од малигнух тумора код оба пола, Република Србија, 2018. година (7)



Графикон 6. Водеће локализације у умирању од малигнух тумора код мушког пола, Република Србија, 2018. година (7)

1.1.2. Етиологија и фактори ризика за карцином простате

Етиологија карцинома простате је предмет бројних истраживања, и поред тога је углавном непозната у поређењу са другим најчешћим карциномима (1). Познати и чврсто установљени фактори ризика за настанак карцинома простате су године старости, расна припадност и генетички (наследни) фактори (8).

Карцином простате доминантно погађа старију популацију, код особа испод 50 година живота је изузетно редак, а бројне епидемиолошке студије потврђују да са старашћу прогресивно расте његова инциденца као клинички манифестне болести (9, 10). Просечна старост у тренутку дијагностиковања болести је скоро 66 година (6). Ипак, испитивања на обдукционом материјалу и на узорцима ткива простате здравих мушкараца млађе животне доби (до 40 година старости) показала су често присуство микроскопских фокуса карцинома у ткиву простате, што потврђује хипотезу да је настанак карцинома простате дуготрајан процес и да малигна трансформација ткива простате започиње у ранијем животном добу (11). Са старењем проценат карцинома простате линеарно расте, па се у осмој деценији овакав налаз може наћи код око 75% мушкараца (12).

Преваленца карцинома простате значајно варира међу припадницима различитих раса. Епидемиолошке студије су показале да од карцинома простате најчешће оболевају Афроамериканци, а најређе Азијати, при чему се код Афроамериканаца чешће јавља агресивнији облик болести, што се може повезати са генетичким и биолошким разликама (13). Међутим, доказано је да је инциденца патохистолошки доказаног карцинома простате, без клиничких манифестација, слична у различитим деловима света, док инциденца клинички манифестне болести значајно варира међу различитим географским подручјима, при чему се мења миграцијом становништва из подручја ниске у подручја са високом инциденцом (14), што говори у прилог утицаја фактора животне средине. Антрополошка теорија тврди да између раса постоје само суптилне биолошке разлике, а да се сама расна подела заснива највећим делом на културолошким, обичајним и социјалним разликама (15). Дакле, може се закључити да је разлика у преваленци карцинома простате међу расама мултифакторијелног порекла и не може се објаснити само генетичким и биолошким разликама.

Процењује се да око 20% пацијената са карциномом простате има позитивну породичну историју, која може бити последица не само заједничких гена, већ и сличне изложености одређеним канцерогенима из околине и наслеђених животних навика (16). Неколико студија је показало да је наследна генетичка позадина повезана са повећаним ризиком од карцинома простате, и да доприноси око 5% повећању ризика од појаве болести (17, 18). Вероватноћа да ће се болест развити код наредне генерације се повећава са степеном сродности, бројем оболелих чланова породице и животном доби када се болест клинички манифестовала (19). Резултати студија показују да се наследни карциноми простате јављају 6-7 година раније у односу на карциноме код којих не постоји наследна предиспозиција, док по питању њихове агресивности и дужине преживљавања није утврђена значајна разлика (20). Бројне студије су показале да седам различитих гена има утицај на развој карцинома простате: *HPC1*, *HPC2*, *MSR1*, *MIC1*, *PON1*, *OGG*, *CHECK*, *BRCA2*, а у току су истраживања која још неке генске локусе повезују са карциномом простате (1).

Међу осталим факторима ризика који се повезују са настанком карцинома простате издвајају се навике у исхрани (повећан унос засићених животињских масти и

црвеног меса, мањи унос воћа, поврћа, витамина и кафе), а као могући фактори ризика се наводе и гојазност, професионална изложеност хемијским агенсима и јонизујућем зрачењу, физичка и сексуална неактивност, полно преносиве болести, пушење и умерено конзумирање жестоких алкохолних пића (1).

1.1.3. Класификација карцинома простате

У свакодневној клиничко-уролошкој пракси данас је најчешће коришћена класификација за одређивање клиничког стадијума болести *AJCC TNM* систем (enl. *American Joint Committee on Cancer, AJCC*), који се заснива на процени локалне захваћености простате тумором (*T- tumour*), нодалном статусу (*N- node*) и постојању удаљених метастаза (*M- metastasis*). Од 2018. године у употреби је VIII ревизија *AJCC TNM* класификације (Табела 1а, б, ц) (21).

За процену степена малигнитета (enl. *grading*) карцинома простате од 1974. године се користи концепт *Gleason*-а и сарадника који је временом еволуирао на основу заједничког искуства патолога широм света. *Gleason* скор (*Gleason grading system, GS*) представља систем градирања карцинома простате на основу његовог микроскопског-патохистолошког изгледа на малом увећању микроскопа (10-40x), односно на основу анализе поремећаја жлездане архитектуре, тј. степена диференцијације жлезда и начина њиховог раста у односу на строму. Основу овог система представља пет хистолошких слика или *Gleason* градуса (Слика 2). Патохистолошка слика која доминира назива се примарна структура и оцењује се са градусом од 1 до 5. Мање заступљена структура се дефинише као секундарна структура и такође се оцењује са 1 до 5. *Gleason* скор представља збир првог и другог доминантног патохистолошког градуса. Вредности *Gleason* скорa су у распону од 2-10, при чему више вредности представљају индикатор агресивности тумора и лошије прогнозе.

На основу *Gleason* скорa пацијенти се према консензусу Међународног удружења уролошких патолога (enl. *International Society of Urological Pathology, ISUP*) могу поделити у пет градусних група (22):

1. *ISUP 1* градус- *Gleason* скор ≤ 6 ,
2. *ISUP 2* градус- *Gleason* скор 7 (3+4),
3. *ISUP 3* градус- *Gleason* скор 7 (4+3),
4. *ISUP 4* градус- *Gleason* скор 8,
5. *ISUP 5* градус- *Gleason* скор 9-10.

На основу *TNM* класификације, концентрације простата специфичног антигена (*PSA*) и градусне групе (*Gleason* скор) пацијенти са карциномом простате су груписани у четири прогностичке групе (*American Joint Committee on Cancer, AJCC*) (Табела 2).

Табела 1а. *TNM* класификација карцинома простате (VIII ревизија), 2018. година- *T* (*Tumour*)

<i>cT</i>	Клинички стадијум примарног тумора
<i>Tx</i>	Примарни тумор се не може проценити
<i>T0</i>	Не постоји доказ за постојање примарног тумора
<i>T1</i>	Клинички невидљив тумор који није палпабилан
<i>T1a</i>	Случајан хистолошки налаз тумора у 5% или мање ресецираног ткива
<i>T1b</i>	Случајан хистолошки налаз тумора у више од 5% ресецираног ткива
<i>T1c</i>	Тумор идентификован игленом биопсијом, пронађен на једној или обе стране, али није палпабилан
<i>T2</i>	Тумор је палпабилан и ограничен унутар простате
<i>T2a</i>	Тумор захвата половину једне стране простате или мање
<i>T2b</i>	Тумор захвата више од половине једне стране простате, али не и обе стране
<i>T2c</i>	Тумор захвата обе стране простате
<i>T3</i>	Екстрапростатични тумор који није фиксиран или не продире у суседне структуре
<i>T3a</i>	Екстракапсуларно ширење (унилатерално или билатерално)
<i>T3b</i>	Тумор врши инвазију семиналних везикула
<i>T4</i>	Тумор је фиксиран или захвата суседне структуре осим семенских везикула, као што су спољашњи сфинктер, ректум, бешика, <i>m. levator ani</i> и/или карлични зид
<i>pT</i>	Патолошки стадијум примарног тумора
<i>T2</i>	Тумор је ограничен унутар простате
<i>T3</i>	Екстрапростатично ширење тумора
<i>T3a</i>	Екстракапсуларно, унилатерално или билатерално, ширење или микроскопска инвазија врата мокраћне бешике
<i>T3b</i>	Тумор врши инвазију семиналних везикула
<i>T4</i>	Тумор је фиксиран или захвата суседне структуре осим семенских везикула, као што су спољашњи сфинктер, ректум, бешика, <i>m. levator ani</i> и/или карлични зид

Табела 16. *TNM* класификација карцинома простате (VIII ревизија), 2018. година- *N* (*Node*)

<i>N</i>	Лимфни нодуси
<i>Nx</i>	Регионални лимфни нодуси се не могу проценити
<i>N0</i>	Без позитивних регионалних лимфних нодуса (испод нивоа бифуркације заједничких илијачних артерија)
<i>N1</i>	Метастазе у регионалним лимфним нодусима

Табела 1ц. *TNM* класификација карцинома простате (VIII ревизија), 2018. година- *M* (*Metastasis*)

<i>M</i>	Удаљене метастазе
<i>M0</i>	Без удаљених метастаза
<i>M1</i>	Удаљене метастазе
<i>M1a</i>	Не- регионални (удаљени) лимфни нодуси- нодус дуж заједничких илијачних артерија се сматра <i>M1a</i> , а не <i>N1</i>
<i>M1b</i>	Метастазе у костима
<i>M1c</i>	Друга места са или без захватања костију

1.2. Дијагностика карцинома простате

1.2.1. Дигито-ректални преглед

Карцином простате је најчешће локализован у периферној зони где је палпаторно лако доступан приликом дигито-ректалног прегледа (engl. *digito-rectal examination, DRE*). Пре открића *PSA*, *DRE* је био једини начин да се постави сумња на карцином простате (23). Могу се палпирати нодуси чији је волумен већи од 0,2 mL. Сензитивност *DRE* као самосталне дијагностичке процедуре је 18%, а у комбинацији са *PSA* се повећава до 30% (24, 25). Позитиван налаз *DRE* корелира са вишим *Gleason* скором (26). Међутим, у данашње време, са масовном употребом *PSA* као биохемијског маркера, већина карцинома простате се презентује као непалпабилни карцином, и као такав је присутан код 60-75% *de novo* дијагностикованих случајева (27, 28). И поред смањеног дијагностичког значаја, *DRE* је и даље незаобилазан у свакодневној уролошкој пракси.



Слика 2. Gleason градуси

(Слика преузета са URL: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=440437>)

1.2.2. Лабораторијска дијагностика

1.2.2.1. Простата специфични антиген (PSA)

PSA је гликопротеин који по својој биолошкој функцији припада класи ензима-серинских протеаза (каликреин пептидаза 3- *hK3*). Секретују га ћелије простате и представља примарни протеин семене течности (Слика 3) (29). Код здравих мушкараца, концентрације *PSA* у крви варирају у зависности од година старости, расе и волумена простате. Физиолошки, главна улога *PSA* је ликвефакција семеног коагулума протеолитичким дејством на протеине који су задужени за формирање гела у сперми (семеногелин и фибронектин), одмах након ејакулације, чиме се омогућава боља покретљивост сперматозоида у семеној течности, а претпоставља се да има и значајну улогу у растварању слузи грлића материце, што значајно утиче на фертилитет. Код здравих мушкараца, нормална жлездана архитектура ограничава *PSA* унутар простате и само минимална количина *PSA* прелази у циркулацију. Његов пораст у циркулацији је последица поремећене жлездане архитектуре, оштећења базалних мембрана жлезда и повећане васкуларизације ткива простате, тако да није искључиво условљен повећаном активношћу секреторних ћелија (30). Напротив, студије су показале да је на ћелијском нивоу експресија *PSA* слична у бенигим и малигним ћелијама простате (31).

Представља орган специфичан туморски маркер који је високо сензитиван, али ниже специфичности за карцином простате (повишен и код бенигне хиперплазије простате, простатитиса, након манипулација на простати) (29).

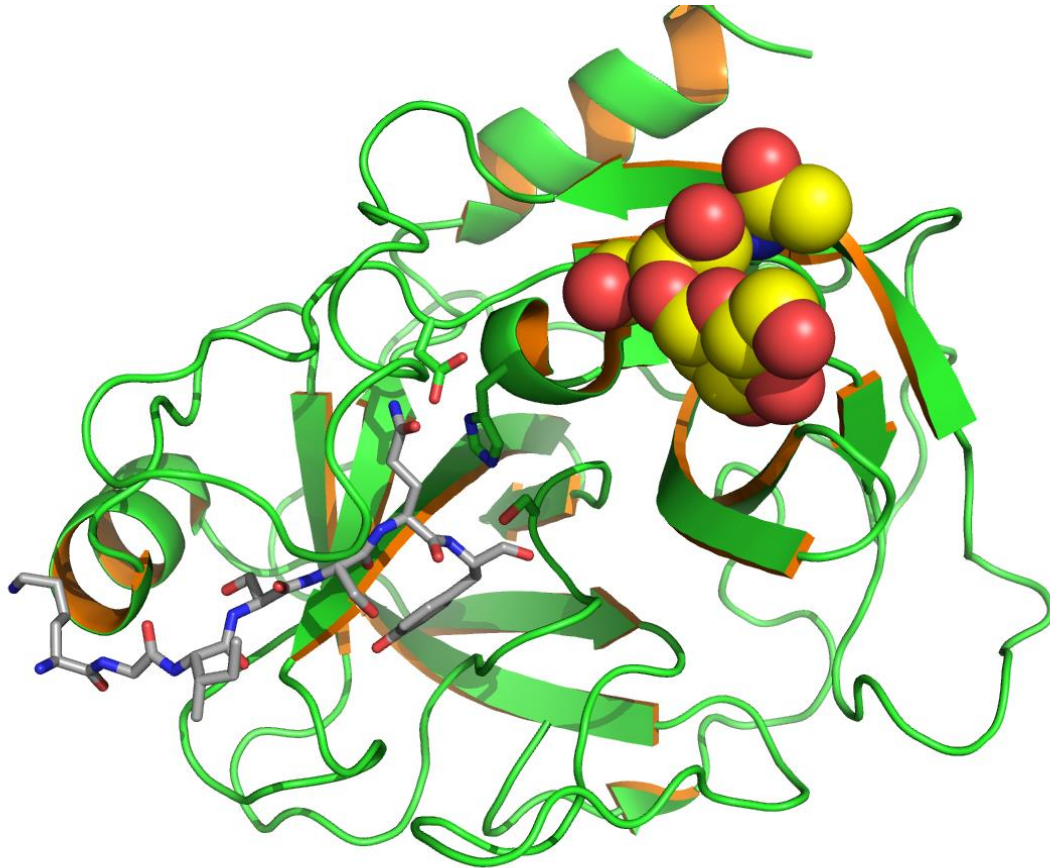
Табела 2. *AJCC* прогностичке групе карцинома простате (VIII ревизија), 2017. година

<i>AJCC</i> прогностичке групе	<i>T</i>	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>PSA</i>	градусне групе
I	<i>cT1a-c, cT2a</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	< 10	1
	<i>pT2</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	< 10	1
IIa	<i>cT1a-c, cT2a</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	≥ 10 < 20	1
	<i>cT2b-c</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	< 20	1
IIb	<i>T1-2</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	< 20	2
IIc	<i>T1-2</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	< 20	3
	<i>T1-2</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	< 20	4
IIIa	<i>T1-2</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	≥ 20	1-4
IIIb	<i>T3-4</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	било који	1-4
IIIc	било који <i>T</i>	<i>N0</i>	<i>M0</i>	било који	5
IVa	било који <i>T</i>	<i>N1</i>	<i>M0</i>	било који	било која
IVb	било који <i>T</i>	било који	<i>M1</i>	било који	било која

1.2.2.2. Однос слободног према тоталном *PSA* (*f/tPSA*)

PSA је у серуму заступљен у више молекулских форми, тј. изоформи. Већи део (60-95%) *PSA* у серуму је комплексни *PSA* (engl. *complexedPSA*, *cPSA*), који је везан за серумске протеине. Мањи део (5-40%) се налази у невезаној форми, као слободни *PSA* (engl. *freePSA*, *fPSA*). Молекули *fPSA* не показују протеолитичку активност и вероватно су инактивисани у епителним ћелијама простате, пре отпуштања у циркулацију (32). Код мушкараца са карциномом простате, *PSA* који продукују туморске ћелије је чешће у форми комплексног *PSA* (*cPSA*), тако да долази до повећања концентрације *PSA* као комплексне форме (*cPSA*) и последичног смањења концентрације слободне форме *PSA* (*fPSA*) (33). Дакле, пацијенти са карциномом простате имају нижи ниво *fPSA* у серуму, а самим тим и нижи однос слободног и укупног *PSA* (engl. *free/totalPSA*, *f/tPSA*). Студије су показале да је ризик од карцинома простате висок (55%) када су вредности *f/tPSA* биле од 0-10%, као и да ризик опада са порастом вредности *f/tPSA*, тако да при

вредностима *f/tPSA* преко 25% ризик од карцинома простате износи 5-9%. Вредност *f/tPSA* од 25% открива 95% карцинома простате и елиминише 20% непотребних биопсија (34). У циљу повећања специфичности *PSA* у детекцији карцинома простате Америчка агенција за храну и лекове (engl. *Food and Drug Administration, FDA*) је 1998. године одобрила употребу *f/tPSA* као биохемијског маркера код мушкараца са нивоом *PSA* од 4-10 *ng/mL* и негативним налазом на *DRE* (35).



Слика 3. Структура молекула *PSA*

(Слика преузета са URL: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=16615656>)

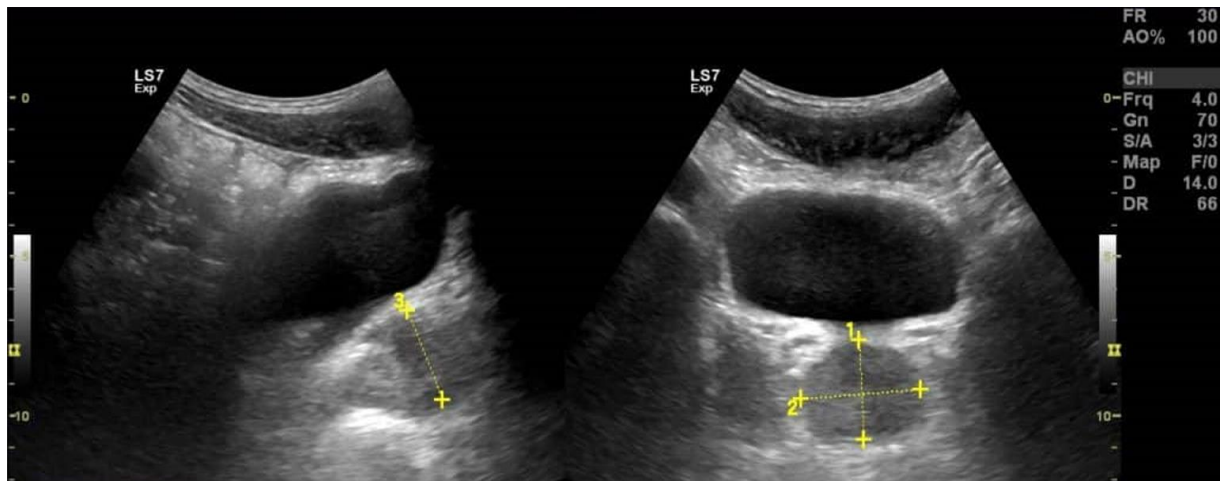
1.2.3. Радиолошка дијагностика

1.2.3.1. Ултразвучна дијагностика

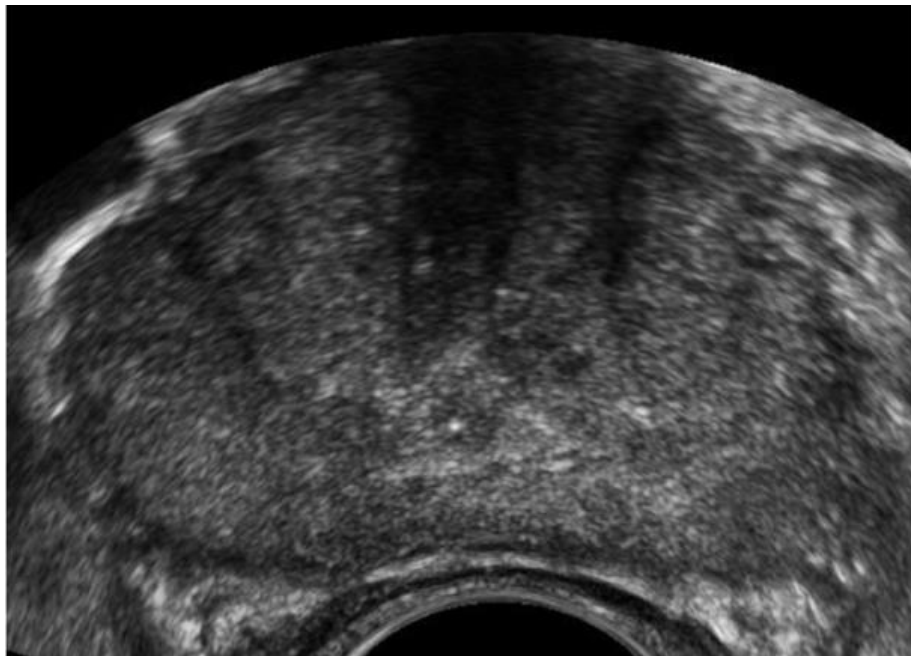
Ултразвучна дијагностика је широко примењивана радиолошка метода у дијагностици болести простате. Преглед простате се обавља у склопу ултразвучног прегледа абдомена и мале карлице, конвексном ултразвучном сондом фреквенце 2-5 *MHz*. Техника прегледа, могућности приступа, као и резолуција слике не омогућавају детаљну анализу структуре простате. Зато се ултразвучни преглед простате своди на одређивање димензија жлезде, процену њеног облика и симетрије, опис њених граница и одређивање запремине резидуалног урина након микције (Слика 4). Трансабдоминалним прегледом не треба процењивати ехогеност простате, ни потенцијалне патолошке промене у њеном паренхиму. У случају постојања сумње на постојање патолошких промена у простати неопходно је пацијенту препоручити трансректалну ултразвучну дијагностику и преглед уролога (36).

1.2.3.2. Трансректална ултразвучна дијагностика

Трансректална ултрасонографија (engl. *Transrectal Ultrasound, TRUS*) представља стандардну дијагностичку методу у свакодневној уролошкој пракси. За преглед се користе високофреквентне, микроконвексне сонде које омогућавају бољу резолуцију слике, као и бољи (трансректални) приступ самој жлезди. *TRUS* је нашао широку примену у свим фазама дијагностике карцинома простате, а изводи се у циљу детекције лезија суспектних на неопластичну пролиферацију, ултразвучно вођене, циљане биопсије лезија у простати и процене локалне проширености болести (37). Поред информација које се добијају трансабдоминалним ултразвуком (димензије жлезде, процена њеног облика и симетрије, опис њених граница), *TRUS* омогућава процену ехоструктуре простате. Класичан приказ карцинома простате на конвенционалној сивој скали *TRUS*-а је у форми хипоехогеног нодуса (38). Међутим, студије су показале да се 39% карцинома простате презентује као изоехогене, а 1% као хиперехогене лезије (39). Ово посебно долази до изражаја у ери масовне примене *PSA*, пошто се због ниских „*cut-off*“ вредности *PSA* карцином простате детектује у раним стадијумима, када је чешће ултразвучно изоехогене структуре и не може се детектовати на сивој скали *TRUS*-а (38). Такође, и друге патолошке промене на простати се могу презентовати као хипоехогене лезије, као што су грануломатозни простатитис, инфаркт простате и лимфом (40, 41, 42). Зато се сива скала *TRUS*-а није показала као поуздана метода у дијагностици карцинома простате, и његова главна улога је и даље ултразвучно вођење биопсија простате (38). Новији ултразвучни модалитети као што су *real-time* соноеластографија, трансректални *color Doppler*, трансректални *contrast-enhanced color Doppler*, *contrast-specific TRUS* значајно повећавају могућности ултразвучне дијагностике карцинома простате, али се још увек не користе у рутинској дијагностици (38, 43, 44).



Слика 4. Ултразвучни преглед простате у лонгитудиналном пресеку (слика лево), и у трансверзалном пресеку (слика десно)- нормалан налаз (из личне архиве)

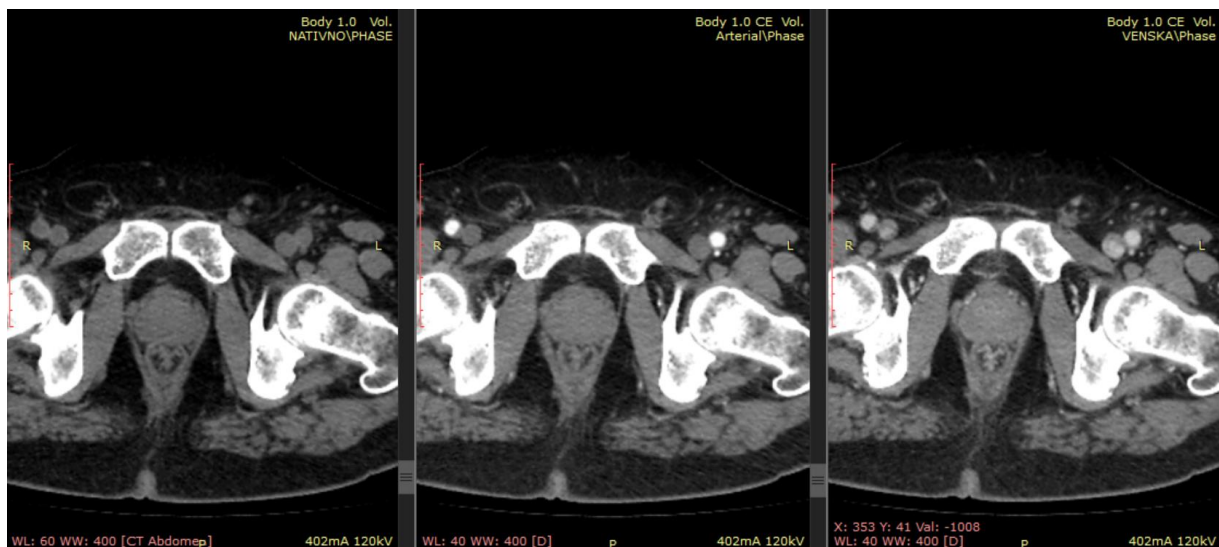


Слика 5. Трансректална ултрасонографија простате (Слика преузета са URL: https://www.exeley.com/journal_of_ultrasonography/doi/10.15557/JoU.2017.0007)

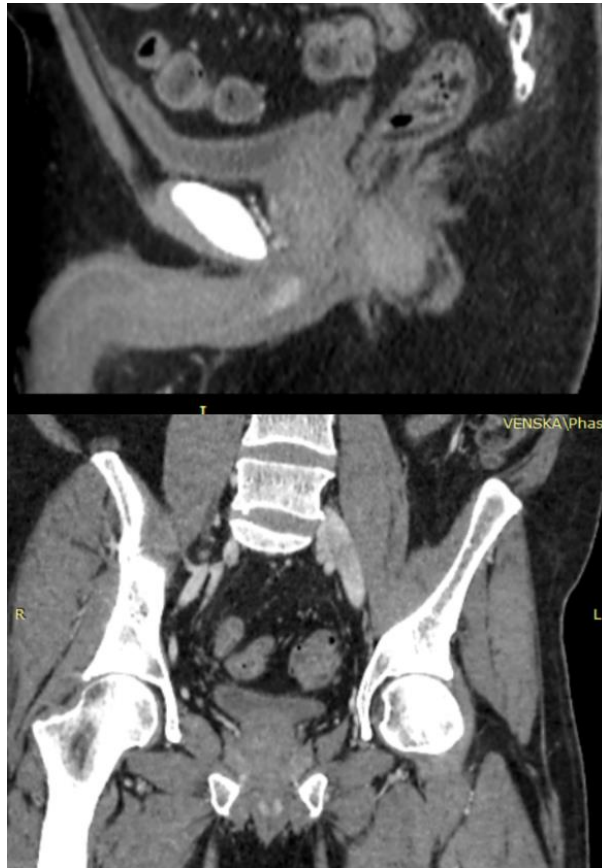
1.2.3.3. Мултидетекторска компјутеризована томографија

Компјутеризована томографија (enl. *Computed Tomography, CT*) абдомена и мале карлице се уобичајено користи у процесу стејџинга (enl. *staging*) код мушкараца са новодијагностикованим карциномом простате (Слика 6, 7). Међутим, постоје бројне, а понекад и супротстављене, препоруке објављене у вези са употребом овог дијагностичког модалитета које резултирају значајним варијацијама у примени *CT*-а у стејџингу карцинома простате међу уролозима. Као резултат тога, неки пацијенти који би требало да буду снимљени нису, док други могу бити подвргнути непотребном снимању (45). Према препорукама Европског удружења уролога (enl. *European*

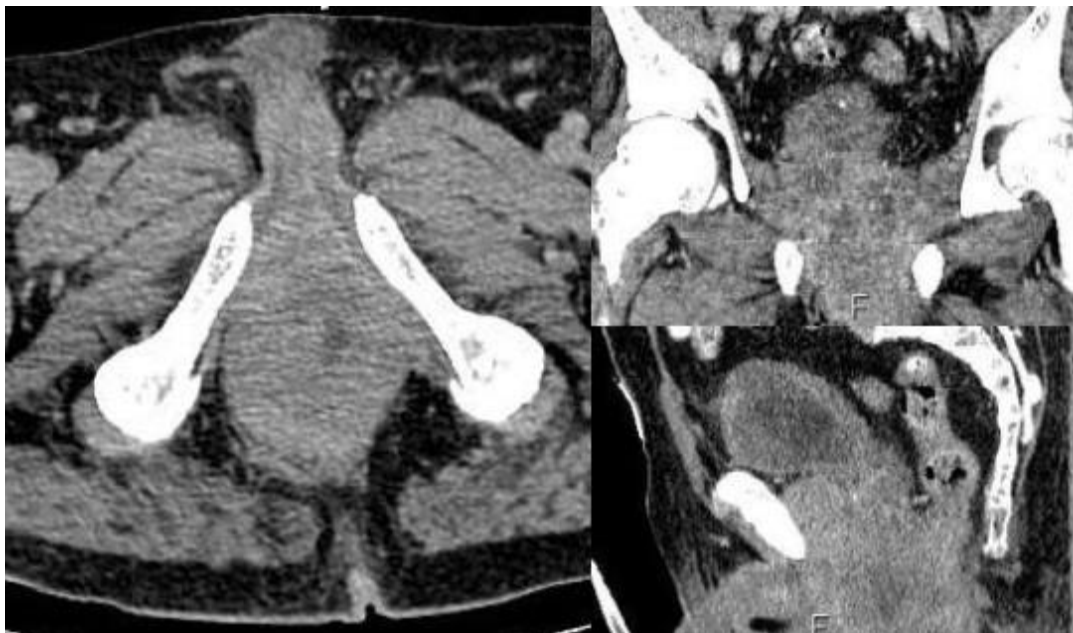
Association of Urology, EAU) *CT* преглед је индикован код асимптоматских пацијената са вредностима *PSA* > 10 ng/mL, или *GS* ≥ 8, или клиничким *T*-стадијумом ≥ *T3* (46). На основу Водича добре праксе Америчке асоцијације уролога (engl. *American Urological Association, AUA*) *CT* преглед се препоручује код асимптоматских пацијената са *GS* ≥ 8, или *PSA* > 20 ng/mL, или код локално узнапредовале болести (Слика 8) (47, 48, 49). Примарна улога *CT* прегледа код пацијената са карциномом простате је у процени нодалног статуса (*N*-staging, *TNM*) употребом дијаметра и морфологије лимфних чворова (Слика 9). Уобичајено је да се лимфни чворови у малој карлици који су краћег дијаметра > 8 mm и лимфни чворови у осталим регијама који су краћег дијаметра > 10 mm, разматрају као малигно измењени. Смањивањем прага ових дијаметара повећала би се сензитивност, али би се смањила специфичност (50). Резултати студија наводе да је сензитивност *CT*-а у детекцији малигно измењених лимфних чворова мања од 40% (51, 52), али постоје и студије које наводе значајно мању сензитивност од само 8,8% (53). Подаци из литературе о детекцији микроскопске инвазије лимфних чворова говоре о сензитивности *CT*-а < 1% (54, 55, 56). Што се тиче детекције удаљених метастаза (*M*-staging, *TNM*), поготово метастаза на костима као најчешћег места за метастазирање карцинома простате, подаци из студија говоре у прилог да би *CT* абдомена и мале карлице требало заменити неким од сензитивнијих дијагностичких модалитета (*fluoride PET/CT*, *choline PET/CT*, *PSMA PET/CT*) поготово у иницијалном стејднгу код пацијената са високо ризичним (*high-risk*) карциномом простате (57).



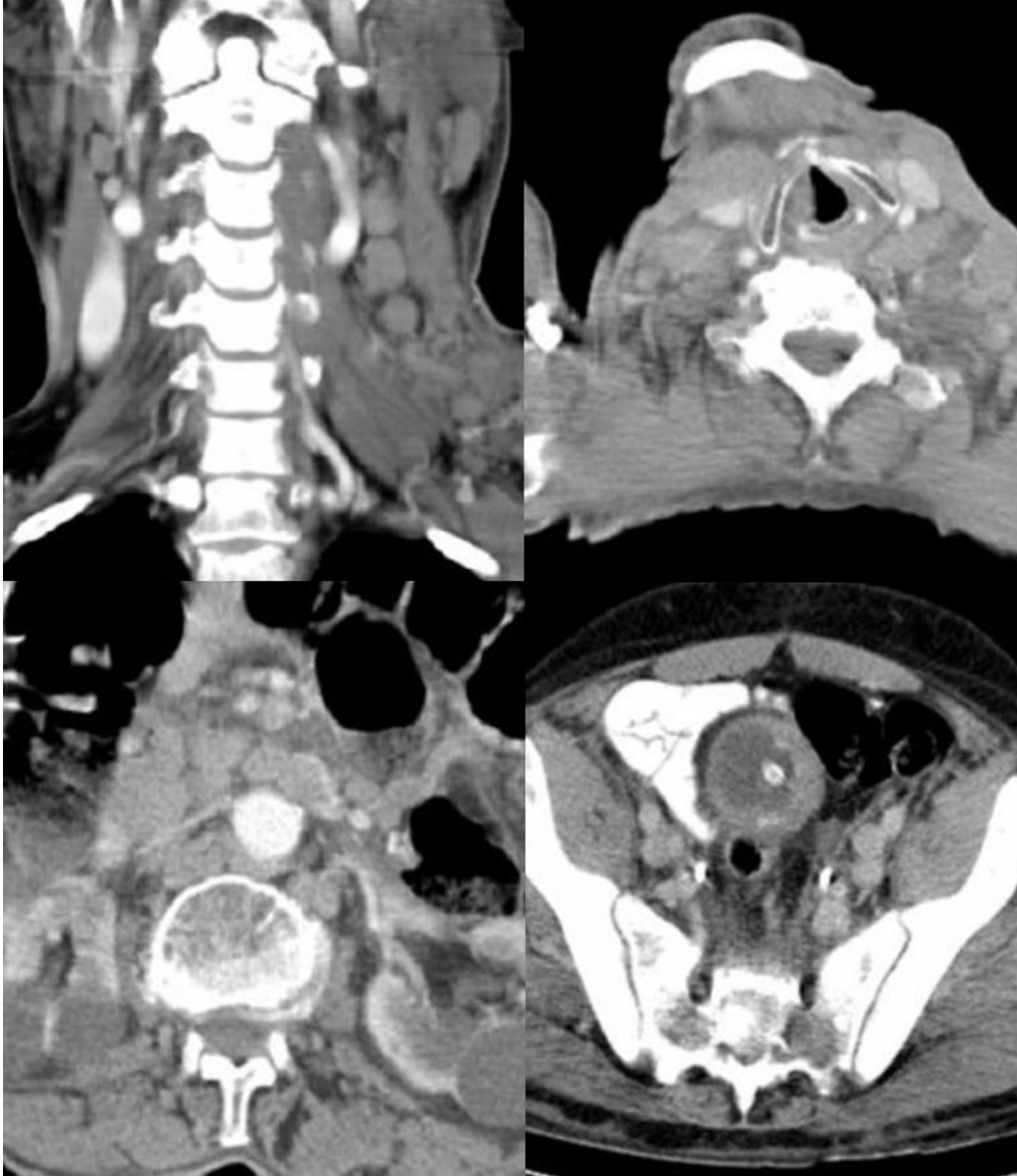
Слика 6. *CT* простате у аксијалној равни, у нативној, артеријској и венској фази- нормалан налаз (из личне архиве)



Слика 7. *СТ* преглед мале карлице и простате у сагиталној равни (горња слика) и короналној равни (доња слика), у венској фази- нормалан налаз (из личне архиве)



Слика 8. *СТ* мале карлице у три равни, у венској фази- локално узрапредовали карцином простате (Слика преузета са URL: <https://radiopaedia.org/cases/locally-invasive-prostate-adenocarcinoma?lang=us>)



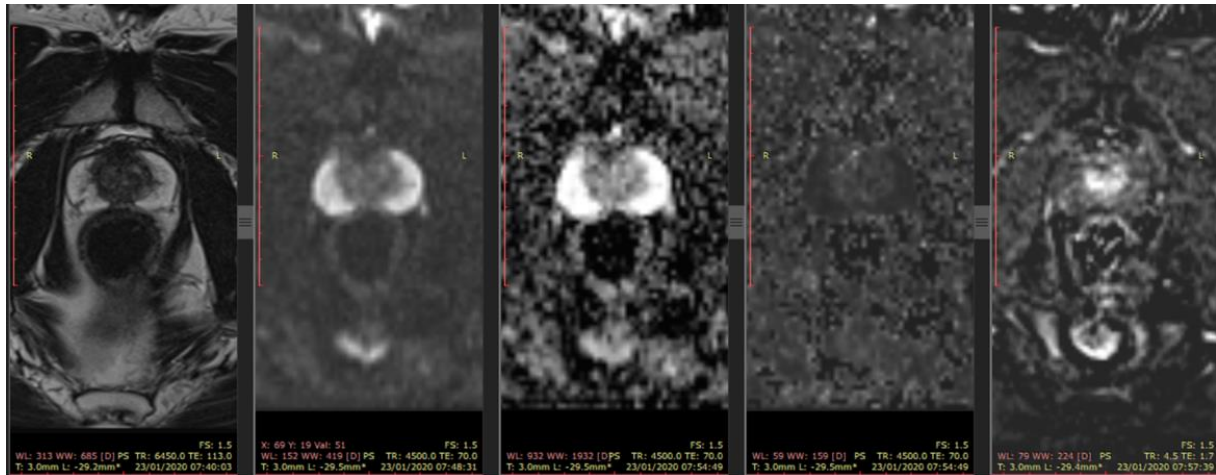
Слика 9. CT преглед врата, грудног коша, абдомена и мале карлице- метастазе карцинома простате у лимфне чворове леве половине врата (горе лево), паратрахеалне, субкаринеалне, супраклавикуларне лимфне чворова (горе десно), ретроперитонеалне лимфне чворове (доле лево) и лимфне чворове мале карлице (доле десно) (Слика преузета са URL:

https://www.researchgate.net/publication/273458221_Prostate_Cancer_Metastatic_to_the_Cervical_Lymph_Nodes)

1.2.3.4. Магнетна резонанца

Магнетна резонанца (engl. *Magnetic Resonance Imaging, MRI*) простате уведена је у клиничку примену 1982. године са апаратом јачине магнетног поља од свега 0,08 *T* (*Tesla*). Од тада, *MRI* је хардверски и софтверски значајно напредовала, тако да већина радиолога данас сматра да је јачина поља $\geq 1,5 T$ неопходна за преглед простате (58). Преглед се ради по посебном протоколу (*multiparametric MRI, mpMRI*) који је прилагођен простати и састоји се од морфолошке *T2W* (*T2-Weighted*) секвенце високе

резолюције (*high-resolution*) и најмање две функционалне *MRI* секвенце, *DWI* (*Diffusion-Weighted Imaging*) са *ADC* (*Apparent Diffusion Coefficient*) мапом и *DCE* (*Dynamic intravenous Contrast-Enhanced imaging*). Ређе се користи *MRSI* (*Magnetic Resonance Spectroscopy Imaging*) (Слика 10) (59, 60).



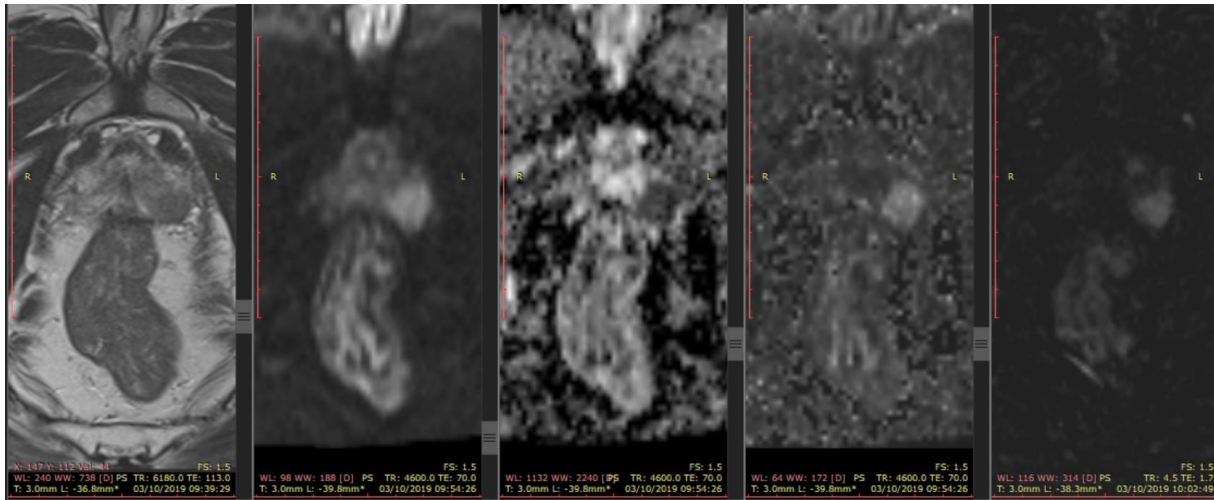
Слика 10. *mpMRI* простате- изглед нормалне жлезде у различитим секвенцама (из личне архиве)

У циљу стандардизације *mpMRI* прегледа простате и радиолошких извештаја, Међународна радна група за *MRI* простате (*The International Prostate MRI Working Group*) осмислила је *PI-RADS* (*Prostate imaging reporting and data system*) чија је употреба почела 2016. године, а од 2019. године се употребљава унапређена верзија *PI-RADS v2.1* (61). *PI-RADS* систем се користи за карактеризацију и процену свих фокалних промена у простати које су на основу њихових *MRI* карактеристика сврстане у пет категорија. *PI-RADS* категорија одређује вероватноћу постојања клинички значајног карцинома простате ($GS \geq 7$):

1. *PI-RADS 1*- веома мала вероватноћа за постојање клинички значајног карцинома простате
2. *PI-RADS 2*- мала вероватноћа за постојање клинички значајног карцинома простате
3. *PI-RADS 3*- не може се искључити постојање клинички значајног карцинома простате (умерена вероватноћа)
4. *PI-RADS 4*- велика вероватноћа за постојање клинички значајног карцинома простате
5. *PI-RADS 5*- веома велика вероватноћа за постојање клинички значајног карцинома простате

Досадашње студије наводе податке да је вероватноћа проналаска клинички значајног карцинома простате ($GS \geq 7$) код мушкараца са *PI-RADS* категоријама 3, 4 и 5, била 12-23%, 49-60% и 77-83%, респективно (Слика 11) (62, 63). Корелација са патохистолошким налазима наком радикалне простатектомије (engl. *radical prostatectomy*, *RP*) показује добру сензитивност *mpMRI* у детекцији и локализацији карцинома простате *ISUP* градус ≥ 2 , посебно када је дијаметар лезија већи од 10 mm

(64, 65). Међутим, сензитивност *mpMRI* за лезије *ISUP* градус 1 и запремине мање од 0,5 mL је мања од 30% (66).



Слика 11. *mpMRI* простате: са десне стране у периферној зони се уочава промена која се по својим *MRI* карактеристикама класификује као *PIRADS 5* (из личне архиве)

Такође, *MRI* индиректно учествује у процени нодалног статуса (*N*- staging, *TNM*) код пацијената са карциномом простате, при чему као и *CT* показује сензитивност мању од 40% (51, 52).

1.2.4. Биопсија простате

Постављање индикације за иницијалну биопсију простате базира се на нивоу *PSA* и других биомаркера, и/или суспектном налазу *DRE*, и/или позитивном или суспектном налазу на дијагностичким процедурама (*TRUS*, *mpMRI*). Приликом доношења одлуке о биопсији, узимају се у обзир и други фактори, као што су животна доб пацијента, опште здравствено стање, очекивана дужина преживљавања. Процењује се и евентуални постбиопсијски морбидитет и евентуалне терапијске опције које би потом уследиле. Наравно, треба се руководити и мотивацијом самог пацијента за извођење процедуре (67).

Прве биопсије простате су се изводиле као иглене аспирационе биопсије (engl. *fine-needle aspiration biopsy, FNAB*) трансперинеалним приступом уз помоћ игала од 16 *G* (*gauge*), што је обезбеђивало материјал за цитолошку анализу. Ова техника је еволуирала у трансректалну *FNAB* са закривљеним иглама и водичем на кажипрсту који се уводе у ректум, а увођење *TRUS*-а заменило је дигитално вођену биопсију простате (Слика 12). *FNAB* је данас замењена „*core*“ биопсијама којима се добија цилиндричан узорак ткива простате за патохистолошку анализу, при чему обе ове методе имају своје предности и недостатке (68). Примена секстантне *TRUS* вођене „*core*“ биопсије простате (укупно шест узорака- билатерално по један узорак из базе, средине и апекса простате) је значајно повећала детекцију карцинома простате (69).

У данашње време, ултразвучно (*ultrasound, US*) вођене биопсије простате представљају стандардну дијагностичку процедуру, при чему је сензитивност за

откривање карцинома простате упоредива између трансперинеалног и трансректалног приступа (70), али поједини докази упућују на смањен ризик од инфекција код трансперинеалног приступа (71, 72).



Слика 12. TRUS вођена биопсија простате (Слика преузета са URL: <https://poliklinika-kvarantan.hr/transrektalni-ultrazvuk-prostate-trus/>)

Примена секстантне биопсије простате више се не сматра адекватном. Препоручује се узимање најмање осам биопсијских узорака за простате запремине до 30 cm^3 (73), док се за простате веће запремине препоручује 10-12 узорака, при чему узимање више од 12 узорака није показало значајно већу сензитивност (74, 75). Трансперинеалном биопсијом се уз прихватљив постбиопсијски морбидитет може узети 18-24 узорка, али није познато да ли то повећава сензитивност за откривање карцинома простате (76, 77). *Jradi MA.* и сарадници наводе да иницијална „core“ биопсија са 20 узорака значајно побољшава сензитивност за откривање карцинома простате у поређењу са биопсијом са 12 узорака, посебно код пацијената са ниским вредностима *PSA* ($< 6 \text{ ng/mL}$) и пацијената са великом запремином простате ($> 60 \text{ cm}^3$) (Слика 13) (Табела 3) (78).

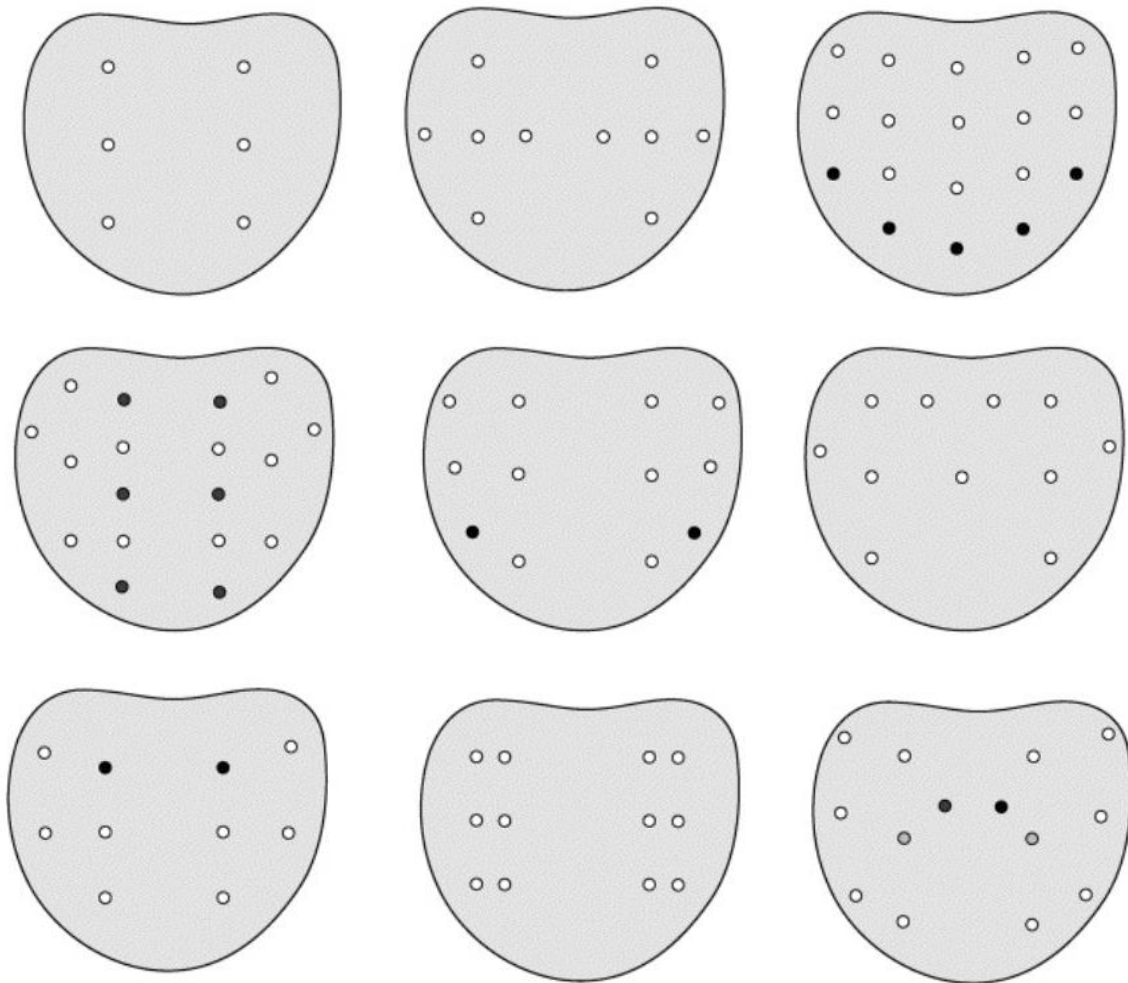
Уколико на иницијалној биопсији простате није откривен карцином, потребно је поновити биопсију након 3-6 месеци. Индикација за поновљену биопсију простате су:

- растуће или перзистентно повишене вредности *PSA* (Табела 3),
- суспектан налаз на *DRE*, ризик од карцинома простате 5-30% (25),
- солитаран налаз интрадукталног карцинома, ризик од удруженог високоградусног карцинома простате $> 90\%$ (79),
- позитиван налаз на *mpMRI*.

Препорука да се поновљена биопсија простате ради након дијагноза атипичне пролиферације малих ацинуса (engl. *Atypical Small Acinar Proliferation, ASAP*) и екстензивне високоградусне простатичне интраепителијалне неоплазије (engl. *High-*

Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia, HGPIN) заснована је на ранијим студијама о биопсијама простате са 6-10 узоракa. При савременим биопсијама простате, вероватноћа проналаска клинички значајног карцинома простате после поновљене биопсије након дијагнозе *ASAP* је само 6% (80).

Трећа и четврта поновљена биопсија простате су индиковане код строго селектованих пацијената код којих постоји оправдана сумња за постојање карцинома простате са лошим прогностичким факторима на првој и другој биопсији (81).



Слика 13. Шеме за биопсију простате према различитим ауторима (Слика преузета са URL: [https://www.eu-openscience.europanurology.com/article/S1569-9056\(02\)00054-4/fulltext](https://www.eu-openscience.europanurology.com/article/S1569-9056(02)00054-4/fulltext))

Табела 3. Ризик од карцинома простате идентификован систематским биопсијама у односу на ниске вредности *PSA* (Водич за карцином простате, Европско удружење уролога, *EAU*, 2022)

<i>PSA (ng/mL)</i>	Ризик од карцинома простате (%)	Ризик од карцинома простате <i>ISUP</i> ≥ 2 (%)
0,0-0,5	6,6	0,8
0,6-1,0	10,1	1,0
1,1-2,0	17,0	2,0
2,1-3,0	23,9	4,6
3,1-4,0	26,9	6,7

Као најчешћа компликација биопсије простате јавља се хематоспермија (82), док су компликације инфективне природе значајно редуковане правилном припремом пацијената и превентивном применом антибиотика, при чему су значајно чешће приликом биопсија трансректалним у односу на трансперинеални приступ (71, 72, 83). На основу података добијених из 165 студија, уочава се да се сепса као компликација јавља код 0,1% пацијената након биопсије трансперинеалним приступом, а код 0,9% након биопсије простате трансректалним приступом. Иако инфекције представљају ретку постбиопсиону компликацију, нажалост показују тренд раста због развоја антибиотске резистенције (84). Подаци везани за остале постбиопсионе компликације (хематурија, хематоспермија и ретенција урина) упућују на то да не постоји значајна разлика између трансперинеалног и трансректалног приступа (Табела 4) (70, 85).

1.3. Дугачки ланци некодирајуће РНК

Од када је секвенца људског генома објављена 2001. године, бројне студије су показале неочекиване резултате да гени који кодирају протеине чине само око 1,2% хумане *DNA* (engl. *DeoxyriboNucleic Acid*) (86). Преостали део нашег генома се активно транскрибује у разноврсне групе *RNA* (engl. *RiboNucleic Acid*) транскрипта без протеин-кодирајућег потенцијала (87, 88). Такви транскрипти се називају некодирајуће *RNA* (engl. *non-coding RNA*, *ncRNA*). У зависности од њихове величине *ncRNA* се могу поделити у две велике групе: кратке *ncRNA* (engl. *small ncRNA*, *sncRNA*) које имају 18-200 нуклеотида (*nt*) и дуге *ncRNA* (engl. *long ncRNA*, *lncRNA*) које имају више од 200 *nt* (89).

Табела 4. проценат компликација након *TRUS* вођене „*core*“ биопсије простате, без обзира на број узетих узорака (Водич за карцином простате, Европско удружење уролога, *EAU*, 2022)

Компликација	%
Хематоспермија	37,4
Хематурија > 1 дан	14,5
Ректално крварење < 2 дана	2,2
Простатитис	1,0
Повишена температура > 38,5°C	0,8
Епидидимитис	0,7
Ректално крварење > 2 дана +/- хируршка интервенција	0,7
Ретенција урина	0,2
Остале компликације које захтевају хоспитализацију	0,3

Током последње две деценије предмет проучавања биле су *sncRNA*, па је њихова подела базирана на њиховим структурним карактеристикама и биолошкој функцији: микро *RNA* (engl. *micro RNA*, *miRNA*), мале интерферирајуће *RNA* (engl. *small interfering RNA*, *siRNA*), мале нуклеарне *RNA* (engl. *small nuclear RNA*, *snRNA*) и транспортне *RNA* (engl. *transfer RNA*, *tRNA*).

miRNA су еволутивно очувани, једноланчани, мали транскрипти који имају 18-22 *nt* и не кодирају протеине, већ посттранскрипционо регулишу експресију гена. Аберантна експресија *miRNA* је регистрована код већине малигнитета (89).

Током испитивања хуманог генома закључно са 2018. годином, пројектима *ENCODE* (engl. *Encyclopedia of DNA Elements*) и *GENCODE* (engl. *Encyclopædia of genes and gene variants*) уз интеграцију података из постојећих база и објављене литературе, код људи је дефинисано 270.044 *lncRNA* транскрипата, при чему су откривене 3.772 везе између *lncRNA* и појединих болести (90). Иако је функција већине *lncRNA* још увек непозната, њихов растући број и докази о њиховој укључености у различите биолошке процесе говоре у прилог њиховог значаја, како у нормалним, тако и у малигно измењеним ћелијама.

Оно што се до сада зна о *lncRNA* је да су они независне јединице без протеин-кодирајућег потенцијала, а не само непрепозната екстензија суседног протеин-кодирајућег транскрипта. Секвенце са којих се преписују *lncRNA* подлежу типичним

модификацијама хистона које су повезане са регулацијом транскрипције, али показују нижу и више ткивно-специфичну експресију у поређењу са протеин-кодирајућим генима. *LncRNA* и транскрипти протеин-кодирајућих гена имају сличну дужину, начин посттранскрипционе обраде (процесовања). Такође, *lncRNA* кодирајуће секвенце припадају еволутивно очуваној породици која је еволуирала брже од протеин-кодирајућих гена, при чему је сличност секвенци очувана углавном у регионима који су укључени у формирање секундарне структуре (91).

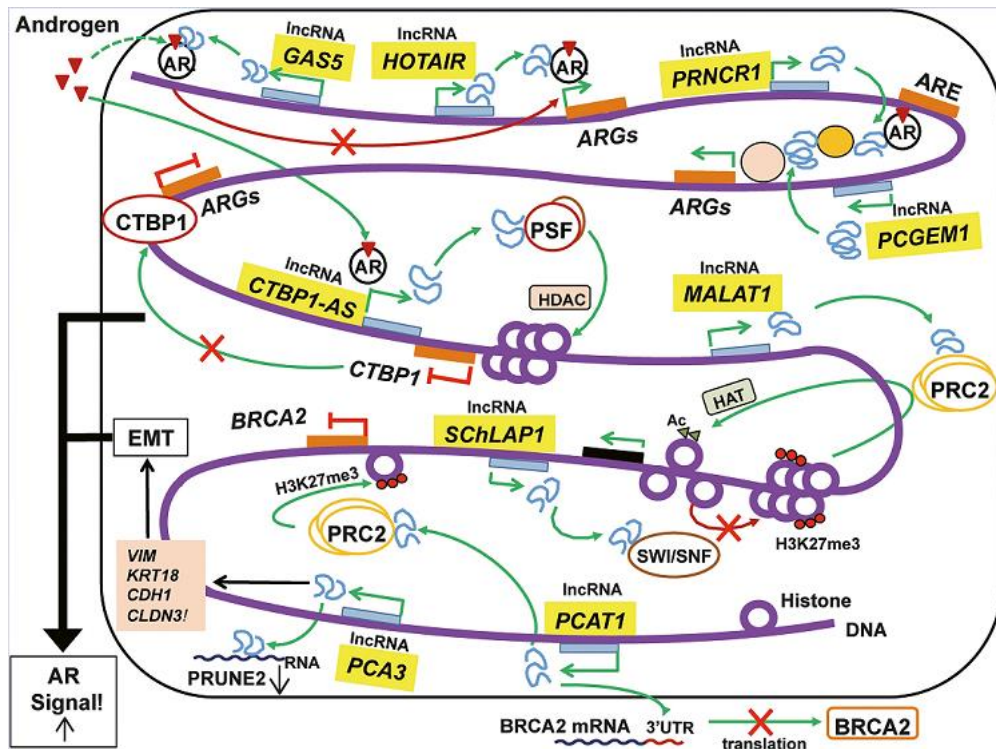
Своју функцију *lncRNA* остварују кроз више механизма, укључујући епигенетичко утишавање кластера гена и транскрипциону интерференцију (92). Због својих онкогенних или тумор-супресорских функција, различите *lncRNA* играју важну улогу у патогенези већег броја малигнитета, укључујући коло-ректални карцином (93), карцином бубрега (94), дојке (95), ендометријума (96), тестиса (97), као и хематолошке малигнитете (98, 99). Аберантна експресија *lncRNA* може представљати индикаторе различитих стадијума малигне болести, може предвидети рану прогресију или пратити ток анти-туморске терапије (92).

1.3.1. Дугачки ланци некодирајуће РНК код карцинома простате

Досадашња молекуларна истраживања указују да *lncRNA* могу бити нови и значајни биолошки маркери за рано откривање, дијагнозу и постоперативно праћење пацијената са карциномом простате. Код карцинома простате аберантна експресија *lncRNA* може да подстиче кастрациону резистенцију, ћелијску пролиферацију, инвазију и метастатско ширење, али и да инхибира ћелијску апоптозу и осетљивост на антитуморске лекове. По својој молекуларној функцији код карцинома простате *lncRNA* могу деловати као онкогени или тумор-супресори. Постоји још неколико потенцијалних молекуларних механизма дејства *lncRNA* на карцином простате, при чему се издвајају утицај на канцерогенезу преко андрогеног рецептора, узајамно дејство (интеракција) *lncRNA*, *miRNA*, утицај на репарациони механизам оштећене *DNA*, као и утицај на метаболизам тумора (Слика 14) (99, 100, 101).

Потенцијално, њихова клиничка улога може бити дијагностичка (*PCA3*, *MALAT1*), прогностичка/ предиктивна (*HOTAIR*, *MALAT1*, *SChLAP1*, *LncRNAs-ATB*, *NEAT1*), а могу се користити и у циљаној терапији карцинома простате (*GAS5*, *MEG3*, *DANCR*, *PCGEM1*).

Тренутно, *PCA3* (engl. *prostate cancer antigen 3*) је један од најбоље проучених *lncRNA*, који се користи као биомаркер карцинома простате и који је одобрила *FDA*. Ниво *PCA3* је специфичнији и сензитивнији биомаркер од других, као што је ниво *PSA*, а његова комбинација са нивоом *PSA* или другим параметрима (године старости, волумен простате, налаз *DRE*) значајно побољшава сензитивност, специфичност и тачност скрининга и дијагностике карцинома простате, тако да ниво *PCA3* у урину може да укаже на постојање карцинома простате (101, 102). Са друге стране, ниво *PCA3* не корелира са градусом тумора и његовом агресивношћу и његова улога као прогностичког биомаркера је ограничена (102, 103, 104).



Слика 14. Епигенетички механизми *lncRNA* kod karcinoma prostate (Слика преузета са URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cas.13352>)

Као што му сам назив говори *MALAT1* (engl. *Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript-1*) је први пут описан код карцинома бронха, а његова појачана експресија је повезана са већим ризиком од настанка метастаза (105). Даља истраживања су показала да се појачана експресија *MALAT1* може наћи и код других тумора. Код карцинома простате његова појачана експресија је удружена са другим лошим прогностичким параметрима као што су високи *ISUP* градуси, виши ниво *PSA* ($> 20 \text{ ng/mL}$), лошије прогностичке групе. Такође, доказано је да је његова експресија значајно већа код кастрационо-резистентних карцинома простате (engl. *Castration-resistant prostate cancer, CRPC*) него код хормон-сензитивних карцинома простате (106). У студији која је поредила ниво *MALAT1* у урину код пацијената са позитивном и негативном биопсијом простате, забележене су значајно више вредности *MALAT1* код пацијената код којих је биопсија била позитивна (107).

Познато је да *HOTAIR* (engl. *HOX Transcript Antisense RNA*) има важну улогу код појединих тумора. Код карцинома простате он је под утицајем андрогеног рецептора (engl. *androgen receptor, AR*). Уочена је његова појачана експресија код *CRPC* након андроген депривационе терапије. Везивањем за *NTD* (engl. *N-terminal domain*) *AR* proteina, *HOTAIR* sprečava интеракцију *MDM2* (engl. *Mouse double minute 2 homolog*) са *NTD*, чиме спречава убиквитинацију и деградацију *AR* (92). Његова појачана експресија повећава (убрзава) пролиферацију и инвазију кастрационо-резистентних туморских ћелија. На тај начин експресија *HOTAIR* је довољна да индукује андроген-зависну активацију *AR* и доведе до *AR*-посредоване транскрипције у одсуству андрогена. У клиничкој пракси *HOTAIR* би могао да се користи као биомаркер који указује на развој резистенције на *enzalutamide*. Са друге стране његово блокирање би потенцијално могло да појача антипролиферативни ефекат нових анти-андрогених лекова, као што је *enzalutamide* (108).

Second Chromosome Locus Associated with Prostate-1 (SChLAP1) има високу експресију код око 25% карцинома простате. Његова експресија је чешћа код *CRPC* и удружена је са повећаним ризиком од рецидива, клиничке прогресије, појаве метастаза и смрти повезане са карциномом простате. У интеракцији *SChLAP1* са *SWI/SNF* (*Switch-Sucrose Non-Fermentable*) комплексом за ремоделовање хроматина, долази до неутрализације тумор-супресорског ефекта *SWI/SNF* (109). Након *RP*, појачана експресија *SChLAP1* може представљати независан фактор повезан са повећаним морталитетом код метастатских *CRPC* (*mCRPC*). *SChLAP1* би могао да послужи као значајан прогностички биомаркер за идентификацију пацијената са високим ризиком за прогресију *CRPC*, указујући на потребу за раном агресивнијом терапијом (110).

Епително-мезенхимална транзиција (engl. *Epithelial-to-mesenchymal transition, EMT*) представља важан чинилац у кастрационој резистенцији ћелија карцинома простате. Ћелије које подлежу *EMT* губе типичне карактеристике епителних ћелија, а добијају функције мезенхималних ћелија укључујући миграторни, инвазивни и апоптоични потенцијал (111, 112). Код карцинома простате висок ниво *lncRNA-ATB* (engl. *Long Non-Coding RNA Activated by Transforming Growth Factor- β*) позитивно корелира са лошим клиничким карактеристикама, укључујући високе *ISUP* градусе, висок ниво *PSA*, лош *TNM* статус. Ово може бити делом последица *EMT* промовишућег ефекта *lncRNA-ATB*, пошто *EMT* омогућава ћелијама карцинома простате да мигрирају и метастатски се шире. Последично, пролиферација ћелија карцинома простате је појачана код повећане експресије *lncRNA-ATB*. Сходно томе, *lncRNA-ATB* се може користити као прогностички биомаркер код карцинома простате, а његова терапијска блокада може да успори прогресију тумора (92, 113).

Код *mCRPC* активан је и сигнални пут преко естрогенских рецептора α (*ER α*) који представља ефикасан механизам који заобилази *androgen-AR* осовину. Појачана експресија *ER α* је присутна код свих типова карцинома простате, док код епитела здраве простате он није присутан. *ER α* регулише важне кораке у онкогенези карцинома простате, међу којима је индукција транскрипције *NEAT1* (*Nuclear-Enriched Abundant Transcript 1*). Ниво *NEAT1* се повећава након дуготрајне терапије *tamoxifen*-ом, *bicalutamide*-ом или *enzalutamide*-ом. Ниво *ER α* , као и ниво *NEAT1* су значајно виши код *mCRPC* у поређењу са карциномом простате, указујући на потенцијалну улогу *ER α -NEAT1* интеракције код кастрационе резистенције. Код пацијената са карциномом простате повишен ниво *NEAT1* је удружен са раним биохемијским рецидивом и метастатским ширењем (92, 114).

Maternally Expressed Gene 3 (MEG3) је укључен у регулацију ћелијског циклуса. Ниво експресије је значајно нижи код карцинома простате у односу на ћелије здраве простате. Улога *MEG3* је тумор-супресорска, при чему он онемогућава пролиферацију ћелија и промовише апоптозу активирајући *p53*. Појачана експресија *MEG3* доводи до заустављања ћелијског циклуса и индукције апоптозе, док смањена експресија доводи до ћелијске пролиферације. Међутим, према досадашњим сазнањима, ниво *MEG3* не корелира са клиничким и прогностичким карактеристикама карцинома простате. Са терапијске стране, индукција експресије *MEG3* код карцинома простате би могла, својим тумор-супресорским ефектима, помоћи у контроли прогресије болести (92, 115).

Androgen-AR сигнални пут има јако важну улогу, како за нормалан раст и диференцијацију ћелија здраве простате, тако и у патогенези карцинома простате где његова функција спречава инвазију и метастатско ширење малигнућих ћелија (116). У терапији хормон-сензитивних карцинома простате користи се андроген депривациона терапија (*ADT*), на коју већина карцинома простате постаје резистентна заобилазећи

интеракцију *androgen-AR*. У таквим случајевима може се користити *enzalutamide*, за који се парадоксално показало да индукује инвазију туморских ћелија и појаву метастаза. Код оваквих случајева *DANCR* (*Differentiation Antagonising Non-Protein Coding RNA*) може имати важну улогу. *DANCR* нормално супримира диференцијацију епителних ћелија простате и на тај начин се супротставља ефекту *androgen-AR* сигналног пута. Он показује повишену експресију код карцинома простате и његова истовремена супресија, док су пацијенти на терапији *enzalutamide*-ом би могла довести до смањења миграције туморских ћелија и спречити појаву метастаза (92, 117).

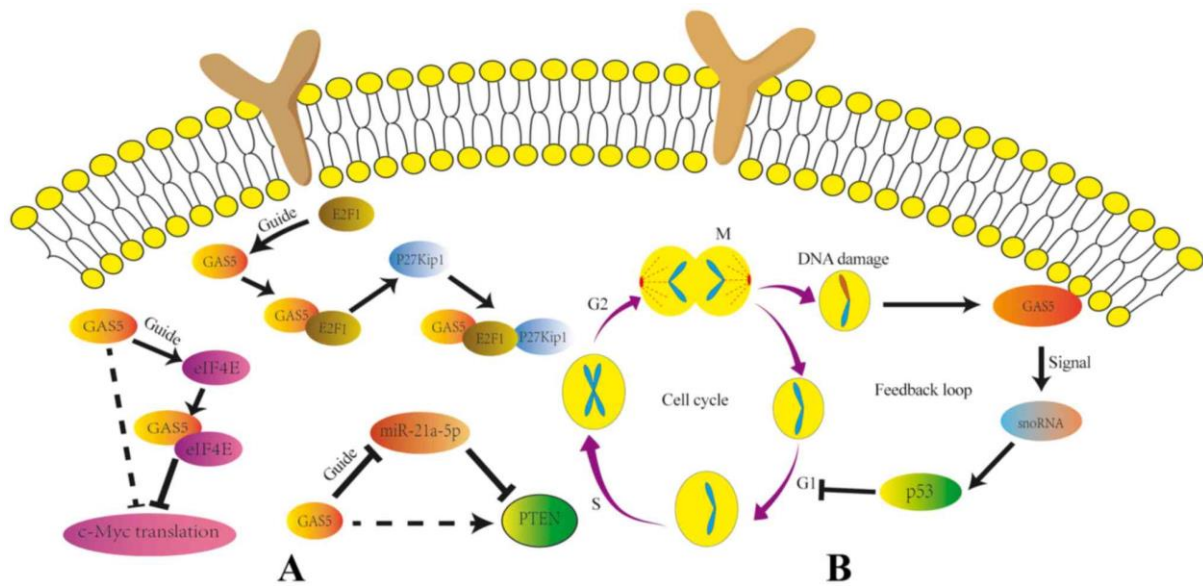
Један од важнијих механизма којим ћелије карцинома простате заобилазе *ADT* је експресија *AR* варијанти, што води кастрационој резистенцији. До сада је познато седам *AR* варијанти, од којих *Androgen splice-variant 7 (AR-V7)* има највећи клинички значај (118). *Prostate Cancer Gene Expression Marker 1 (PCGEM1)* је повишен код 80% карцинома простате, при чему стимулише пролиферацију и инхибира апоптозу. Стимулација *PCGEM1* под утицајем андрогене депривације доводи до повећане експресије *AR-V7* који повећава терапијску резистенцију и погодује развоју метастатске болести. У клиничкој пракси блокада *PCGEM1* током *ADT* би могла да повећа ефикасност ове врсте терапије (92, 119).

1.3.2. *Growth Arrest Specific transkript 5 (GAS5)*

GAS5 (engl. *Growth Arrest Specific transkript 5*) припада фамилији 5' терминалних олигопиримидинских транскрипта. Представља ланац *lncRNA* дугачак 630 нуклеотида, који се преписује са гена лоцираног на хромозому *1q25*. *GAS5* има улогу у супресији туморског раста, а његова вредност је ниска код бројних тумора, што има утицаја на ћелијску пролиферацију и спречавање апоптозе (120, 121). Губитак експресије *AR* на туморским ћелијама је основни корак у развоју и прогресији како локализованог тумора, тако и метастатске болести (89). *GAS5* је тумор-супресорска *lncRNA* која промовише апоптозу тако што раздваја комплекс *androgen-AR* и спречава везивање тог комплекса за циљне гене. Када туморске ћелије стекну резистенцију на кастрацију, ниво *GAS5* опада (92).

Новија истраживања су указала на регулацију експресије *GAS5* од стране *mTOR* (*mammalian target of rapamycin*) инхибитора у ћелијама карцинома простате. Неколико *mTOR* инхибитора повећава ниво ћелијске експресије *GAS5* и инхибира раст ћелија код *AR*-позитивних карцинома простате и *22Rv1* ћелија, док смањење његове експресије код ових ћелија смањује сензитивност за *mTOR* инхибиторе. Коришћење *mTOR* инхибитора води повећању *GAS5* код андроген-зависних и андроген-сензитивних ћелијских линија карцинома простате, али не и код андроген-независних ћелијских линија. Код раних стадијума карцинома простате *mTOR* инхибитори би могли бити коришћени за потенцијацију ћелијске апоптозе повећавањем нивоа експресије *GAS5*. (122)

Између осталог, *GAS5* повећава експресију главног ћелијског тумор супресора *p53* и игра важну улогу у посредовању *p53* одговора на оштећење *DNA* (Слика 15). Такође, примећено је да *GAS5* за индукцију апоптозе не захтева нужно присуство *p53* молекула, јер могу покренути апоптозу и код неких туморских ћелија које немају експримиран *p53* ген (121).



Слика 15. GAS5 регулише експресију гена. Однос између GAS5 и p53 мреже (Слика преузета са URL: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2020.11435>)

Уочено је да је експресија GAS5 смањена у ткиву карцинома простате, а нижи нивои експресије GAS5 су у корелацији са већим димензијама тумора, нижим хистолошким градусом и вишим стадијумима у TNM класификацији. Упоредна анализа експресије GAS5 и прогнозе болести, показала је да пацијенти са ниским нивоом експресије GAS5 имају краће време преживљавања и склонији су настанку метастаза (89, 92).

2. Циљеви и хипотезе студије

2.1. Циљеви

1. Упоредна анализа концентрације *lncRNA GAS5* у плазми код пацијената са карциномом простате и здравих добровољаца.
2. Анализа концентрације *lncRNA GAS5* у плазми код оперисаних пацијената са карциномом простате преоперативно и постоперативно.
3. Корелација резултата добијених *MDCT* стејџингом, патохистолошког налаза и концентрације туморског маркера *PSA* са концентрацијом слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* код пацијената са карциномом простате.

2.2. Хипотезе

1. Концентрација слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* је нижа код пацијената са карциномом простате у односу на здраву популацију.
2. Концентрација слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* код пацијената са карциномом простате опада са степеном прогресије болести.
3. Концентрација слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* је нижа код оперисаних пацијената са карциномом простате преоперативно у односу на постоперативне вредности.
4. Концентрација слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* код пацијената са карциномом простате негативно корелира са концентрацијом *PSA*, вредношћу *f/tPSA* и патохистолошким градусом.

3. Материјал и метод истраживања

3.1. Врста студије

Истраживање је реализовано као клиничка, опсервациона, аналитичка, проспективна студију типа случај-контрола. За спровођење истраживања добијена је сагласност Етичког одбора Војномедицинске академије у Београду (ВМА) (26/04/2018), као и начелника клиника, центара и института ВМА на којима је спроведено истраживање. Учествовање у студији је подразумевало потписани пристанак информисаног пацијента (Прилог 1).

3.2. Популација која је истраживана

Истраживање је спроведено током 2019., 2020. и 2021. године на случајевима пацијената са доказаним карциномом простате, оперативно леченим у Клиници за урологију ВМА, као и на младим, здравим добровољцима који су чинили контролну групу. Комплетно истраживање је спроведено на Клиници за урологију, Институту за медицинска истраживања, Центру за клиничку фармакологију, Институту за радиологију, Институту за патологију и Институту за медицинску биохемију ВМА.

3.3. Узорковање

Пацијенти су били регрутовани по типу „згодног узорка“, односно сви који су испунили критеријуме укључења и искључења били су укључени у формирање групе случајева и контролне групе, а до попуне планираног броја на основу снаге студије (60 пацијената и 30 контрола).

3.3.1. Критеријуми за укључивање у групу случајева

У студији су учествовали пацијенти који су испуњавали следеће критеријуме за укључивање:

1. пацијенти са патохистолошки постављеном дијагнозом карцинома простате,
2. потписан формулар пристанка информисаног пацијента (Прилог 1),
3. испуњена Анкета (Прилог 2).

3.3.2. Критеријуми за искључивање из групе случајева

Критеријуми за искључивање пацијената из клиничког испитивања били су следећи:

1. пацијенти млађи од 18 година,
2. лица са посебним потребама,
3. пацијенти са другим малигнитетима,
4. повреда протокола студије.

3.3.3. Критеријуми за укључивање у контролну групу

У студији су, у склопу контролне групе, учествовали млади и здрави добровољци који су испуњавали следеће критеријуме за укључивање:

1. особе старије од 18 година,
2. потписан формулар пристанка информисаног пацијента (Прилог 1),
3. испуњена Анкета (Прилог 2).

3.3.4. Критеријуми за искључивање из контролне групе

Критеријуми за искључивање из контролне групе били су следећи:

1. лица са посебним потребама,
2. концентрација *PSA* у серуму $< 2,0 \text{ ng/mL}$,
3. пацијенти са другим малигнитетима,
4. повреда протокола студије.

Група случајева је подељена на две подгрупе на основу прогностичких група *AJCC* (Табела 2), при чему су прву подгрупу чинили пацијенти из I и II прогностичке групе, док су другу подгрупу чинили пацијенти из III и IV прогностичке групе *AJCC*.

Из групе случајева је издвојена подгрупа од 12 пацијената којима су постоперативно (2 месеца након операције) поновљене анализе *PSA*, *fPSA* и *f/tPSA*, као и изолација и квантификација *lncRNA GAS5*.

3.4. Варијабле које се мере у студији

3.4.1. Независне варијабле

У студији су анализирани социодемографске и антропометријске (старост, телесна маса, телесна висина, индекс телесне масе) карактеристике. Такође, анализирани су најзначајнији фактори ризика за развој карцинома простате (хередитет, алкохолизам, пушење, физичка и сексуална активност).

Величина, патохистолошка врста тумора и одсуство/присуство локалних и удаљених метастатских промена утврђивани су *MDCT* прегледом грудног коша, абдомена и мале карлице, као и патохистолошким налазом којим је утврђиван патохистолошки стадијум (*Gleason* скор), постојање перинеуралне, периваскуларне и перилимфатичке инвазије, односно градус према *TNM* класификацији.

3.4.1.1. *MDCT* прегледи

MDCT прегледи су рађени у склопу преоперативне припреме, на Институту за радиологију ВМА, на апарату *Toshiba AquilionTM PRIME*, са 160 редова детектора (*Toshiba/Canon, Tokyo, Japan*).

Пре самог *MDCT* прегледа са пацијентима је обављен разговор којим је утврђено да не постоје контраиндикације за извођење прегледа, а уколико је постојала потреба извршена је адекватна припрема за преглед (нефролошка припрема, антиалергијска припрема, искључивање препарата на бази метформина).

Скенирањем су обухваћени грудни кош, абдомен и мала карлица, од горње торакалне апертуре до пода мале карлице. Током прегледа пацијенти су били у лежећем положају, са рукама изнад главе и са задржавањем даха (*breath-holding*) на крају инспиријума.

Прегледи су рађени у нативној фази и након интравенске апликације контрастног средства, у касној артеријској фази (35 s након интравенске апликације контрастног средства) и у касној портно-венској фази (70 s након интравенске апликације контрастног средства).

Током скенирања коришћени су следећи параметри: напон цеви 120 kV са аутоматском модулацијом јачине струје цеви, и дебљина пресека 1,0 mm.

У постпроцесингу су коришћене могућности *MPR (MultiPlanar Reconstruction)* и *MIP (Maximum Intensity Projection)*, а током прегледа су коришћени „прозори“ за плућа, абдомен и кости.

Пошто је примарна улога *CT* прегледа код пацијената са карциномом простате у процени нодалног статуса (*N- staging, TNM*), лимфни чворови су били један од параметара који је праћен током прегледа. У процени лимфних чворова коришћени су дијаметар и морфологија, тако да су лимфни чворови у малој карлици (испод нивоа бифуркације заједничких илијачних артерија) који су краћег дијаметра > 8 mm и лимфни чворови у осталим регијама (изнад бифуркације) који су краћег дијаметра > 10 mm, разматрани као малигно измењени.

Поред лимфних чворова, прегледом мале карлице су тражени знаци инвазије околних структура (локално узнапредовали карцином простате) (*T- staging, TNM*), а у свим прегледаним регијама присуство удаљених метастаза (*M- staging, TNM*), поготово метастаза на костима као најчешћег места за метастазирање карцинома простате.

3.4.1.2. Патохистолошки налази

Патохистолошки налази су рађени на Институту за патологију ВМА. У студији су коришћени дефинитивни, постоперативни патохистолошки налази. Целокупан постоперативни материјал је фиксиран у 10% формалину, калупљен у парафину и након сечења микротомом на серијске резове дебљине 5 μm , обојен стандардном техником са хематоксилином и еозином (*HE*). Анализа хистолошких препарата је вршена на светлосном микроскопу. Током хистолошке анализе одређен је патохистолошки стадијум (*Gleason* скор), постојање перинеуралне, периваскуларне и перилимфатичке инвазије, односно градус према *TNM* класификацији.

3.4.2. Зависне варијабле

3.4.2.1. Сакупљање узорака и изолација *RNA*

Узорци периферне крви (2-3 *mL*) узимани су венепункцијом у епрувете са антикоагулансом (*EDTA*) и транспортовани до лабораторије Центра за клиничку фармакологију ВМА. Болесницима који су лечени оперативно, крв је узимана преоперативно и на првој контроли два месеца након операције.

У временском оквиру од два сата након узорковања, из крви је издвајана плазма према протоколу који је обухватао центрифугирање 10 минута на 1200 *g* при температури од 4°C, а потом 10 минута на 12000 *g* на истој температури. Плазма је замрзавана на -20°C до изолације *RNA*.

Укупна *RNA* је изолована помоћу комерцијалног кита *Isolate II RNA Mini Kit* (*Bioline*, Велика Британија) према упутствима произвођача. Концентрације изоловане *RNA* су одређиване помоћу спектрофотометра, а на основу апсорбанције узорка на 260 *nm* (*NanoPhotometer NP60, Implen*, САД).

3.4.2.2. Квантификација *lncRNA GAS5*

Изолована *RNA* (2 μg) је преведена у *cDNA* помоћу комерцијалног кита *High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (*Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific*, Велика Британија) према упутствима произвођача.

GAS5 је квантификована *Real time-PCR (qRT-PCR)* методом. Квантификација *GAS5* се заснивала на поређењу *Ct* вредности за *GAS5* и *Ct* вредности β -актина (релативна квантификација $2^{-\Delta\Delta C_t}$ методом) при чему су вредности добијене у контролној групи узимане као калибратор. Узорци су анализирани у трипликату, а као *Ct* вредност је узимана средња вредност трипликата. Реакциона смеша за *qRT-PCR* (20

μL) се састојала од 3 μL *cDNA*, по 0,5 μM прајмера за *GAS5* (*sense*: 5'-CTTGCCTGGACCAGCTTAAT-3', *antisense*: 5'-AAGCCGACTCTCCATACCT-3'), односно β -актин (*sense*: 5'-ACCCACACTGTGCCCATCTA-3', *antisense*: 5'-CGCAACCGCTCATTGCC-3'), *Power SYBR® Green PCR Master Mix-a* (*Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific*, Велика Британија) и воде. *PCR* се одвијао кроз иницијалну денатурацију (5 минута на 95°C) и основни циклус (15 секунди на 95°C и 1 минут на 60°C) који је поновљен 50 пута на апарату *Step One Plus Real-Time PCR System* (*Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific*, САД).

У изразу $2^{-\Delta\Delta C_t}$, ΔC_t сваког појединог узорка се добија као разлика C_t вредности за *GAS5* и C_t вредности за β -актин; $\Delta\Delta C_t$ се добија као разлика ΔC_t узорка и C_t вредности контролне групе (средња вредност).

3.4.2.3. Одређивање серумских вредности *PSA* и његових деривата

Концентрација туморског маркера *PSA* и његових деривата у серуму је одређивана на Институту за медицинску биохемију ВМА, на апарату *Beckman Coulter UniCel DxI 800*. За потребе одређивања концентрације *PSA* у серуму пацијентима је, након дванесточасовног гладовања и пре било какве манипулације на простати (*DRE, TRUS*, биопсија простате), узимана једна епрувета периферне венске крви из које је центрифугирањем на 3000 *g* издвајан серум који је даље коришћен за анализе. Узорковање је вршено у епрувету без антикоагуланаса. Анализе су рађене имуноензимским „сендвич“ тестом, уз коришћење стандардних реагенаса препоручених од стране произвођача апарата и према упутству произвођача. Одређивање вредности *PSA* и *fPSA* је спроведена по принципу двоструко слепе пробе.

3.5. Снага студије и величина узорка

На основу стандардних статистичких параметара (снага студије 80%, вероватноћа α грешке 0,05, двострано тестирање, једнаке величине група) да би се пронашла значајна разлика у вредности концентрације биолошког маркера *lncRNA GAS5* између пацијената са карциномом простате и здравих мушкараца (*lncRNA GAS5* код пацијената са карциномом простате 6300 ± 1200 ; *lncRNA GAS5* код здравих пацијената 3900 ± 800) (13) израчуната је потребна величина узорка *t* тестом за независне узорке, користећи *G*Power* 3.1, од 5 пацијената по групи (величина ефекта 2,3533936). Током студије је, на основу претходно испланираног броја, у истраживање укључено укупно по 30 пацијената у свакој од анализираних подгрупа, односно 90 пацијената (30 здравих, 30 у I и II прогностичкој групи и 30 у III и IV прогностичкој групи), као и 12 пацијената којима су постоперативно поновљене анализе.

3.6. Статистичка обрада података

Комплетна статистичка анализа података је урађена у статистичком компјутерском програму, *IBM SPSS Statistics*, верзија 26.0. Све атрибутивне варијабле су представљене у облику фреквенци појединих категорија, а статистичка значајност

између појединих категорија је тестирана χ^2 тестом. Све континуалне варијабле су представљене у облику средње вредности \pm стандардне девијације или медијане са интеркварталним распоном, док за разлике у континуалним варијаблама је коришћен Студентов t тест за независне или зависне узроке или Ман-Витнијев тест или Вилкоксонев тест, у зависности од нормалности расподеле која је проверена на основу Колмогоров-Смирновљевог теста. За анализу варијабли са три и више категорија коришћен је и непараметарски Крускал-Валисов тест. Веза између потенцијалних фактора ризика и исхода је испитана униваријантном и мултиваријантном логистичком регресијом, и изражена као унакрсни однос шанси („odds ratio“) са 95% интервалом поверења. Корелација између варијабли је испитана уз помоћ Спирманове корелације ранга јер се радило о подацима који не испуњавају услове за нормалну расподелу према Колмогоров-Смирновљевом тесту. Јачина корелације је процењивана на основу стандардних Кохенових критеријума: $r > 0,5$ веома јака корелација; r 0,3-0,49 средње јака корелација; $r < 0,29$ слаба корелација. Урађена је и мултиваријантана анализа где се као зависна варијабла користила вредност *GAS5* маркера. Такође је урађена и *ROC* анализа биомаркера за простату и одређена је површина испод криве (*AUC*), гранична вредност, сензитивност и специфичност. Све анализе су процењене на нивоу статистичке значајности од $p < 0,05$. Након статистичке обраде података резултати су представљени табеларно и графички.

4. Резултати

У студији је укупно анализирано 90 испитаника, од чега је 60 било у групи пацијената са карциномом простате у преоперативном стадијуму, док је 30 младих, здравих добровољаца било у контролној групи. Од 60 пацијената са карциномом простате, 12 пацијената је испраћено и постоперативно, два месеца након операције простате.

4.1. Карактеристике пацијената са карциномом простате

Пацијенти са карциномом простате су били у просеку старости 68 година (медијана) (Табела 5). Просечни индекс телесне масе је био $26,93 \pm 3,30 \text{ kg/m}^2$, што одговара прекомерној телесној маси.

Табела 5. Анализа демографских карактеристика пацијената са карциномом простате у преоперативном стадијуму. Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација или медијана са интеркварталним распонем (25-75. перцентил).

	Преоперативна група
Старост (године)	68,00 (62,25-71,00)
Телесна маса (kg)	$84,02 \pm 11,43$
Телесна висина (cm)	$176,58 \pm 6,57$
Индекс телесне масе (kg/m^2)	$26,93 \pm 3,30$

Ако погледамо биомаркере карцинома простате, просечна вредност нивоа експресије *GAS5* приказана као медијана је била 0,71 са интеркварталним распонем од 0,44-1,19 (Табела 6). *PSA* је у просеку био $9,50 \mu\text{g/L}$, што одговара повишеним вредностима јер је референтна вредност за ову старост мања од $5,40 \mu\text{g/L}$ (године живота од 60-69, док је код старијих од 70 референтна вредност мања од $6,22 \mu\text{g/L}$, а код старости од 50-59 година је мања од $3,89 \mu\text{g/L}$). *fPSA* је био $1,20 \mu\text{g/L}$, док је *f/tPSA* био $0,13 \pm 0,05$, што одговара сниженој вредности овог индекса, јер је нормална вредност преко 0,18.

Анализа фактора ризика у нашој групи испитаника са карциномом простате показала је присуство породичног оптерећења код 23,4% пацијената, док се 16,7% пацијената изјаснило да пуши цигарете, а 23,4% да конзумира алкохол (Табела 7). Сексуално активно је било 43,3% пацијената, док су остали имали одређене проблеме у вези са сексуалном активношћу. Потпуну импотенцију је имало 6,7% пацијената са карциномом простате. Пацијенти из групе са карциномом простате углавном су били физички активни. Седентаран начин живота био је присутан само код два пацијента.

Табела 6. Анализа биомаркера пацијената са карциномом простате у преоперативном стадијуму. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација или медијана са интеркварталним распоном (25-75. перцентил).

	Преоперативна група
<i>lncRNA GAS5</i>	0,71 (0,44-1,19)
<i>PSA (µg/L)</i>	9,50 (6,13-14,71)
<i>fPSA (µg/L)</i>	1,20 (0,78-1,59)
<i>f/tPSA</i>	0,13 ± 0,05

Табела 7. Анализа фактора ризика код пацијената са карциномом простате у преоперативном стадијуму. Вредности су приказане као број (%).

Фактори ризика	Преоперативна група
Расна припадност	Сви белци
Позитивна породична анамнеза за карцином простате	14 (23,4%)
Пушење	10 (16,7%)
Конзумирање алкохола	14 (23,4%)
Физичка активност	
седентаран	2 (3,3%)
физички активан 1 до 2 пута недељно	11 (18,3%)
физички активан 3 до 5 пута недељно	13 (21,7%)
физички активан свакодневно	34 (56,7%)
Сексуална активност	
нормална ерекција и ејакулација	26 (43,3%)
повремене тегобе	18 (30,0%)
изражене тегобе	12 (20,0%)
потпуна импотенција	4 (6,7%)

Табела 8. Анализа патохистолошких карактеристика пацијената са карциномом простате (*Gleason* скор, *ISUP* градусне групе). Вредности су приказане као број (%).

Патохистолошке карактеристике	Преоперативна група
<i>Gleason score</i>	
6 (3+3)	13 (21,7%)
7 (3+4)	22 (36,7%)
7 (4+3)	20 (33,3%)
8 (4+4)	1 (1,7%)
9 (4+5)	3 (5,0%)
9 (5+4)	1 (1,7%)
<i>ISUP</i> градусне групе	
1	13 (21,7%)
2	22 (36,7%)
3	20 (33,3%)
4	1 (1,7%)
5	4 (6,7%)

Што се тиче патохистолошких карактеристика карцинома простате код пацијената укључених у студију, најчешћа вредност *Gleason* скорa је била 7, код чак 70% пацијената (Табела 8), док је код 21,7% пацијената био 6. Највише вредности *Gleason* скорa (*ISUP* градусна група 5) имало је 6,7% пацијената.

Остале патохистолошке карактеристике карцинома простате приказане су у Табелама 9а и 9б. Када се на основу *TNM* система процени локална захваћеност простате тумором (*T-tumour*), уочава се да је најчешћи стадијум 2c (36,7% свих пацијената), а нешто мање је заступљен стадијум 3a (28,3% пацијената). Што се тиче нодалног статуса (*N-node*), дисеминација у локалне лимфне нодусе је нађена код 4 пацијента или 6,7% (радикална простатектомија подразумева обострану обтураторну и илијачну лимфаденектомију). Истовремено, постојање удаљених метастаза (*M-metastasis*) уочено је код само једног пацијента. Тумор је показао инвазивни раст код већине пацијената, тако да је перинеурална инвазија била присутна код 85% пацијената, перилимфатична код 75%, периваскуларна код 12%, инвазија капсуле код 43% и транскапсуларна инвазија код 24% пацијената, док су семене везикуле биле захваћене код свега 9% пацијената.

Табела 9а. Анализа патохистолошких карактеристика пацијената са карциномом простате. Вредности су приказане као број (%).

Патохистолошке карактеристике- <i>TNM</i>	Преоперативна група
<i>T</i>	
2	5 (8,3%)
2+	5 (8,3%)
2a	1 (1,7%)
2b	22 (36,7%)
2c+	1 (1,7%)
3a	17 (28,3%)
3b	9 (15,0%)
<i>N</i>	
0	56 (93,3%)
1	4 (6,7%)
<i>M</i>	
0	59 (98,3%)
1	1 (1,7%)

Анализом расподеле пацијената према *AJCC* прогностичким групама, уочава се да су пацијенти најчешће припадали групи *IIIb* и *IIIc*, 36,7% и 21,7% (Табела 10). На основу ових прогностичких група пацијенти са карциномом простате су сврстани у две велике подгрупе са по 30 пацијената.

На основу *MDCT* прегледа грудног коша, абдомена и мале карлице показано је да је код 10% пацијената уочено постојање увећаних лимфних нодуса у малој карлици, који по својим карактеристикама (краћи дијаметар > 8 mm) могу одговарати метастатски измењеним. У осталим регијама, ван мале карлице, нису уочени код испитиваних пацијента лимфни нодуси који би могли одговарати малигну измењеним (краћи дијаметар > 10 mm) (Табела 11). *CT* знакове локалне пропагације (осим захватања семених везикула), остеолитичне и остеобластне промене на коштаном структурама и друге *CT* знакове за постојање удаљених метастаза није имао ни један пацијент. У исто време, код три пацијента (5%) је уочена захваћеност семених везикула.

Табела 96. Анализа патохистолошких карактеристика пацијената са карциномом простате. Вредности су приказане као број (%).

Перинеурална инвазија	Преоперативна група
0	9 (15,0%)
1	51 (85,0%)
Перилимфатична инвазија	
0	15 (25,0%)
1	45 (75,0%)
Периваскуларна инвазија	
0	48 (80,0%)
1	12 (20,0%)
Капсуларна инвазија	
0	17 (28,3%)
1	43 (71,7%)
Транскапсуларна инвазија	
0	36 (60,0%)
1	24 (40,0%)
Инвазија семених везикула	
0	51 (85,0%)
1	9 (15,0%)

Код пацијената са карциномом простате укључених у студију, у склопу преоперативне припреме, рађена је и сцинтиграфија скелета која је код само једног пацијента показала постојање зоне суспектне на метастатско ширење.

Табела 10. Анализа расподеле пацијената са карциномом простате према *AJCC* прогностичким групама. Вредности су приказане као број (%).

	Преоперативна група
<i>AJCC</i> прогностичке групе	
<i>I</i>	9 (15,0%)
<i>IIa</i>	2 (3,3%)
<i>IIb</i>	13 (21,7%)
<i>IIc</i>	6 (10,0%)
<i>IIIa</i>	3 (5,0%)
<i>IIIb</i>	22 (36,7%)
<i>IIIc</i>	1 (1,7%)
<i>IVa</i>	3 (5,0%)
<i>IVb</i>	1 (1,7%)
Подгрупе на основу <i>AJCC</i> прогностичких група	
1	30 (50,0%)
2	30 (50,0%)

4.2. Анализа контролне групе испитаника

Контролну групу пацијената су чинили млади, здрави добровољци просечне старости 39 година (медијана) (Табела 12). Индекс телесне масе у контролној групи је био у просеку $27,62 \pm 3,44 \text{ kg/m}^2$, што такође одговара прекомерној телесној маси.

Анализа биомаркера који се односе на простату показала је да је просечна вредност нивоа експресије *GAS5* приказана као медијана била 1,11 са интеркварталним распоном од 0,67-1,61 (Табела 13). *PSA* је у просеку био $0,68 \mu\text{g/L}$, што одговара нормалним вредностима. *fPSA* је био 0,26, док је *f/tPSA* био $0,36 \pm 0,15$, што одговара нормалној вредности овог индекса.

Табела 11. Анализа *MDCT* налаза грудног коша, абдомена и мале карлице код пацијената са карциномом простате. Вредности су приказане као број (%).

<i>CT</i> налаз	Преоперативна група
<i>CT</i> лимфни нодуси у малој карлици већи од 8 mm	
0	54 (90,0%)
1	6 (10,0%)
<i>CT</i> лимфни нодуси ван карлице већи од 10 mm	
0	60 (100,0%)
1	0
<i>CT</i> локална пропација (осим семених везикула)	
0	60 (100,0%)
1	0
<i>CT</i> захватање семених везикула	
0	57 (95,0%)
1	3 (5,0%)
<i>CT</i> промене на костима	
0	60 (100,0%)
1	0

Табела 12. Демографске карактеристике испитаника из контролне групе. Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација или медијана са интеркварталним распонем (25-75. перцентил).

	Контролна група
Старост (године)	39,00 (33,00-43,00)
Телесна маса (kg)	91,70 \pm 13,35
Телесна висина (cm)	182,10 \pm 6,81
Индекс телесне масе (kg/m²)	27,62 \pm 3,44

Табела 13. Анализа биомаркера испитаника из контролне групе. Вредности су приказане као средња вредност ± стандардна девијација или медијана са интеркварталним распонем (25-75. перцентил).

	Контролна група
<i>lncRNA GAS5</i>	1,11 (0,67-1,61)
<i>PSA (µg/L)</i>	0,68 (0,53-1,09)
<i>fPSA (µg/L)</i>	0,26 (0,16-0,35)
<i>f/tPSA</i>	0,36 ± 0,15

Табела 14. Анализа фактора ризика код испитаника из контролне групе. Вредности су приказане као број (%).

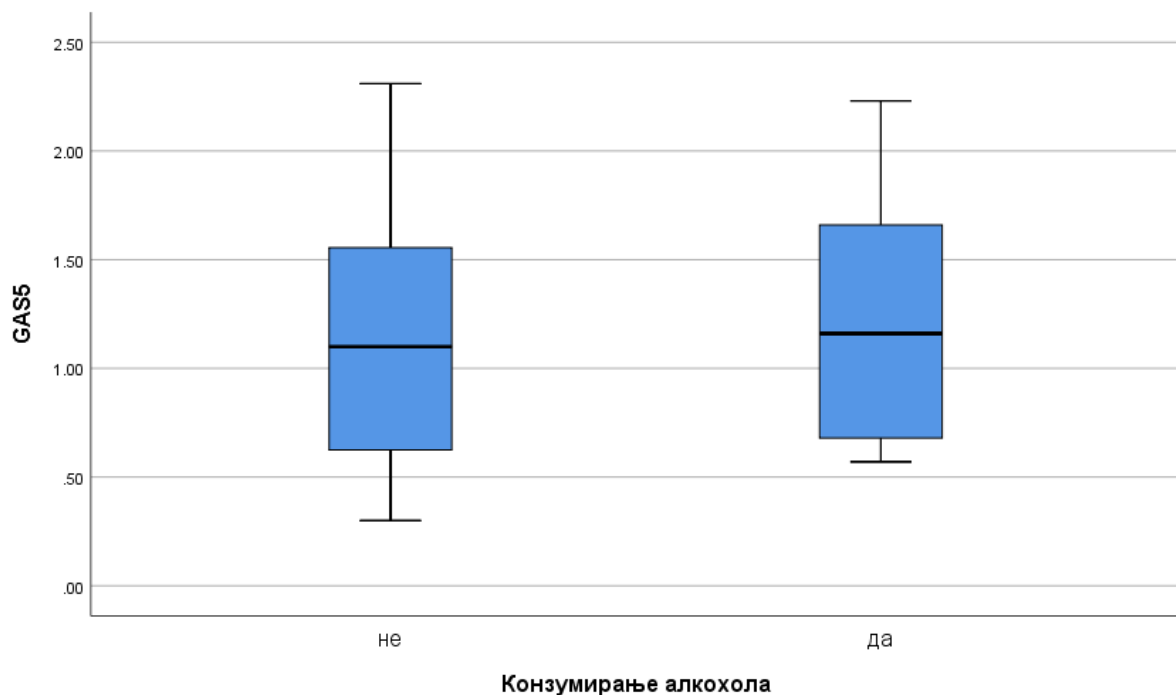
Фактори ризика	Контролна група
Расна припадност	Сви белци
Позитивна породична анамнеза за карцином простате	3 (10,0%)
Пушење	11 (36,7%)
Конзумирање алкохола	14 (46,7%)
Физичка активност	
седентаран	2 (6,7%)
физички активан 1 до 2 пута недељно	14 (46,7%)
физички активан 3 до 5 пута недељно	8 (26,7%)
физички активан свакодневно	6 (20,0%)
Сексуална активност	
нормална ерекција и ејакулација	29 (96,7%)
повремене тегобе	1 (3,3%)
изражене тегобе	/
потпуна импотенција	/

Од фактора ризика за развој карцинома простате код контролне групе били су присутни породично оптерећење код 10,0% пацијената, пушење код 36,7% и конзумација алкохола код 46,7% (Табела 14). Сексуална активност је била нормална код 96,7% пацијената, односно само је један испитаник имао одређене проблеме у вези са сексуалном активношћу (повремене тегобе). Само два испитаника је имало седентаран начин живота, сви остали су имали одређен степен физичке активности, најчешће 1-2 пута недељно (46,7%).

4.2.1. Утицај појединих фактора ризика на ниво експресије GAS5 у контролној групи

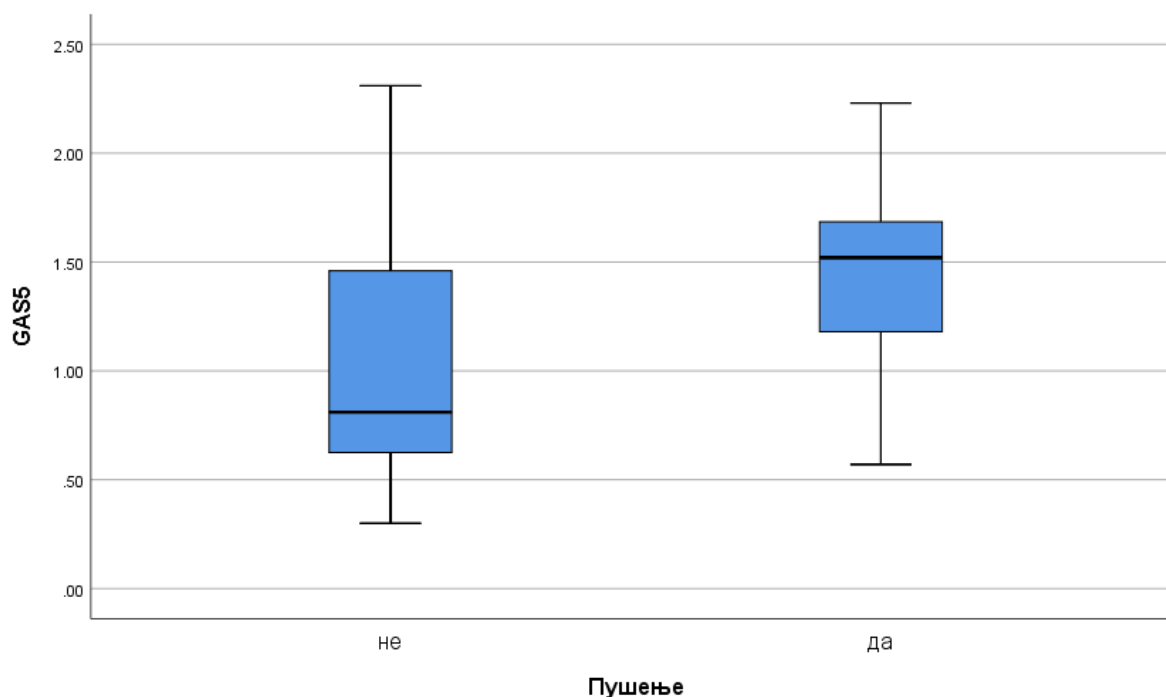
Утицај старости припадника контролне групе на ниво експресије GAS5 није анализиран, с обзиром да се радило о младим, здравим добровољцима просечне старости 39 (33,00-43,00) година (Табела 12) и пошто је распон година узак за адекватну анализу.

У односу на конзумирање алкохола није нађена значајна разлика у нивоу експресије GAS5 (Mann-Whitney U test; $p=0,790$). Медијана овог биомаркера је код групе која конзумира алкохол била 1,16 (0,68-1,67), док је код оних који не конзумирају алкохол била 1,10 (0,62-1,57) (Графикон 7).



Графикон 7. Вредности нивоа експресије GAS5 у односу на конзумирање алкохола у контролној групи

Такође, у односу на пушачки статус није нађена статистички значајна разлика у нивоу експресије GAS5, мада је била близу границе значајности (Mann-Whitney U test; $p=0,057$). Медијана овог биомаркера је код групе пушача била 1,52 (1,13-1,71), док је код непушача била 0,81 (0,61-1,48) (Графикон 8).



Графикон 8. Вредности нивоа експресије *GAS5* у односу на пушачки статус у контролној групи

4.3. Упоредна анализа преоперативне групе пацијената у односу на контролну групу

Поређењем демографских карактеристика између пацијената којима је постављена дијагноза карцинома простате и контролне групе (здравих) пацијената, види се да су испитаници у контролној групи били значајно млађе животне доби (медијана старости 39 година), док је медијана старости у групи пацијената са карциномом простате била 68 година (Табела 15). У телесној маси и висини је такође показана статистички значајна разлика, односно контролна група је била у просеку тежа око 7 kg и виша око 5 cm, што нема неког клиничког значаја везано за ову дијагнозу. Са друге стране, поређењем индекса телесне масе, види се да нема значајних разлика између анализираних група.

Анализом биомаркера који се односе на простату, *PSA*, *fPSA* и *f/tPSA*, види се да су вредности *PSA* и *fPSA* маркера биле значајно веће у групи пацијената са карциномом простате у односу на контролну групу (Табела 16). Насупрот томе вредност *f/tPSA* је била статистички значајно већа у контролној групи у односу на пацијенте са карциномом простате (медијане: 0,36 vs. 0,13).

Табела 15. Анализа демографских карактеристика између групе пацијената са карциномом простате и контролне групе. Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација или медијана са интеркварталним распоном (25-75. перцентил).

	Преоперативна група	Контролна група	<i>p</i> вредност
Старост (године)	68,00 (62,25-71,00)	39,00 (33,00-43,00)	<0,001*
Телесна маса (kg)	84,02 \pm 11,43	91,70 \pm 13,35	0,006**
Телесна висина (cm)	176,58 \pm 6,57	182,10 \pm 6,81	<0,001**
Индекс телесне масе (kg/m ²)	26,93 \pm 3,30	27,62 \pm 3,44	0,355**

*- Mann-Whitney test; **- Independent Samples *t* test

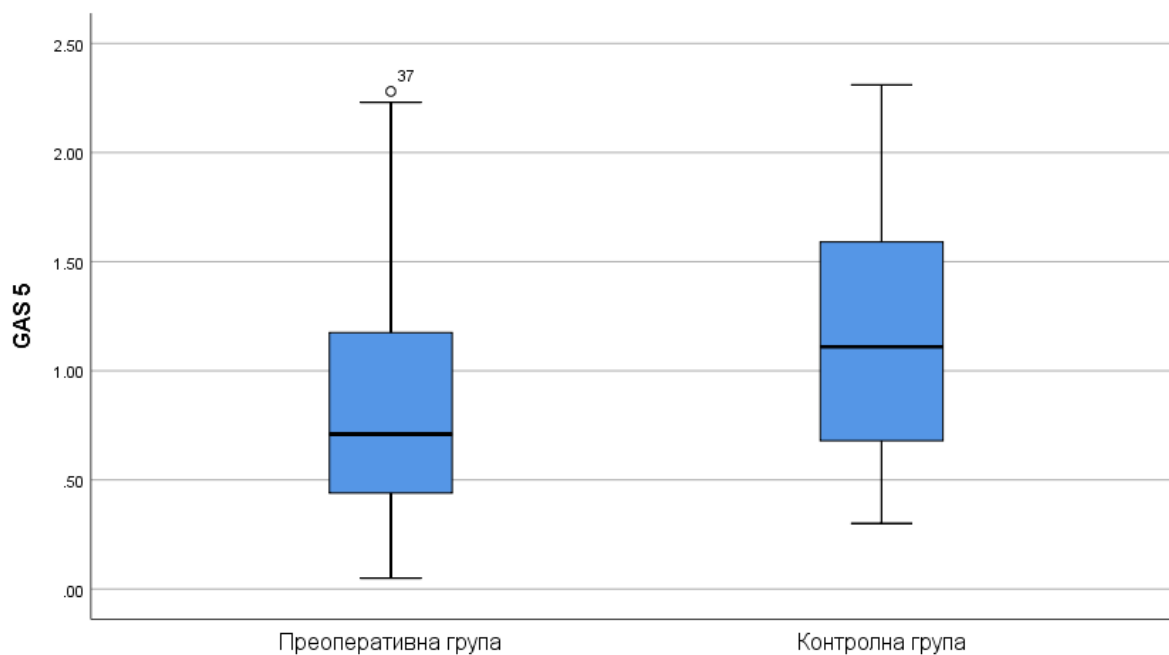
Табела 16. Анализа биомаркера између групе пацијената са карциномом простате и контролне групе. Вредности су приказане као средња вредност \pm стандардна девијација или медијана са интеркварталним распоном (25-75. перцентил).

	Преоперативна група	Контролна група	<i>p</i> вредност
<i>lncRNA GAS5</i>	0,71 (0,44-1,19)	1,11 (0,67-1,61)	0,009*
<i>PSA</i> ($\mu\text{g/L}$)	9,50 (6,13-14,71)	0,68 (0,53-1,09)	<0,001*
<i>fPSA</i> ($\mu\text{g/L}$)	1,20 (0,78-1,59)	0,26 (0,16-0,35)	<0,001*
<i>f/tPSA</i>	0,13 \pm 0,05	0,36 \pm 0,15	<0,001**

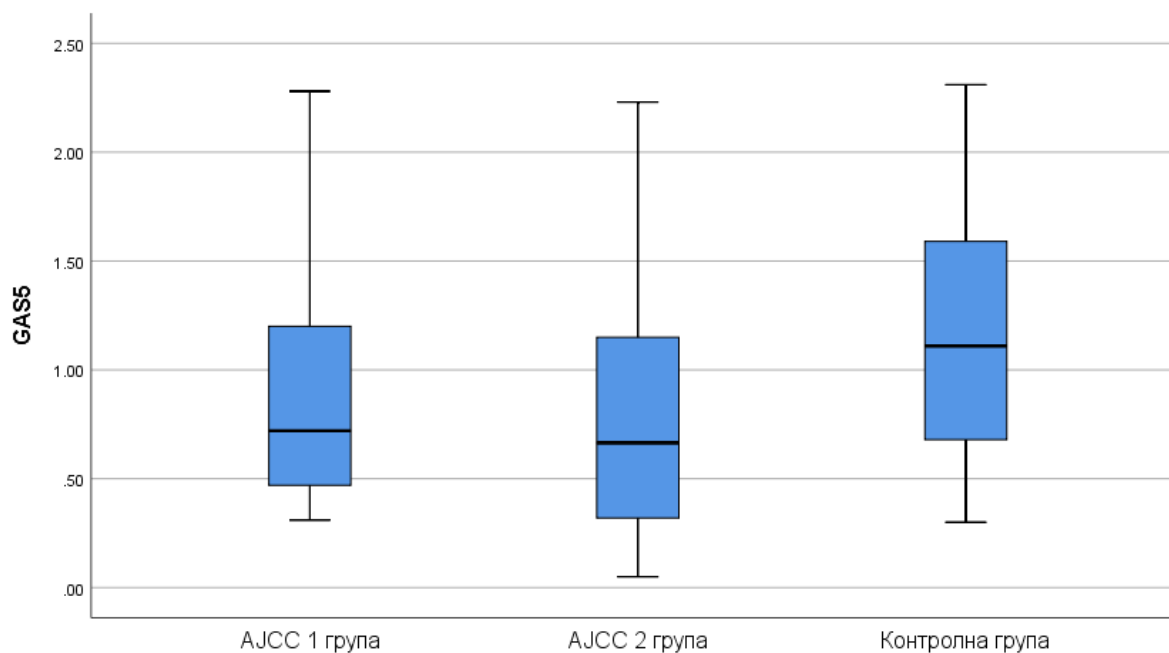
*- Mann-Whitney test; **- Independent Samples *t* test

Ниво експресије *GAS5* је био статистички значајно виши у контролној групи у односу на групу пацијената са карциномом простате (Табела 16). Медијана овог маркера је била за око 36,04% већа у контролној групи у односу на преоперативну групу пацијената са карциномом простате (медијане: 1,11 vs. 0,71) (Графикон 9).

Међутим, није нађена статистички значајна разлика у нивоу експресије *GAS5* између пацијената у првој подгрупи (AJCC прогностичке групе 1 и 2) и контролној групи [0,72 (0,46-1,20) vs. 1,11 (0,67-1,61); Mann-Whitney U test; $p=0,066$] (Графикон 10). Истовремено, нађена је статистички значајна разлика у нивоу експресије *GAS5* између пацијената у другој подгрупи (AJCC прогностичке групе 3 и 4) и контролној групи (Mann-Whitney U test; $p=0,007$) (Графикон 10). У другој AJCC подгрупи медијана вредности нивоа експресије *GAS5* је била 0,66 (0,30-1,19), док је у контролној групи медијана била 1,11 (0,67-1,61).



Графикон 9. Просечне вредности нивоа експресије *GAS5* у плазми пацијената са карциномом простате преоперативно и контролној групи приказане као медијана са интеркварталним распоном.



Графикон 10. Просечне вредности нивоа експресије *GAS5* у плазми пацијената са карциномом простате (*AJCC* прва и друга подгрупа) преоперативно и контролној групи приказане као медијана са интеркварталним распоном

Табела 17. Упоредна анализа фактора ризика између групе пацијената са карциномом простате и контролне групе. Вредности су приказане као број (%).

Фактори ризика	Преоперативна група	Контролна група	<i>p</i> вредност*
Расна припадност	Сви белци	Сви белци	
Позитивна породична анамнеза за карцином простате	14 (23,3%)	3 (10,0%)	0,216
Пушење	10 (16,7%)	11 (36,7%)	0,064
Конзумирање алкохола	14 (23,4%)	14 (46,7%)	0,044
Физичка активност			
седентаран	2 (3,3%)	2 (6,7%)	0,006
физички активан 1 до 2 пута недељно	11 (18,3%)	14 (46,7%)	
физички активан 3 до 5 пута недељно	13 (21,7%)	8 (26,7%)	
физички активан свакодневно	34 (56,7%)	6 (20,0%)	
Сексуална активност			
нормална ерекција и ејакулација	26 (43,3%)	29 (96,7%)	<0,001
повремене тегобе	18 (30,0%)	1 (3,3%)	
изражене тегобе	12 (20,0%)	/	
потпуна импотенција	4 (6,7%)	/	

*- Chi-square test

Између пацијената са карциномом простате и контролне групе није нађена статистички значајна разлика у неким факторима ризика за развој карцинома простате, као што су породично оптерећење и пушење, али је пронађена значајна разлика у конзумирању алкохола, физичкој активности и сексуалној активности (Табела 17). Сексуална активност је била нормална код већине пацијената у контролној групи, а само је један пацијент имао повремене тегобе. Истовремено, код пацијената са карциномом простате само је 43,3% пацијената било без тегоба, а остали су имали одређене проблеме у вези са сексуалном активношћу. Пацијенти из групе са карциномом простате углавном су били физички активнији од контролне групе. Седентаран начин живота био је присутан само код по два пацијента у обе испитиване групе. Што се тиче конзумирања алкохола, испитаници из контролне групе дупло

чешће су конзумирали алкохол у односу на пацијенте са карциномом простате (46,7% vs. 23,4%).

4.4. Упоредна анализа пацијената са карциномом простате у преоперативном и постоперативном стадијуму

Овом анализом је обухваћено 12 пацијената који су испраћени и преоперативно и постоперативно. Они су били просечне старости 71 годину са интеркварталним распоном од 61,25 до 71,25 година. Индекс телесне масе је био $26,35 \pm 3,07 \text{ kg/m}^2$. Код ових пацијената је урађена постоперативно контрола биомаркера значајних за простату.

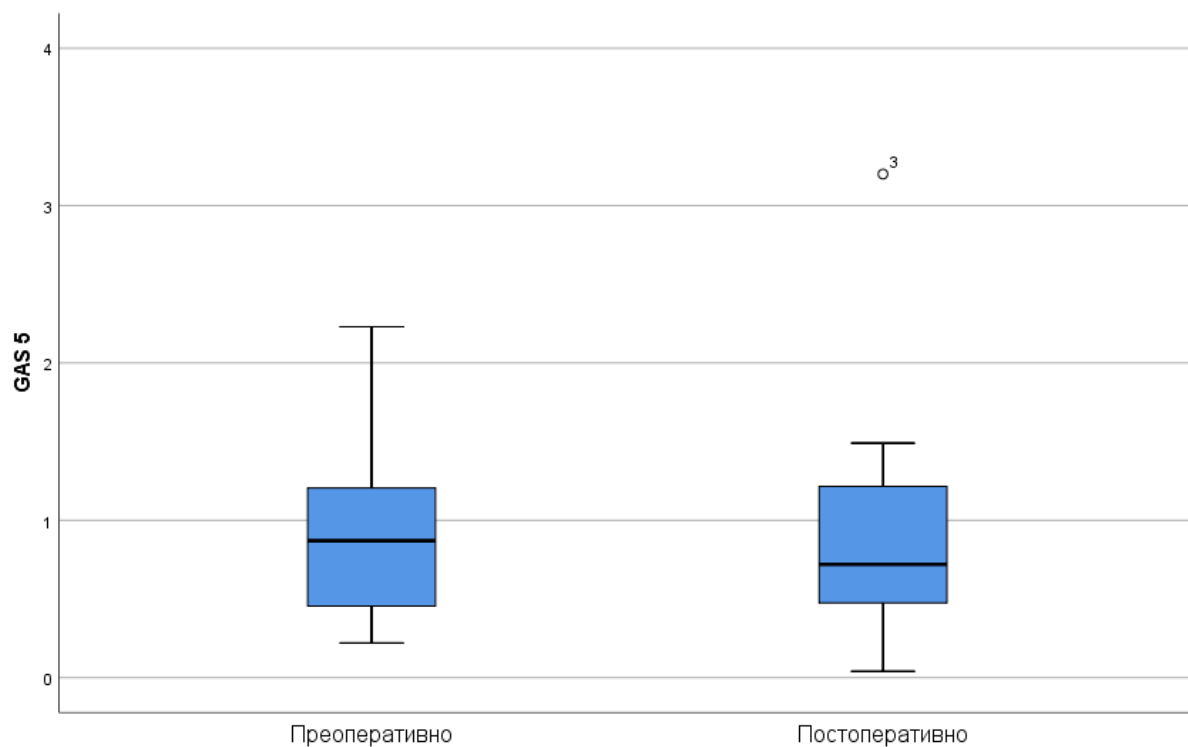
Поређењем биомаркера који се односе на простату, биди се да је просечна вредност нивоа експресије *GAS5* приказана као медијана била 0,87 преоперативно, док се ова вредност незнатно смањила постоперативно на 0,72 (Табела 18), што је приказано и на Графикону 11.

PSA је у просеку био $9,24 \mu\text{g/L}$ преоперативно, и ова вредност се постоперативно статистички значајно смањила на $0,02 \mu\text{g/L}$ (Табела 18 и Графикон 12). *fPSA* је био $0,93 \mu\text{g/L}$ преоперативно, док је постоперативно дошло до статистички значајног пада на $0,02 \mu\text{g/L}$ (Графикон 13). Преоперативно *f/tPSA* био је 0,10, а постоперативно је дошло до статистички значајног повећања овог маркера на 0,50 (медијана) (Графикон 14).

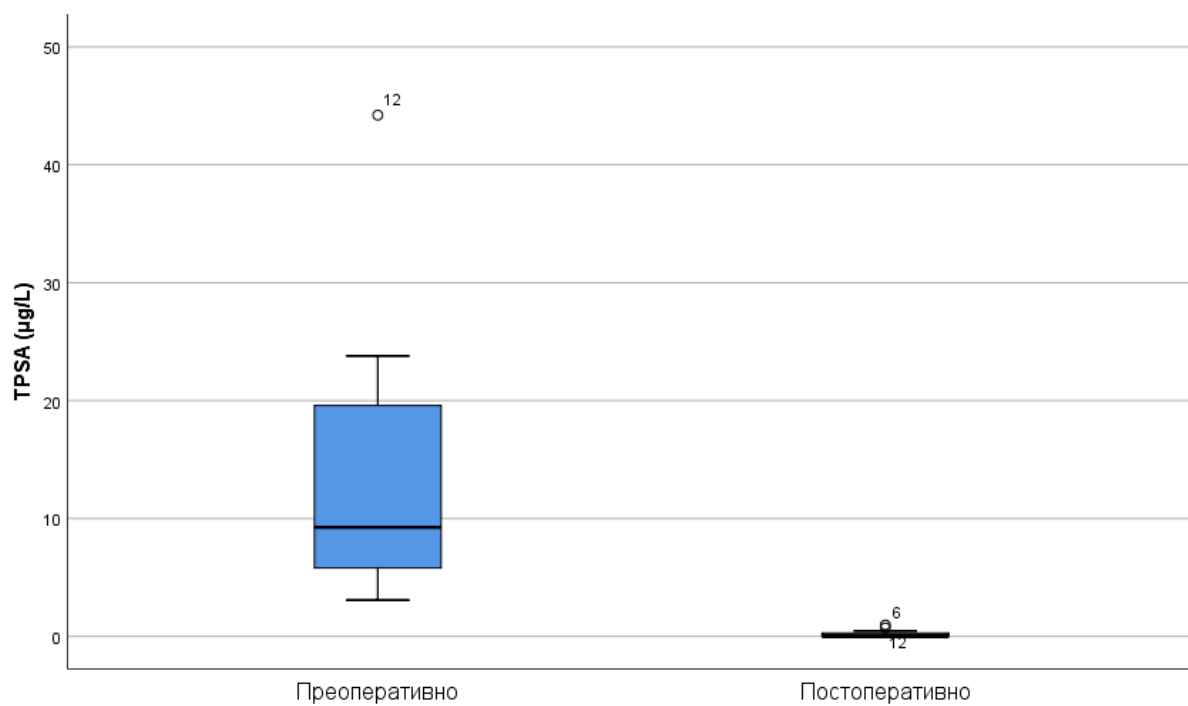
Табела 18. Анализа биомаркера пацијената са карциномом простате у преоперативном и постоперативном стадијуму. Вредности су приказане као медијана са интеркварталним распоном (25-75. перцентил).

	Преоперативно	Постоперативно	<i>p</i> вредност*
<i>lncRNA GAS5</i>	0,87 (0,45-1,21)	0,72 (0,46-1,28)	0,875
<i>PSA</i> ($\mu\text{g/L}$)	9,24 (5,24-20,11)	0,02 (0,01-0,37)	0,002
<i>fPSA</i> ($\mu\text{g/L}$)	0,93 (0,68-1,48)	0,01 (0,01-0,02)	0,018
<i>f/tPSA</i>	0,10 (0,08-0,12)	0,50 (0,14-1,00)	0,018

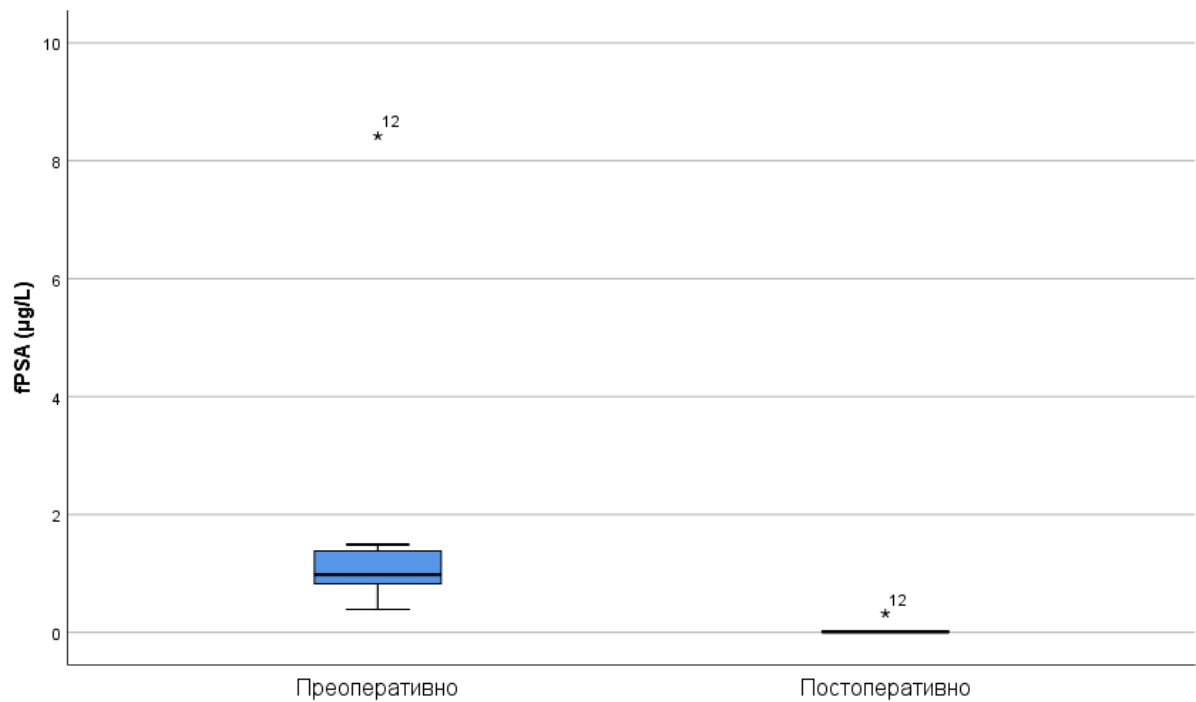
*- Wilcoxon Signed Ranks test



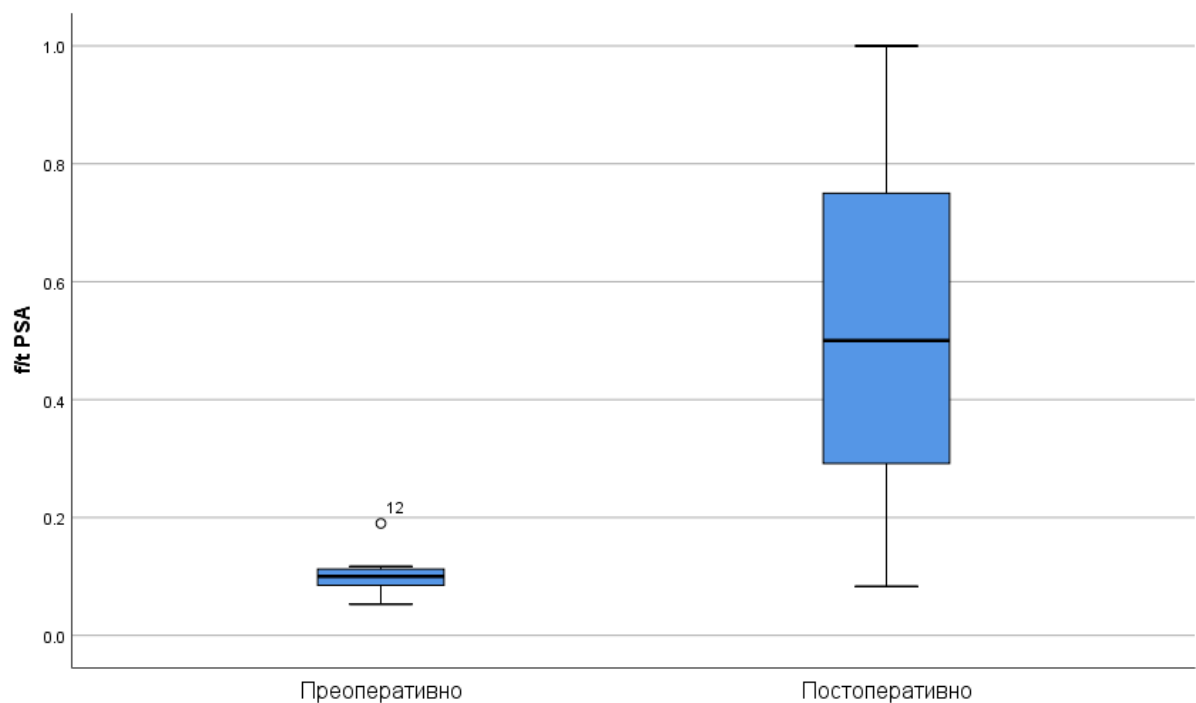
Графикон 11. Просечне вредности нивоа експресије *GAS5* у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно и постоперативно приказане као медијана са интеркварталним распоном.



Графикон 12. Просечне вредности *PSA* у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно и постоперативно приказане као медијана са интеркварталним распоном.



Графикон 13. Просечне вредности $fPSA$ у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно и постоперативно приказане као медијана са интеркварталним распоном.



Графикон 14. Просечне вредности $f/tPSA$ у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно и постоперативно приказане као медијана са интеркварталним распоном.

4.5. Анализа нивоа експресије GAS5 у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно

Када је посматрана старост пацијената са карциномом простате, није нађена статистички значајна разлика у нивоу експресије GAS5 (Mann-Whitney U test; $p=0,655$) (Графикон 15). Медијана овог биомаркера је код групе пацијената млађих од 65 година била 0,73 (интерквартални распон је био од 0,58-0,97), док је код пацијената старијих од 65 година била 0,61 (0,38-1,33).

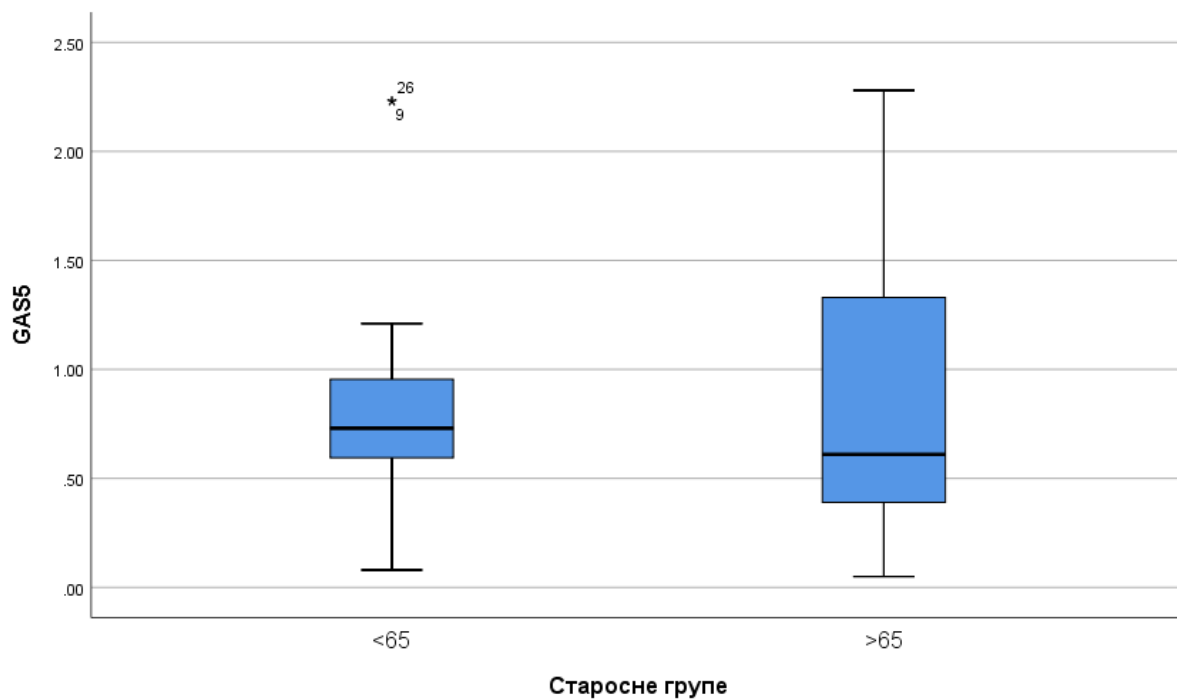
Такође, није нађена статистички значајна разлика у нивоу експресије GAS5 код пацијената у првој (AJCC прогностичке групе 1 и 2) (Mann-Whitney U test; $p=0,902$) и другој (AJCC прогностичке групе 3 и 4) (Mann-Whitney U test; $p=0,627$) подгрупи (Графикон 16, 17). У првој подгрупи медијана овог биомаркера је код групе млађих од 65 година била 0,74 (0,57-0,92), док је код старијих од 65 година била 0,62 (0,44-1,68), док је у другој подгрупи медијана овог биомаркера је код групе млађих од 65 година била 0,72 (0,40-1,63), док је код старијих од 65 година била 0,59 (0,27-1,24).

У односу на AJCC прогностичке групе, добијена је статистички незначајна разлика у вредностима нивоа експресије GAS5 (Графикон 18). У подгрупи један медијана вредности је била 0,72 (0,46-1,20), док је у другој подгрупи медијана била 0,66 (0,30-1,19) (Mann-Whitney U test; $p=0,371$). Иако је ова разлика била статистички незначајна, ипак је добијена мања вредност нивоа експресије GAS5 у другој подгрупи, односно код пацијената са вишим стадијумом болести.

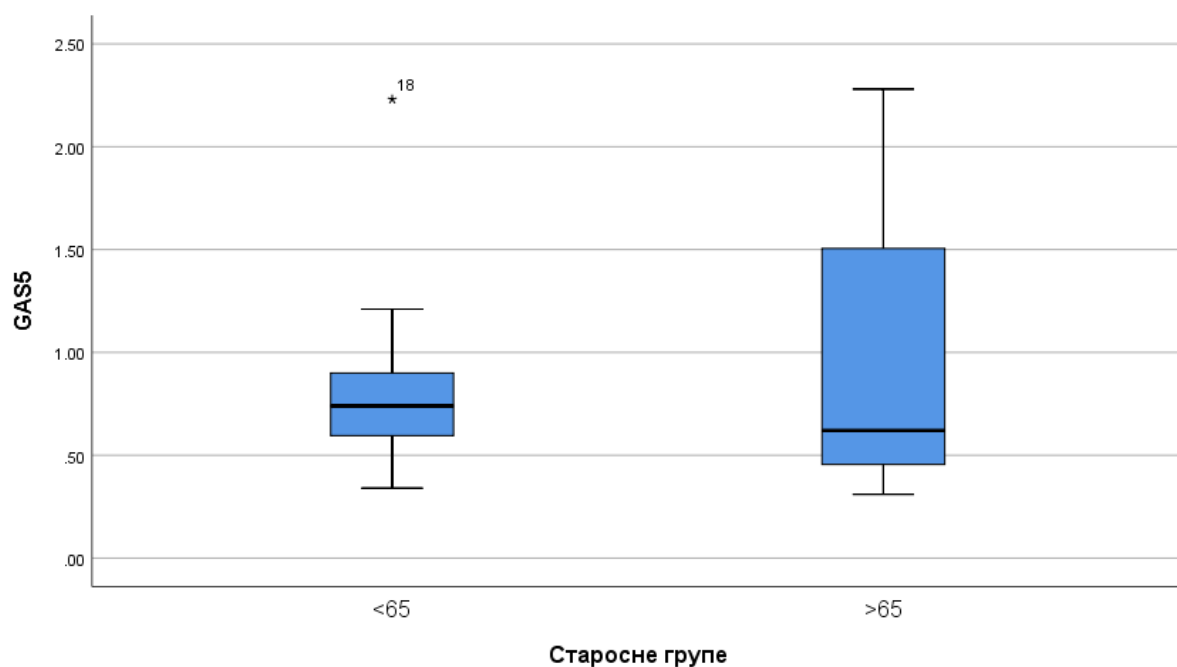
У односу на Gleason скор, односно ISUP градусне групе добијена је такође статистички незначајна разлика у вредностима нивоа експресије GAS5 (Графикон 19). Просечне вредности приказане као медијана са интеркварталним распонем су биле редом у првој групи 0,85 (0,56-1,23), у другој 0,58 (0,34-0,74), у трећој 1,01 (0,41-1,45) и у четвртој и петој групи заједно 1,06 (0,39-1,27) (Kruskal-Wallis test; $p=0,300$). Иако је ова разлика била статистички незначајна, такође је добијена мања вредност овог маркера код нижих стадијума 1 и 2, у односу на 3-5 стадијум, где су вредности биле више у просеку.

У односу на поделу према T стадијуму, добијена је такође статистички незначајна разлика у вредностима нивоа експресије GAS5 (Графикон 20). Просечне вредности приказане као медијана са интеркварталним распонем су биле у другом стадијуму 0,69 (0,45-1,20), а у трећем стадијуму 0,72 (0,38-1,20) (Mann-Whitney U test; $p=0,788$). Иако је ова разлика била статистички незначајна, ипак је добијена мања вредност овог маркера код виших T стадијума.

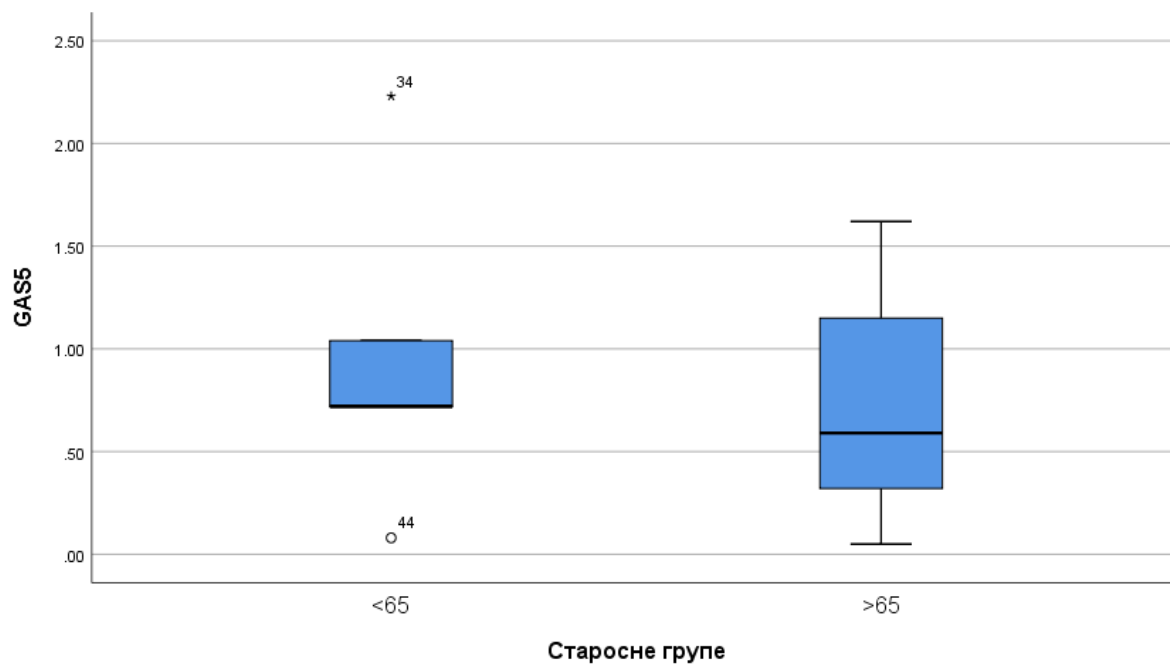
У односу на поделу према CT налазу увећаних лимфних нодуса у малој карлици (краћи дијаметар $> 8 \text{ mm}$), добијена је статистички значајна разлика у нивоу експресије GAS5 (Графикон 21). Просечне вредности приказане као медијана са интеркварталним распонем су биле код позитивног налаза увећаних лимфних нодуса у малој карлици 1,41 (1,13-1,70), а код негативног налаза 0,65 (0,39-1,06) (Mann-Whitney U test; $p=0,012$). Ова разлика је била статистички значајна, односно код присуства увећаних лимфних нодуса у малој карлици ниво овог маркера је био значајно већи у односу на пацијенте који нису имали овакве промене на CT-у.



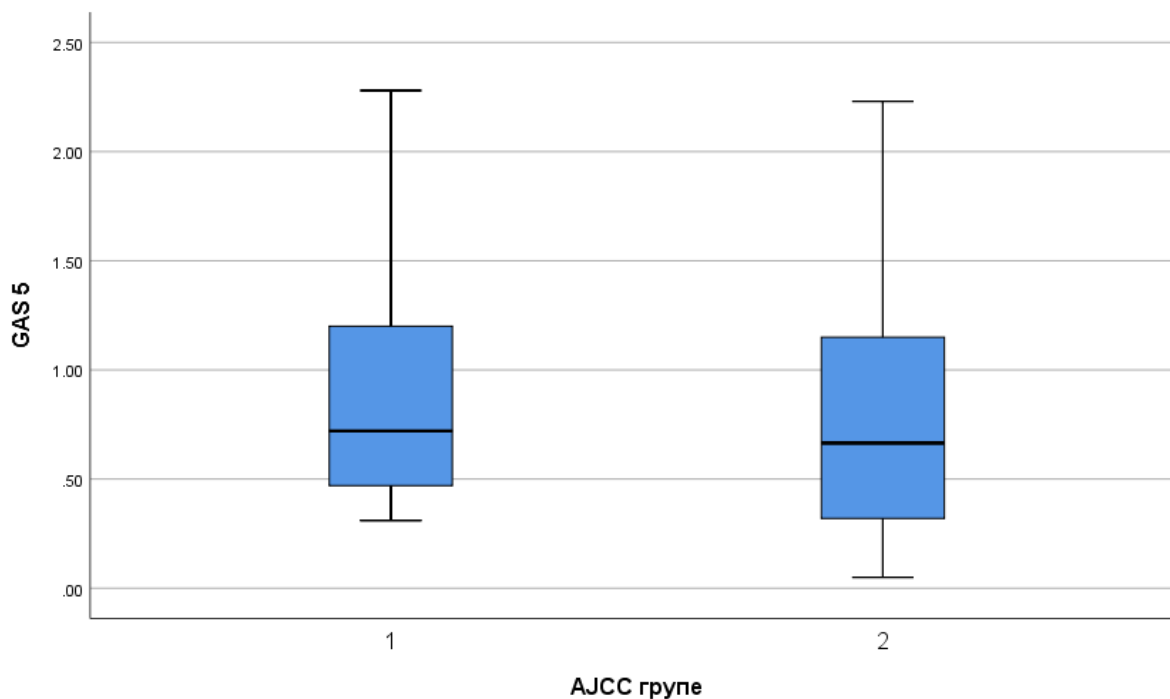
Графикон 15. Ниво експресије *GAS5* у односу на старост пацијената са карциномом простате



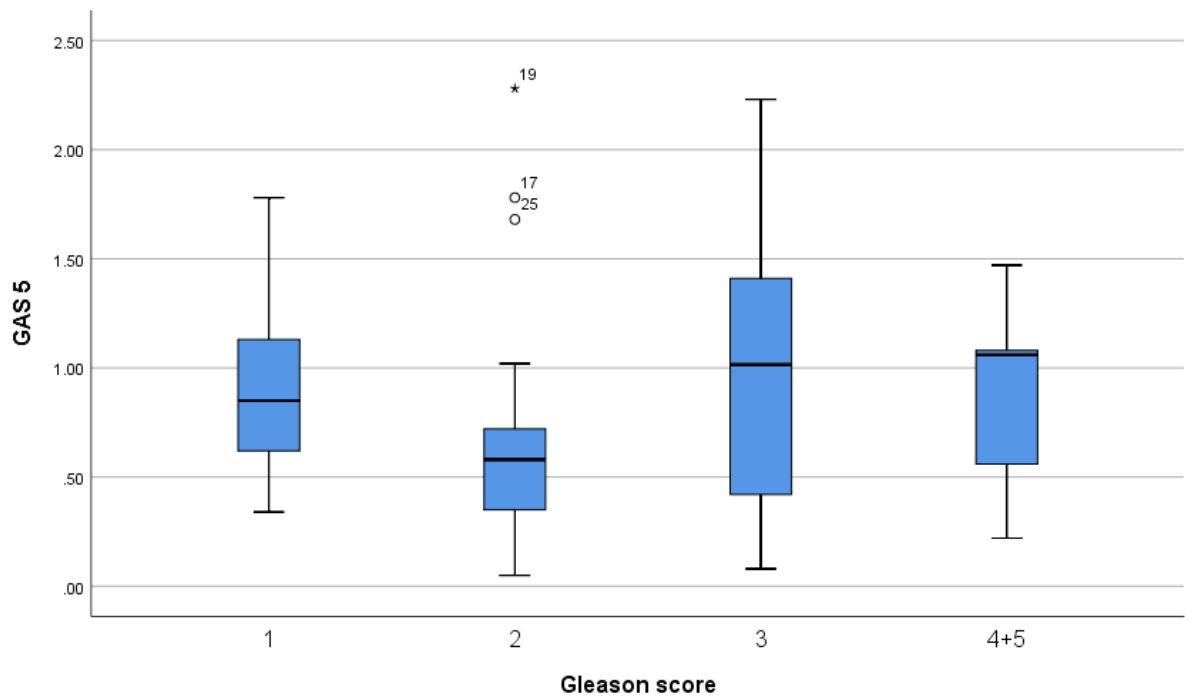
Графикон 16. Ниво експресије *GAS5* у односу на старост пацијената са карциномом простате у првој подгрупи (AJCC прогностичке групе 1 и 2)



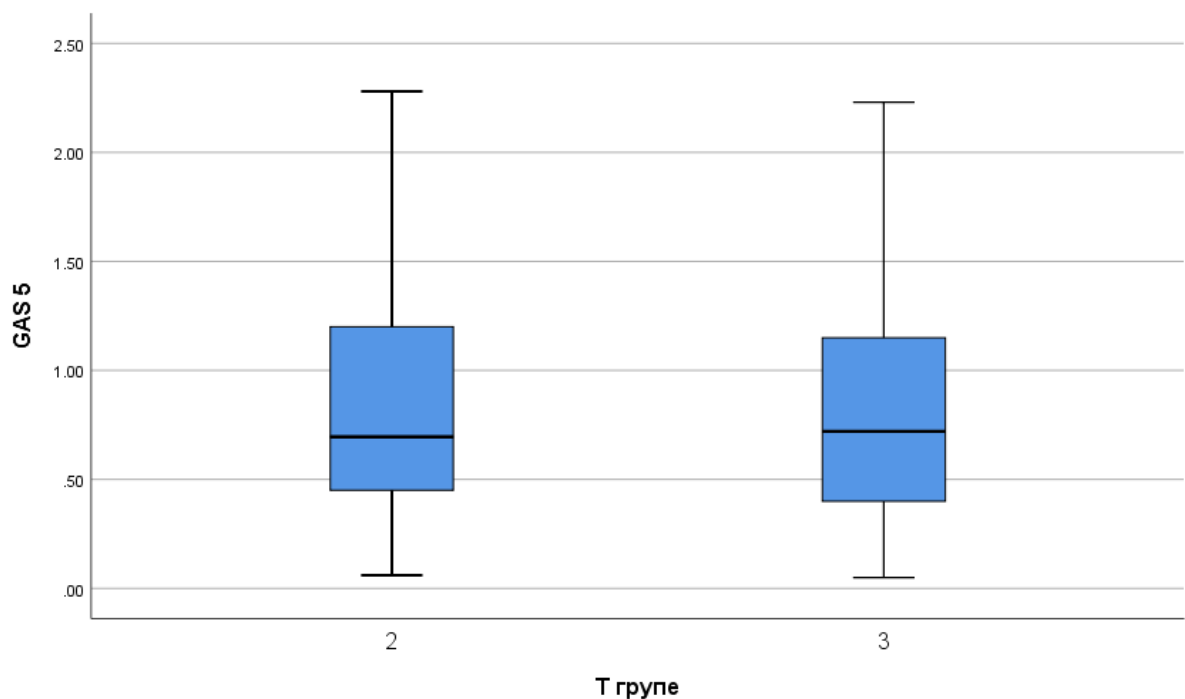
Графикон 17. Ниво експресије *GAS5* у односу на старост пацијената са карциномом простате у другој подгрупи (*AJCC* прогностичке групе 3 и 4)



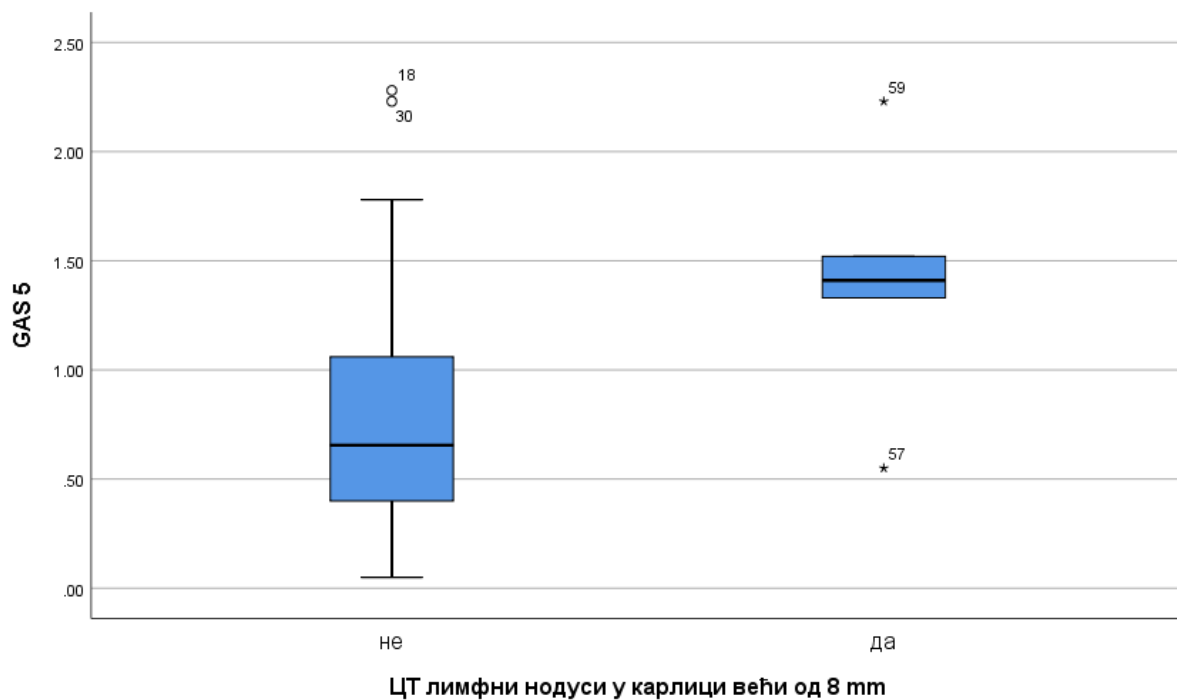
Графикон 18. Вредности нивоа експресије *GAS5* у односу на *AJCC* прогностичке групе приказане као медијана са интеркварталним распоним.



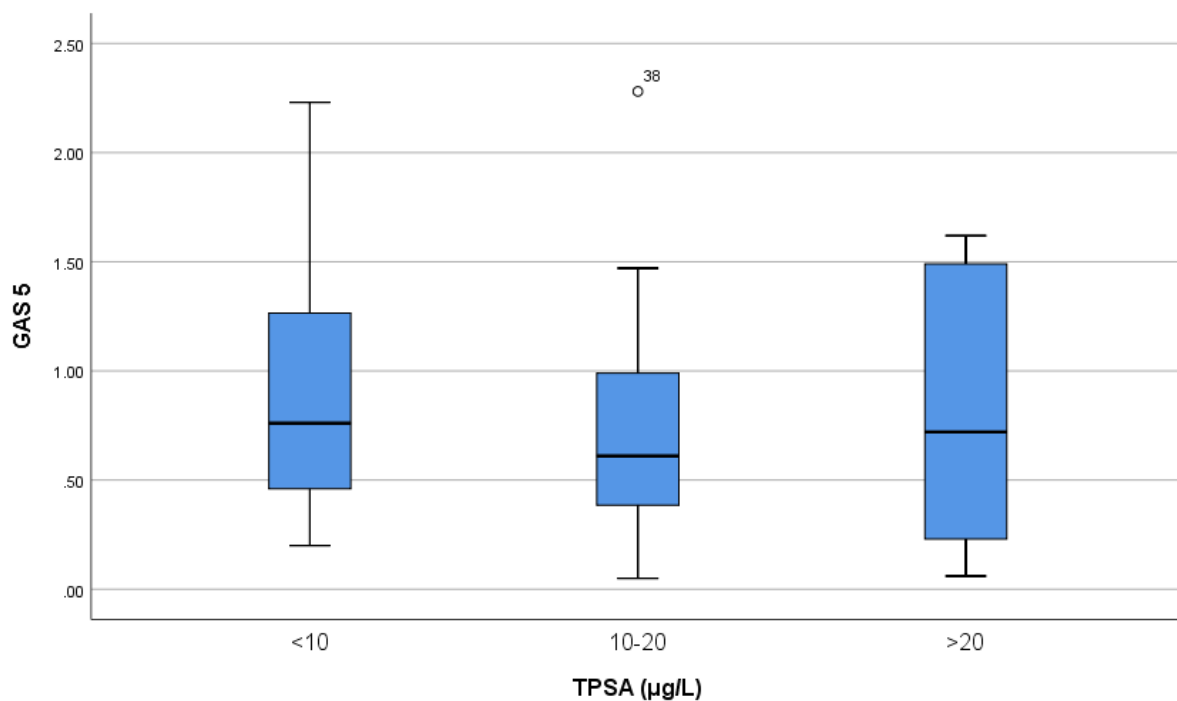
Графикон 19. Вредности нивоа експресије *GAS5* у односу на *Gleason* скор (*ISUP* градусне групе) приказане као медијана са интеркварталним распоном.



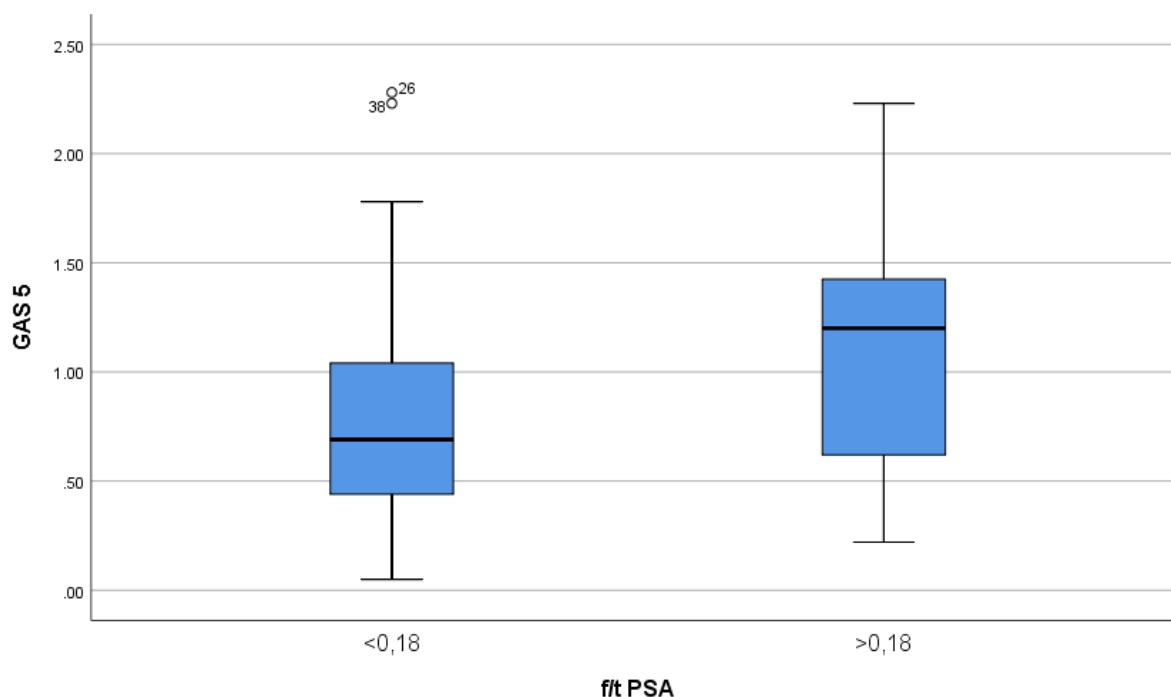
Графикон 20. Вредности нивоа експресије *GAS5* у односу на *T* стадијум приказане као медијана са интеркварталним распоном.



Графикон 21. Вредности нивоа експресије *GAS5* у односу на *CT* налаз увећаних лимфних нодуса (краћи дијаметар $> 8 \text{ mm}$) у малој карлици приказане као медијана са интеркварталним распонем.



Графикон 22. Вредности нивоа експресије *GAS5* у односу на *PSA* приказане као медијана са интеркварталним распонем.



Графикон 23. Вредности нивоа експресије *GAS5* у односу на *f/tPSA* приказане као медијана са интеркварталним распоном.

Ако пацијенте групишемо према *PSA* у три групе, <10 , од $10-20$ и $>20 \mu\text{g/L}$ видимо да се опет не добија статистички значајна разлика у вредностима нивоа експресије *GAS5* (Графикон 22). Просечне вредности приказане као медијана са интеркварталним распоном су биле код групе где је *PSA* $<10 \mu\text{g/L}$ $0,76$ ($0,45-1,30$), код групе од $10-20 \mu\text{g/L}$ $0,61$ ($0,33-1,06$), док је код групе $>20 \mu\text{g/L}$ вредност *lncRNA GAS5* била $0,72$ ($0,22-1,50$) (Kruskal-Wallis test; $p=0,503$).

Ако пак пацијенте групишемо према *f/tPSA* у две групе, $<0,18$ и $>0,18$ видимо да се опет не добија статистички значајна разлика у вредностима нивоа експресије *GAS5* (Графикон 23). Просечна вредност приказана као медијана са интеркварталним распоном код групе где је *f/tPSA* $<0,18$ је била $0,69$ ($0,42-1,05$), док је код групе где је *f/tPSA* $>0,18$ била $1,20$ ($0,62-1,52$) (Mann-Whitney U test; $p=0,089$). Иако није нађена статистички значајна разлика, јасан је тренд да код пацијената са вишим вредностима *f/tPSA* $>0,18$ постоји и виша вредност нивоа експресије *GAS5*.

Ако се пацијенти са карциномом простате поделе на две групе, оне који су имали на *CT*-у лимфне нодусе краћег дијаметра већег од 8 mm у малој карлици и оне који нису, онда видимо да у односу на *PSA* и *f/tPSA* није нађена статистички значајна разлика. Они који нису имали увећане лимфне нодусе имали су *PSA* у просеку $9,55 \mu\text{g/L}$ са интеркварталним распоном од $7,01-14,70 \mu\text{g/L}$, док је у групи пацијената са увећаним лимфним нодусима виђеним на *CT*-у медијана је била $7,25 \mu\text{g/L}$ са распоном од $4,50-24,58 \mu\text{g/L}$ (Mann-Whitney test; $p=0,692$).

Слично је и са *f/tPSA* који је код групе пацијента са карциномом простате без лимфних нодуса краћег дијаметра већег од 8 mm у малој карлици на *CT*-у био $0,12$ ($0,09-0,17$), док је у групи пацијената са нодусима већим од 8 mm у малој карлици на *CT*-у био $0,19$ ($0,07-0,24$) (Mann-Whitney test; $p=0,184$).

4.6. Корелација нивоа експресије *GAS5* у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно са другим варијаблама

Између нивоа експресије *GAS5* и осталих маркера за карцином простате није показана статистички значајна корелација (Табела 19). Значајна позитивна корелација је показана са *CT* налазом лимфних нодуса у малој карлици $> 8 \text{ mm}$ (Spearman's $\rho=0,312$, $p=0,035$), односно код присуства увећаних лимфних нодуса налазе се више вредности овог биомаркера.

Поређењем односа између *N* стадијума према *TNM* класификацији у патохистолошким налазима и *CT* виђеним лимфним нодусима већим од 8 mm у малој карлици, нађена је статистички значајна разлика (Chi-square test; $p=0,046$). Четири пацијента имало је позитиван патохистолошки налаз, а од тога су два пацијента имала на *CT*-у позитиван налаз, а два нису. Међутим, четири пацијента која нису имали патохистолошки промене у лимфним нодусима, на њиховим *CT* налазима лимфни нодуси су виђени као увећани, тако да је на *CT*-у од укупно 6 пацијената који су имали лимфне нодусе веће од 8 mm у малој карлици код свега два пацијената потврђен патохистолошки позитиван налаз.

Табела 19. Корелација нивоа експресије *GAS5* са осталим маркерима за карциномом простате

		<i>lncRNA GAS5</i>	<i>PSA</i>	<i>fPSA</i>	<i>f/tPSA</i>
<i>lncRNA GAS 5</i>	r	1,000			
	p				
<i>PSA</i>	r	-0,145	1,000		
	p	0,270			
<i>fPSA</i>	r	-0,068	0,719	1,000	
	p	0,606	<0,001		
<i>f/tPSA</i>	r	0,132	-0,348	0,306	1,000
	p	0,315	0,006	0,017	

Spearman's rho

Мултирегресионом анализом добијен је статистички значајан модел ($F=1,935$; $p=0,050$) који објашњава 35,4% варијабилности зависне променљиве, тј. нивоа експресије *GAS5*. У овом моделу као значајне варијабле показале су се конзумирање алкохола, *T* стадијум, *AJCC* прогностичка група и присуство *CT* лимфних нодуса у малој карлици $> 8 \text{ mm}$ (Табела 20).

Иако се и конзумирање алкохола показало као значајан фактор који утиче на ниво експресије *GAS5* у плазми, просечне вредности овог биомаркера код пацијената који конзумирају алкохол и оних који не конзумирају алкохол износиле су 0,57 (0,39-0,97) *vs.* 0,79 (0,43-1,24), и нису биле статистички значајно различите, иако је ипак показана већа вредност овог биомаркера у групи пацијената који не конзумирају алкохол (Mann-Whitney U test; $p=0,346$).

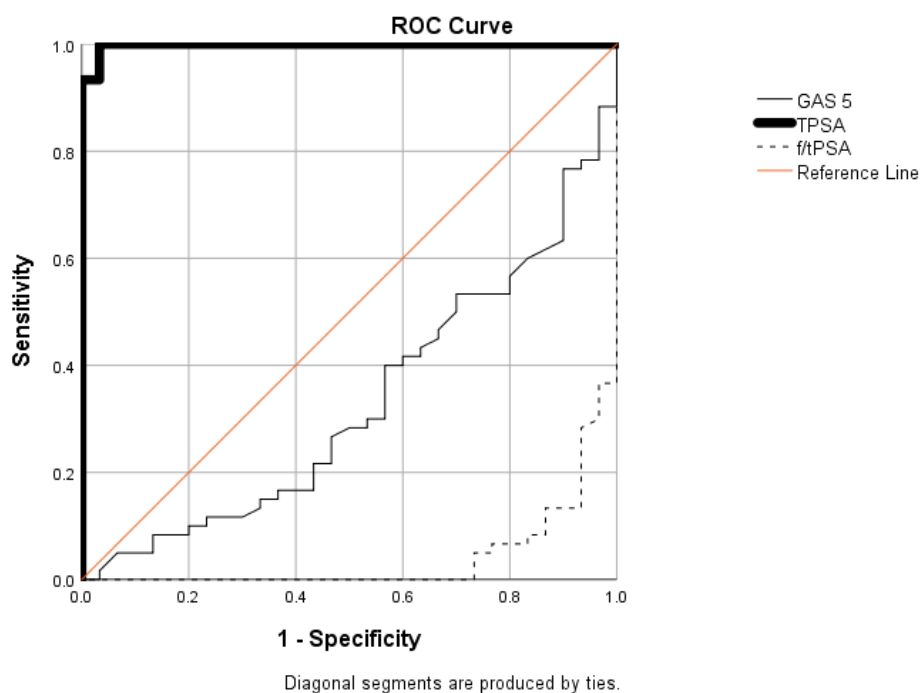
4.7. Прогностичка вредност нивоа експресије *GAS5* у плазми код пацијената са карциномом простате преоперативно

ROC анализа биомаркера за простату и нивоа експресије *GAS5* је показала да *PSA* има најбољу прогностичку вредност у предикцији пацијената да ли имају карцином простате или припадају здравој групи (Графикон 24 и Табела 21). Сви пацијенти који су имали вредност *PSA* преко 2,575 $\mu\text{g/L}$ у 100% случајева припадали су групи са карциномом простате. Слично, сензитивности и специфичност овог маркера је била висока, тако да је свега 3,3% пацијената означено лажно позитивно. Што се тиче *GAS5*, сви пацијенти који су имали вредност овог маркера испод 0,875 у 40% случајева припадали су групи са карциномом простате. Специфичност је била 43%, тако да је око половине пацијената означено лажно позитивно овим маркером.

ROC анализа биомаркера за простату и нивоа експресије *GAS5* у групи пацијената са преоперативним карциномом простате је показала да поново *PSA* има најбољу прогностичку вредност у предикцији тежине пацијената према *AJCC* прогностичким групама (Графикон 25 и Табела 22). Сви пацијенти који су имали вредност *PSA* преко 8,940 $\mu\text{g/L}$ у 73,3% случајева припадали су *AJCC* групама 3 и 4. Такође, и овде је показана висока специфичност, тако да је 36,7% пацијената означено лажно позитивно овим маркером. Што се тиче *GAS5*, сви пацијенти који су имали вредност овог маркера испод 1,005 у 40% случајева припадали су *AJCC* групама 3 и 4. Специфичност је била 70%.

Табела 20. Мултирегресиона анализа- зависна варијабла је ниво експресије GAS5

	Нестандардизовани кофицијенти		Стандардизовани кофицијенти	<i>p</i> вредност
	B	Стандардна грешка	Beta	
(Константа)	0,101	1,094		0,927
Старост	0,011	0,013	0,118	0,401
Породична анамнеза	0,031	0,173	0,024	0,857
Индекс телесне масе	-0,037	0,025	-0,216	0,148
Пушење	-0,183	0,197	-0,123	0,356
Конзумирање алкохола	-0,366	0,159	-0,310	0,026
PSA	0,040	0,026	0,917	0,135
<i>f</i>PSA	-0,270	0,172	-0,872	0,125
<i>f/t</i>PSA	2,921	2,742	0,259	0,292
ISUP градусне групе	0,110	0,105	0,178	0,299
T стадијум	0,785	0,378	0,702	0,044
Туморски волумен	0,000	0,006	0,014	0,943
AJCC прогностичке групе	-1,074	0,382	-0,970	0,007
CT лимфни нодуси у малој карлици > 8 mm	0,868	0,258	0,470	0,002

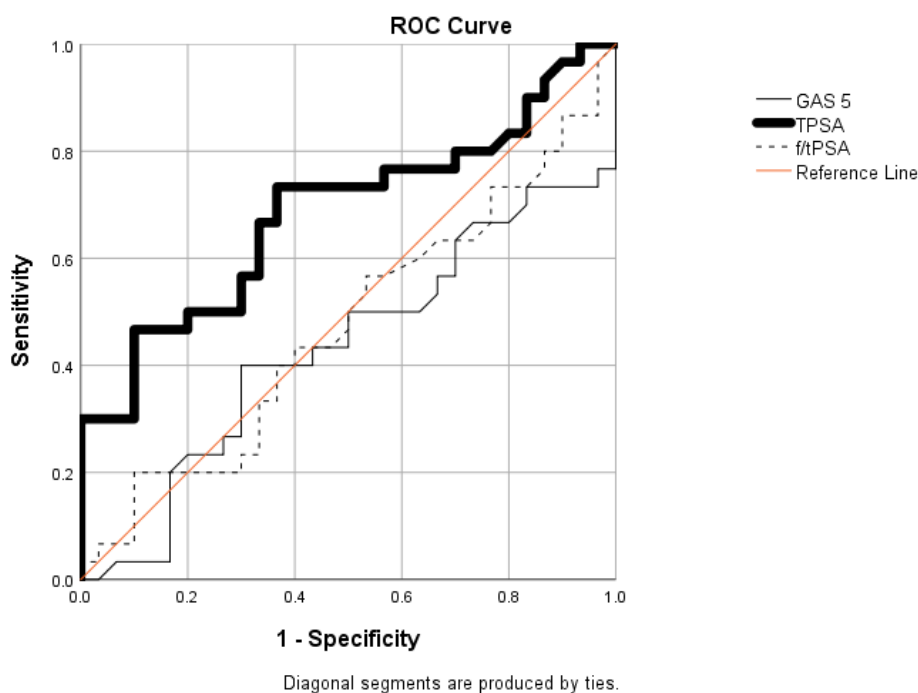


Графикон 24. ROC анализа биомаркера за простату и нивоа експресије GAS5.

Табела 21. ROC анализа биомаркера за простату и нивоа експресије GAS5.

	АУЦ	<i>p</i> вредност	95% интервал поверења		сензитивност	специфичност	гранична вредност
			доњи	горњи			
<i>lncRNA</i> <i>GAS5</i>	0,330	0,009	0,215	0,446	40%	43%	0,875
<i>PSA</i>	0,998	<0,001	0,993	1,000	100%	96,7%	2,575
<i>f/tPSA</i>	0,040	<0,001	0,003	0,076	28,3%	6,7%	0,168

АУЦ- површина испод криве



Графикон 25. ROC анализа биомаркера за простату и нивоа експресије *GAS5* у групи пацијената са карциномом простате у односу на *AJCC* прогностичке групе.

Табела 22. ROC анализа биомаркера за простату и нивоа експресије *GAS5* у групи пацијената са карциномом простате у односу на *AJCC* прогностичке групе.

	АУЦ	<i>p</i> вредност	95% интервал поверења		сензитивност	специфичност	гранична вредност
			доњи	горњи			
<i>lncRNA GAS5</i>	0,433	0,075	0,285	0,580	40%	70%	1,005
<i>PSA</i>	0,686	0,070	0,549	0,549	73,3%	63,3%	8,940
<i>f/tPSA</i>	0,472	0,075	0,324	0,324	56,7%	46,7%	0,117

АУЦ- површина испод криве

5. Дискусија

Статистички подаци на глобалном нивоу недвосмислено указују на чињеницу да карцином простате представља један од најзначајнијих малигнитета данашњице. Карцином простате се налази на четвртном месту по учесталости у општој популацији, док је код мушкараца на другом месту (1). С друге стране, иако је висока учесталост тумора, смртни исход од овог тумора је значајно мањи у односу на преваленцију броја оболелих од овог тумора, тако да је у мушкој популацији 6,7% смртних случајева од свих малигнитета повезано са карциномом простате. На основу глобалних процена очекује се експанзија карцинома простате у будућности, тако да је процена да ће се у наредних десет година јавити 1,7 милиона новооболелих пацијената од овог малигнитета са скоро пола милиона смртних случајева (4).

Статистички подаци за Србију показују да су резултати слични као и на глобалном нивоу. Карцином простате је на петом месту у општој популацији, а на трећем месту у популацији мушкараца (7). Ако се погледа стопа смртности, онда се види да карцином простате однесе 8,6% смртних случајева од свих малигнитета код мушке популације у Србији.

Карцином простате се најчешће презентује локалним симптомима и знацима у виду симптома доњег уринарног тракта, хематурије, хематоспермије, еректилне дисфункције и ретенције урина. Уснапредовала болест се манифестује пре свега кахексијом, остеопенијом, лимфедемом или дубоком венском тромбозом доњих екстремитета, лимфаденопатијом, трабекулизацијом мокраћне бешике и дилатицијом мокраћне бешике због ниске опструкције уринарних путева (123).

Настанак карцинома простате је повезан са многим факторима ризика. Оно што се може издвојити су године старости, генетичка предиспозиција, расна припадност итд. (8). Карцином простате углавном погађа популацију старију од 50 година живота, при чему је просечна старост у тренутку постављања дијагнозе скоро 66 година, док је у млађој популацији реткост (1, 10). Слично је показано и у овој студији. Пацијенти са карциномом простате су били у просеку старости 68 година, док је медијана старости код контролне групе била 39 година. У истраживањима спроведеним у Америци је показано да се са годинама старости очекује све већа учесталост карцинома простате. Њихове процене су да се 64% нових случајева карцинома простате јавља код популације мушкараца старије од 65 година (124). Због тога одређена удружења уролога препоручују обавезно тестирање нивоа биомаркера простате, пре свега *PSA*, након 55. године, што може утицати на вишу стопу новооболелих случајева која се региструје у млађој популацији од очекиване, јер се на овај начин скринингом често откривају асимптоматски случајеви у раном стадијуму (125).

Позитивна породична анамнеза, односно генетичка и фамилијарна предиспозиција су такође веома важни фактори ризика за настанак карцинома простате (16). Ово се може објаснити не само наслеђеним генетичким варијацијама (мутацијама) које су везане за развој карцинома простате, већ и сличном изложености одређеним канцерогенима из околине и сличним животним навикама. У овој студији, у групи пацијената са карциномом простате показано је да је стопа позитивне породичне анамнезе везане за присуство карцинома простате код блиских рођака била чак 23,4%, што је донекле слично резултатима других студија. Према доступној литератури око 20% пацијената са карциномом простате има позитивну породичну анамнезу (16). У контролној групи је свега 10% испитаника имало позитивну породичну анамнезу. Ако

је позната чињеница да се карцином простате јавља 6-7 година раније код пацијената са позитивном породичном анамнезом у односу на оне са негативном, онда је очекивано да овакве пацијенте треба подвргнути редовном скринингу (20).

Од осталих фактора ризика који се повезују са настанком карцинома простате могу се издвојити индекс телесне масе, физичка и сексуална неактивност, пушење и умерено конзумирање алкохолних пића (1). У овој студији је показано најпре да је конзумирање алкохола било присутно код 23,4% пацијената са карциномом простате, док је у контролној групи било значајно чешће, чак 46,7%, што може допринети ранијем јављању овог карцинома код контролне групе. У претходним студијама је показано да постоји позитивна веза између умерене конзумације алкохола и ризика од рака простате (126). У једној од најновијих студија у овој области донет је општи закључак да је висок унос алкохолних пића, посебно прекомерно опијање, повезан са повећаним ризиком за развој карцинома простате, и овај ефекат није ограничен на одређену врсту пића (127). Конзумирање алкохола је такође директно повезано са смртношћу од карцинома простате јер може убрзати раст тумора и значајно скратити време за прогресију овог карцинома. Стога су у овом раду дате препоруке да се одмах престане са конзумирањем алкохола код пацијената са већ постављеном дијагнозом карцинома простате.

Индекс телесне масе је у негативној јакој корелацији са појавом карцинома простате (128). Показано је да популација гојазних са индексом телесне масе преко 30 kg/m^2 има мањи ризик за појаву карцинома простате од испитаника који су били нормално ухрањени, односно који су имали индекс телесне масе у распону од 23-24,9 kg/m^2 . То се може објаснити чињеницом да је гојазност, односно већа количина масног ткива повезана са нижим концентрацијама тестостерона у циркулацији, па се у наведеној студији сугерише хипотеза о јакој повезаности андрогена са раним настанком карцинома простате. У овој студији пацијенти са карциномом простате имали су индекс телесне масе у просеку 26,93 kg/m^2 . Са друге стране у контролној групи је индекс телесне масе био сличан, 27,62 kg/m^2 . Овакви резултати указују на сличне чињенице као и у представљеној студији, да пацијенти са нижим индексом телесне масе могу имати већи ризик од настанка карцинома простате. С обзиром да је индекс телесне масе код контролне групе незнатно већи у односу на оболеле пацијенте, може се спекулисати са тим да и код контролне групе постоји повећани ризик од настанка карцинома простате. Међутим, ову заштитну улогу гојазности не треба гледати индивидуално, јер гојазни пацијенти су склони многим другим коморбидитетима (129). Генерално се сматра да повећана андрогена стимулација (нпр. нижи индекс телесне масе) повећава ризик од наследног карцинома простате више пута у односу на спорадични карцином простате, који се обично јавља у каснијој животној доби и чини се да је мање директно повезан са андрогеном стимулацијом (128). Ако се једна од мутација повезаних са карциномом простате наследи, појачана андрогена стимулација може бити довољна да повећа инциденцу карцинома простате. Насупрот томе, они који немају наследну склоност генерално захтевају континуирану изложеност факторима ризика животне средине, као што је на пример хронична инфламација (хронична упала простате).

Физичка неактивност је показана код свега 3,3% пацијената са карциномом простате, док је код контролне групе била већа, 6,7% испитаника. У једној метаанализи је показано да је физичка активност корисна у спречавању рецидива болести и побољшању преживљавања након дијагнозе и лечења карцинома простате (130). Ипак, коначан доказ о повезаности између редовне физичке активности и ниског ризика од карцинома простате и даље остаје недостижан. Али, с обзиром на многе друге

здравствене предности активног начина живота, физичка активност се може препоручити као потенцијално корисна мера, па и у превенцији карцинома простате.

У овој студији, пушење је било чешће у контролној групи, 36,7%, у односу на групу пацијената оболелих од карцинома простате где је стопа пушења била свега 16,7%. У једној метаанализи је показано да пушење није фактор ризика за настанак карцинома простате (RR = 1,04; 95% CI = 0,87, 1,24) (131). Међутим, ако се подаци стратификују према броју попушених цигарета, онда је показано да пушење јесте значајан фактор ризика (цигарете по дану или години: RR = 1,22; 95% CI = 1,01, 1,46; пакло-година: RR = 1,11; 95% CI = 1,01, 1,22). Бивши пушачи су такође имали повећан ризик (RR = 1,09; 95% CI = 1,02, 1,16). Активни пушачи су имали повећан ризик од карцинома простате са леталним исходом (RR = 1,14; 95% CI = 1,06, 1,19). Најстраственији пушачи имали су 24% до 30% већи ризик од смрти од карцинома простате него непушачи.

Што се тиче сексуалне активности, код пацијената оболелих од карцинома простате у овој студији импотенција је била присутна у 6,7% њих, а изражене тегобе код још 20%. Нормалну сексуалну функцију је имало свега 43,3% пацијената. За разлику од тога, у контролној групи само један испитаник је имао повремене тегобе. Ово иде у прилог тврдњама да је карцином простате значајно повезан са сексуалном функцијом пацијената. У једној метаанализи је показано да су мушкарци са мањим бројем сексуалних партнера, старијим годинама при првом сношају и умерено учесталом ејакулацијом имали значајно смањен ризик од настанка карцинома простате (132). Постоје и опречни резултати, па је тако у једној студији показано да је појачана сексуална активност била повезана са смањеним ризиком од карцинома простате (133).

У свакодневној клиничко-уролошкој пракси од 2018. године се најчешће користи VIII ревизија *TNM* система класификације за одређивање клиничког стадијума карцинома простате, који се заснива на процени локалне захваћености простате тумором (*T*), нодалном статусу (*N*) и постојању удаљених метастаза (*M*) (21). Са друге стране, за процену степена малигнитета карцинома простате користи се *Gleason* скор, који представља систем градирања карцинома простате на основу његовог патохистолошког изгледа у пет градусуса. Најпре се оцењује патохистолошка слика која доминира (примарна структура) градусом од 1 до 5, а затим мање заступљена структура (секундарна структура) која се оцењује такође градусом са 1 до 5. *Gleason* скор представља збир првог и другог доминантног патохистолошког градусуса. Више вредности *Gleason* скорa представљају индикатор агресивности тумора и лошије прогнозе. На основу *TNM* класификације, концентрације *PSA* и градусне групе (*Gleason* скор) пацијенти са карциномом простате се деле у четири *AJCC* прогностичке групе. На основу *AJCC* скорa, у овој студији је било 30 пацијената са скором 1 и 2, и 30 пацијената са скором 3 и 4.

Ширење карцинома простате унутар и ван капсуле простате је доста карактеристично. Хистолошке карактеристике које се сматрају специфичним за дијагнозу карцинома простате укључују екстрапростатично ширење туморског ткива, као и унутар ткива простате, налаз перинеуралне инвазије, колагене микронодусе и гломерулоидне интрагландуларне структуре (134). Перинеурална инвазија је генерално обележје карцинома простате. У целој простати, перинеурална инвазија се може наћи у високом проценту, од 84% до 94% у различитим референцама (134). У *FNAB* биоптатима ткива простате код око једне четвртине случајева показана је перинеурална инвазија (135). Само присуство простате у непосредној близини нерва није, међутим, дефинитивна дијагноза малигнитета. Бенигне жлезде простате могу да се наслањају на

нерве или да их обавијају (136). Због тога, треба се увек ослонити на цитолошке карактеристике епителних ћелија око нерва да би се разликовао бенигни од малигног перинеуралног епитела. Код пацијената у овој студији перинеурална инвазија је била присутна код чак 85% пацијената са карциномом простате, што је слично налазима из претходно описане литературе.

Перилимфатична и периваскуларна инвазија епителним ћелијама простате се такође може посматрати као специфичан налаз за постављање дијагнозе малигнитета. Овај налаз се међутим ретко среће у ткиву након *FNAB* простате, док се код радикалне простатектомије може наћи у широком распону од 5-53% случајева. Интрапростатична лимфоваскуларна инвазија је повезана са вишим градусом тумора, волуменом простате и стадијумом тумора, а повезана је и са повећаним ризиком од биохемијског оштећења, удаљених метастаза и смањеним укупним преживљавањем након радикалне простатектомије (137, 138). Некада, да би се заиста видела права лимфоваскуларна инвазија може се захтевати имунохистохемија за ендотелне ћелије. У овој студији перилимфатичну инвазију је имало 75% пацијената, док је периваскуларна инвазија била присутна код 20% пацијената са карциномом простате.

У једној студији је праћено 130 пацијената више од 10 година након радикалне простатектомије. Од 112 пацијената који нису имали захватање лимфних чворова у карлици, 62 пацијента је показивало да капсула простате није инфилтрирана, док је код 24 постојала капсуларна инвазија без пенетрације, а код 26 је постојала и трансапсуларна инвазија (139). Стопа десетогодишњег преживљавања без малигнитета је била 69,4% код пацијената без капсуларне инвазије, односно 66,7% код пацијената код којих је постојала капсуларна инвазија. Код трансапсуларне инвазије стопа преживљавања је била значајно смањена, на 38,5%. Укупна стопа прогресије је значајно већа код пацијената са трансапсуларном инвазијом (46,2%), у поређењу са онима са одсуством ове врсте инвазије капсуле (21%), као и са онима који имају само капсуларну инвазију без пенетрације кроз капсулу (25%). Због тога се може рећи да је трансапсуларна инвазија лош прогностички индикатор, који објашњава смањено очекивано преживљавање и већу стопу прогресије након радикалне простатектомије. У овој студији је показано да је капсуларна инвазија била заступљена код 71,7% пацијената са карциномом простате, док је трансапсуларна инвазија била присутна код 40% пацијената.

Инвазија семених кесица није тако честа. У овом истраживању захватање семених кесица је регистровано код само 15% пацијената са карциномом простате. Слично је показано и у једној другој студији, где је стопа захватања била 17,6% (140). Инвазија семених везикула се генерално сматра маркером лоше прогнозе ако се нађе патохистолошки након радикалне простатектомије. Показано је да присуство инвазије семених кесица даје седмогодишње стопе преживљавања од 32%, док је код пацијената где није било овакве инвазије на патохистолошком налазу седмогодишња стопа преживљавања била 67%.

PSA представља простата специфичан туморски маркер који је високо сензитиван, али његову ману представља нижа специфичност за карцином простате (29). У серуму је заступљен у више молекулских форми. Око 60-95% *PSA* у серуму је комплексни *PSA* који је везан за серумске протеине. Око 5-40% се налази у невезаној форми, као слободни *PSA* (*fPSA*) (32). Код карциномом простате, *PSA* који продукују туморске ћелије је чешће у форми комплексног *PSA*, тако да долази до повећања концентрације *PSA* као комплексне форме и последичног смањења концентрације слободне форме *PSA* (33). Односно, пацијенти са карциномом простате имају нижи

ниво *fPSA* у серуму, а самим тим и нижи однос слободног и укупног *PSA* (*f/tPSA*). Студије су показале да је ризик од карцинома простате висок (55%) када су вредности *f/tPSA* биле од 0-10%, као и да ризик опада са порастом вредности *f/tPSA*, тако да при вредностима *f/tPSA* преко 25% ризик од карцинома простате износи 5-9%. Вредност *f/tPSA* мања од 25% открива 95% карцинома простате (34).

У овој студији је показано да су вредности *PSA* и *fPSA* маркера биле значајно веће у групи пацијената са карциномом простате у односу на контролну групу. *PSA* је у просеку био 9,50 $\mu\text{g/L}$ код пацијената са карциномом простате, што одговара повишеним вредностима, јер је референтна вредност за ову старост мања од 5,40 $\mu\text{g/L}$ (године живота од 60-69), док је код старијих од 70 референтна вредност мања од 6,22 $\mu\text{g/L}$, а код старости од 50-59 година је мања од 3,89 $\mu\text{g/L}$. *PSA* у контролној групи био је у просеку 0,68 $\mu\text{g/L}$, што одговара нормалним вредностима. Насупрот томе, вредност *f/tPSA* била је статистички значајно већа у контролној групи у односу на пацијенте са карциномом простате (медијане: 0,36 vs. 0,13). *fPSA* је био 1,20 $\mu\text{g/L}$, док је *f/tPSA* био $0,13 \pm 0,05$ у групи пацијената са карциномом простате, што одговара сниженој вредности овог индекса, јер је нормална вредност *f/tPSA* преко 0,18. *fPSA* је био 0,26 $\mu\text{g/L}$, док је *f/tPSA* био $0,36 \pm 0,15$ у контролној групи, што опет одговара нормалној вредности овог индекса. С обзиром на велику сензитивност *PSA* маркера, он се данас користи као златни стандард за скрининг, али и за праћење терапијског одговора код пацијената са обољењима простате (125). Показано је да се чак 96% карцинома простате код мушкараца млађих од 55 година открије захваљујући њиховом обавезном тестирању (141). Овим анализама као и у свим другим студијама је недвосмислено потврђена улога *PSA* маркера у скринингу пацијената.

Иако се *PSA* користи већ дуго за скрининг карцинома простате, ипак напредовање медицине, посебно имуногенетике, довело је до тога да се проналазе и други биомаркери који би могли имати значајно место у процени ефикасности терапије, али и раном скринингу пацијената на карциномом простате (92). У прошлости, скрининг карцинома простате се заснивао искључиво на одређивању *PSA* и *DRE*. Међутим, новији подаци из литературе указују на прогностички и предиктивни значај генетичких карактеристика (односно генетичких варијација) у карциному простате (142-145). Један од таквих биомаркера је и *GAS5*, тумор супресорска *lncRNA* чија експресија је смањена у ткивима у фази раста, али је повећана у периоду мировања, тако да његова нижа експресија може предвидети лошију прогнозу (146). Недавни подаци су показали да су нивои *GAS5* значајно смањени како у ткивима различитих тумора, тако и у плазми ових пацијената (147). Такође, нивои *GAS5* су значајно смањени у ткивима и ћелијским линијама карцинома простате (148).

У овој студији, просечна вредност нивоа експресије *GAS5* у плазми пацијената са карциномом простате била је 0,71 (0,44-1,19), што је било значајно ниже од нивоа експресије у плазми пацијената из контролне групе где је износила 1,11 (0,67-1,61). У недавним студијама које су рађене код неситноћелијског карцинома плућа (engl. *non-small-cell lung cancer- NSCLC*) добијени су слични резултати и показано је да је ниво експресије *GAS5* био значајно нижи код оболелих пацијената у односу на контролну групу (147, 149). Слични резултати, односно нижи ниво експресије *GAS5*, добијени су и у истраживањима која су рађена код пацијената са карциномом дојке и дифузним Б-крупноћелијским лимфомом (engl. *diffuse large B-cell lymphoma- DLBCL*) (150, 151). На основу тога се може претпоставити да *GAS5* као неинвазивни биомаркер није апсолутно специфичан за одређену врсту тумора. Истовремено, повећана експресија *GAS5* се наводи као потенцијални заштитни фактор, јер може да изазове апоптозу ћелија и заустави ћелијски циклус у ћелијама карцинома простате (152).

Истовремено, резултати у овој студији показали су да се ниво експресије *GAS5* није значајно разликовао код пацијената са карциномом простате из прве подгрупе (*AJCC* прогностичке групе 1 и 2) и здравих особа (медијане: 0,72 vs. 1,11; $p=0,066$), мада је резултат био близу статистичке значајности. Међутим, нивои експресије *GAS5* су се значајно разликовали између пацијената из друге подгрупе (*AJCC* прогностичке групе 3 и 4) и здравих особа (медијане: 0,66 vs. 1,11; $p=0,007$). Досадашње студије на пацијентима са *NSCLC* такође нису показале разлику у експресији *GAS5* између пацијената са тумором у раном стадијуму (*TNM* стадијум *I/II*) и здравих контрола, али је зато постојала очигледна разлика код пацијената у *III TNM* стадијуму. Штавише, ова студија је доказала да је циркулишући *GAS5* био моћан предиктор величине тумора, пошто су пацијенти са туморима већим од 3 cm имали значајно смањену експресију у поређењу са пацијентима са туморима ≤ 3 cm (149). Овакви резултати су очекивани пошто је *GAS5* у функцији туморског супресора.

Осим тога, у овој студији је анализиран ниво експресије *GAS5* у односу на старост пацијената (као једног од фактора ризика) са карциномом простате, при чему није пронађена статистички значајна разлика између пацијената млађих и старијих од 65 година (0,73 vs. 0,61). Статистички значајна разлика није пронађена ни између пацијената са карциномом простате млађих и старијих од 65 година у првој (0,74 vs. 0,62) и другој (0,72 vs. 0,59) подгрупи (*AJCC*). У студијама које су спроведене на пацијентима са колоректалним карциномом и малигним мезотелијомом, такође није уочена повезаност нивоа експресије *GAS5* са старошћу пацијената, што се подудара са резултатима ове студије (153, 154).

Посматрајући, у контролној групи, повезаност нивоа експресије *GAS5* са појединим факторима ризика за настанак карцинома простате, као што су пушење и конзумирање алкохола, није нађена статистички значајна разлика (пушење 1,52 vs. 0,81, конзумирање алкохола 1,16 vs. 1,10), мада је ова разлика у односу на пушачки статус била близу границе значајности ($p=0,057$). Слични резултати везани за пушачки статус добијени су у студији на пацијентима са малигним мезотелијомом (154), док подаци везани за конзумирање алкохола нису пронађени у доступној литератури.

Како су досадашња истраживања показала, код многих тумора је поремећена регулација *lncRNA*, тако да ове секвенце имају улогу или онкогена или тумор супресора. Такође, *lncRNA* су дефинитивно показале потенцијал као биомаркери у дијагнози и прогнози код многобројних тумора- гатроинтестиналних (карцином желуца, колоректални карцином), малигног мезотелиома, уролошких малигнитета, карцинома дојке, карцинома плућа, акутне мијелоидне леукемије, лимфома, меланома, глиома, остеосаркома, карцинома штитасте жлезде, карцинома главе и врата, карцинома јајника, карцинома грлића материце итд. (155). Истовремено, показано је да је *GAS5* специфичан за заустављање раста и да може да функционише као тумор супресор код неколико карцинома. Ниво експресије *GAS5* је био смањен код многих врста карцинома (колоректални карцином, карцином дојке, плућа), чиме је претпостављено да овај биомаркер регулише ћелијске процесе као што су пролиферација ћелија, апоптоза и инвазија. Низак ниво експресије *GAS5* често је повезан са повећаним степеном пролиферације и лошијом прогнозом код различитих врста карцинома. У многим студијама је показана и повезаност ниже експресије *GAS5* са патохистолошким карактеристикама, као што су *TNM* стадијум, патохистолошки градус, величина тумора, постојање удаљених метастаза итд. Са друге стране, повећана експресија *GAS5* повезана је са смањеном стопом пролиферације, миграције и инвазије тумора (156). Због тога се у литератури наводи да је откриће *GAS5* пружило нову наду

како пацијентима, тако и лекарима да би овај биомаркер могао послужити као скрининг маркер за многобројне туморе (155).

Недавна студија која је испитивала фармаколошку улогу *lncRNA* показује да експресија *GAS5* корелира са осетљивошћу туморских ћелија на преко 100 хемиотерапијских лекова (157). Због тога је сугерисано да *GAS5* може бити главни биомаркер за одговор на хемотерапеутике. Међутим, овај маркер је одређиван након биопсија из патохистолошког узорка. Новија открића да се *lncRNA* које потичу из туморских ћелија могу открити у плазми у релативно стабилној концентрацији имплицирала су могућу употребу циркулишућих *lncRNA* као неинвазивних дијагностичких биомаркера у различитим патолошким стањима. Истраживања су до сада спроведена за различите типове тумора, укључујући *NSCLC* (149), карцином дојке (150), *DLBCL* (151), малигни мезотелиом (154) и многе немалигне болести, као што је дијабетес типа 2 (158). Међутим, ни једна од студија није одређивала вредност овог маркера у плазми пацијената са карциномом простате.

Између *GAS5* и осталих маркера за карцином простате није показана статистички значајна корелација у овој студији. Међутим, када је урађена мултирегресиона анализа показано је да се добија статистички значајан модел који објашњава 35,4% варијабилности *GAS5*, а од тестираних варијабли статистички значајне су биле конзумирање алкохола, *T* стадијум, *AJCC* група и присуство лимфних нодуса у малој карлици > 8 mm на *CT* прегледу. Код пацијената који конзумирају алкохол показана је статистички незначајно мања вредност *GAS5* у односу на оне који не конзумирају алкохол, што иде у прилог да је конзумирање алкохола повезано са нижим вредностима овог биомаркера и што је лош прогностички знак за исход лечења карцинома простате (127). Када је у питању *T* стадијум, у овој студији такође није добијена статистички значајна разлика у вредностима *GAS5*, односно просечне вредности су биле у другом стадијуму нешто више у односу на трећи стадијум. Слично је показано и у другим студијама да се код вишег *T* стадијума налазе ниже вредности *GAS5* што иде у правцу лоше прогнозе (136). Анализа нивоа експресије *GAS5* у односу на *AJCC* прогностичке групе показала је да постоји статистички незначајна разлика у вредностима *GAS5* у овој студији. У подгрупи пацијената са карциномом простате и са *AJCC* прогностичким групама 1 и 2 медијана вредности је била 0,72, док је у подгрупи оболелих који су припадали *AJCC* прогностичким групама 3 и 4 медијана била 0,66. Оваквим резултатима показано је да се нижи ниво експресије овог биомаркера може измерити код пацијената са вишим стадијумима болести. Слично је нађено и у другим студијама, код пацијената са различитим врстама карцинома (149, 153). У једној метаанализи је показано да *GAS5* као биомаркер може имати и прогностичку улогу јер је доказано да пацијенти са различитим врстама малигнитета и са нижим нивоима овом маркера имају лошију прогнозу и већу локалну и удаљену раширеност болести (159).

CT грудног коша, абдомена и мале карлице уобичајено се користи у стејџингу код пацијената са новодијагностикованим карциномом простате (45), при чему је примарна улога *CT* прегледа код ових пацијената у процени нодалног статуса (*N*). Уобичајено је да се лимфни чворови у малој карлици који су краћег дијаметра > 8 mm и лимфни чворови у осталим регијама који су краћег дијаметра > 10 mm, разматрају као малигно измењени. Резултати студија наводе да је сензитивност *CT*-а у детекцији малигно измењених лимфних чворова мања од 40% (51, 52). У односу на групе добијене поделом према *CT* налазу лимфних нодуса у малој карлици, добијена је статистички значајна разлика у вредностима *GAS5*. Просечне вредности биле су код позитивног налаза лимфних нодуса у малој карлици већих од 8 mm 1,41, а код негативног налаза 0,65. Ова разлика је била статистички значајна, односно код

присуства лимфних нодуса у малој карлици преко 8 *mm* ниво овог маркера је био значајно већи у односу на пацијенте који нису имали овакве промене на *CT*-у. То се може објаснити чињеницом да неки од увећаних лимфних нодуса, када је урађена патохистолошка дијагностика, нису показали да су малигно измењени, иако су били увећани према *CT* налазу. У овој студији четири пацијента је имало позитиван патохистолошки налаз, при чему су два пацијента имала на *CT* позитиван налаз, а два нису. Међутим, код четири пацијената која нису имала патохистолошке промене у чворовима, на њиховим *CT* налазима лимфни нодуси су виђени као увећани, тако да је на *CT*-у од укупно 6 пацијената који су имали лимфне нодусе веће од 8 *mm* у малој карлици код свега два пацијената потврђено патохистолошки позитиван налаз. Управом овим је показана ниска сензитивност *CT* дијагностике у процени нодалног статуса (*N*), што опет оправдава чињеницу да је неопходно пронаћи боље биомаркере за процену узнапредовалости болести и давање прогнозе код пацијената са карциномом простате.

Ако се уради *ROC* анализа биомаркера за простату, показано је у овој студији да *PSA* има најбољу прогностичку вредност у предикцији пацијената да ли имају карцином простате или припадају групи здравих појединаца. Пацијенти са *PSA* преко 2,575 $\mu\text{g/L}$ у 100% случајева су припадали групи са карциномом простате. Висока специфичност овог маркера је такође показана, тако да је свега 3,3% пацијената означено лажно позитивно. Што се тиче *GAS5*, сви пацијенти који су имали вредност овог маркера испод 0,875 у 40% случајева су припадали групи са карциномом простате. Специфичност је била 43%, тако да је око половине пацијената означено лажно позитивно овим маркером.

Са друге стране, у групи пацијената са карциномом простате такође је показано да *PSA* има најбољу прогностичку вредност у предикцији тежине болести према *AJCC* прогностичким групама. Пацијенти са *PSA* преко 8,940 $\mu\text{g/L}$ у 73,3% случајева су припадали *AJCC* групама 3 и 4. И овде је показана висока специфичност (36,7% пацијената означено лажно позитивно). Пацијенти који су имали вредност *GAS5* испод 1,005 у 40% случајева су припадали *AJCC* групама 3 и 4, док је специфичност била 70%.

Овакви резултати могу указивати на велики значај *GAS5* као биомаркера за карцином простате, али су потребна даља истраживања како би се дефинитивно поставиле референтне вредности за овај скрининг тест и на тај начин правилно протумачила предиктивна моћ овог биомаркера. У недавном истраживању код карцинома плућа, показано је да гранична вредност од 0,135 показује сензитивност и специфичност од 24% и 100% у разликовању оболелих пацијената од здравих контрола (149). Међутим, бољи резултати су показани ако се међусобно диференцирају пацијенти који су били у вишем стадијуму болести, тј. у клиничком стадијуму III и IV. Комбиновањем овог маркера са држим маркерима добијају се још бољи резултати. Због тога се може рећи да је ниво експресије *GAS5* повезан са узнапредовалошћу болести, односно да се вредности овог маркера смањују са повећањем стадијума болести (149).

Ако упоредимо биомаркере за простату код пацијената пре и после операције карцинома простате, просечна вредност нивоа експресије *GAS5* је била 0,87 преоперативно, док се ова вредност незнатно смањила постоперативно на 0,72. *PSA* је у просеку био 9,24 $\mu\text{g/L}$ преоперативно, док се ова вредност постоперативно статистички значајно смањила на 0,02 $\mu\text{g/L}$. *fPSA* је био 0,93 $\mu\text{g/L}$ преоперативно, док је постоперативно дошло до статистички значајног пада на 0,02 $\mu\text{g/L}$. Преоперативно *f/tPSA* био је 0,10, док је постоперативно дошло до статистички значајног повећања овог маркера на 0,50. Тиме је показано да се после операције *PSA*, *fPSA* и *f/tPSA*

нормализују. С друге стране, ниво експресије *GAS5* се није значајно променио. У ранијој студији је показано да су се нивои експресије *GAS5* значајно повећали након операције у поређењу са преоперативним нивоима *GAS5* код пацијената са карциномом плућа (160). Нивои експресије *GAS5* могу се користити за разликовање пацијената са карциномом плућа од контролних пацијената са сензитивношћу од 82,2% и специфичношћу од 72,7%. Тиме је показано да је експресија *GAS5* смањена у плазми код пацијената са карциномом плућа. Због тога се ниво експресије *GAS5* у плазми може користити за процену хируршког ефекта и давање прогнозе болести, што је показано и код пацијената са карциномом дојке (150).

Иако у многим анализама није доказана статистички значајна разлика, вероватно због величине узорка, ипак су показани многи трендови који у глобалу могу да покажу да вредности нивоа експресије *GAS5* у плазми имају значаја у разликовању оболелих пацијената од здравих, у идентификацији пацијената у вишим стадијумима болести у односу на оне са нижим стадијумом болести, у процени исхода терапије. Због тога овај биомаркер захтева додатна истраживања, али је неминовно да ће у блиској будућности он, као и поједине друге *lncRNA*, постати веома значајан маркер у скринингу, дијагностици и евалуацији терапије код онколошких болесника.

У студији спроведеној на пацијентима са малигним мезотелиомом, уочена је ниска сензитивност, од свега 14%, када је *GAS5* коришћен као појединачни маркер, комбинација калретинина и мезотелина је показала сензитивност од 64%, али је панел састављен од *GAS5*, калретинина и мезотелина достигао осетљивост од 73% (при унапред дефинисаној специфичности од 97%) (154). Слично, код пацијената са *NSCLC* откривена је јака повезаност нивоа *GAS5* са карциноембрионским антигеном (*CEA*) и карбохидратним антигеном 19-9 (*CA19-9*) ($p=0,017$ и $p=0,001$, респективно) и сугерисано је да је комбинација циркулишућих нивоа *GAS5* са *CEA* и *CA19-9* има више предности у дијагностици раних стадијума *NSCLC*, док је у једном истраживању панел *HOTAIR* и *GAS5* показао добре резултате у процени терапијског одговора код пацијената са *DLBCL* лечених *R-CHOP* терапијом (ритуксимаб-циклофосфамид, доксорубицин, винкрестин и преднизон) (147, 151). Слична ситуација може бити и код карцинома простате, где се *GAS5* мора тумачити заједно са *PSA* и *ftPSA*, па би се на тај начин додатно појачала вредност свих ових биомаркера простате, односно кориговала би се недовољна специфичност *GAS5* искључиво за карцином простате, јер смо већ рекли да овај биомаркер може бити смањен и код других малигнитета. Тиме би се смањила могућност грешке код коришћења овог биомаркера у сврхе најпре скрининга, а затим и у давању дугорочних прогноза током лечења и праћења пацијената са карциномом простате.

GAS5 је генерално укључен у контролу прогресије ћелијског циклуса и апоптозе у великом броју ћелија. Још 2017. године је урађен систематски преглед литературе и метаанализа како би се утврдила клиничка вредност нивоа експресије *GAS5* код пацијената са малигнитетима и изучила његова повезаност са дијагнозом, прогнозом и клиничко-патолошким карактеристикама појединих тумора (161). Показано је да је смањена експресија *GAS5* повезана са краћим укупним преживљавањем ($HR = 2,50$, 95% CI: 1,85-3,38, $p<0,001$) и преживљавањем без поновног јављања болести ($HR = 2,24$, 95% CI: 1,58-3,18, $p<0,001$) код неколико типова тумора. Снижавање нивоа експресије *GAS5* је било у корелацији са смањеним преживљавањем без рецидива код хепатоцелуларног карцинома (*HCC*) и повезано је са метастазама у лимфним нодусима, удаљеним метастазама, лошијим клиничким стадијумом болести, већим димензијама и лошијом диференцијацијом примарног тумора. Показало се да је *GAS5* имао сензитивност од 0,76 и специфичност од 0,64 за дијагнозу малигнитета, а површина

испод криве је била од 0,76 што указује на умерену дијагностичку тачност. Ова метаанализа сугерише да *GAS5* може бити користан дијагностички и прогностички биомаркер малигнитета и да може бити посебно користан за идентификацију пацијената склоних ширењу примарне болести у лимфне нодусе или оних код којих постоји висока шанса за појаву удаљених метастаза.

Са друге стране, лимитираност ових анализа због ограничених ресурса у здравству свакако ће утицати на одлуку да ли је исплативо за здравствено осигурање да плаћа ове скупе методе за одређивање нивоа експресије потенцијалних биомаркера. Постоје подаци да од тренутка постављања дијагнозе, терапија пацијената са карциномом простате у просеку кошта на месечном нивоу \$2.800 (162), што зависи пре свега од терапије, односно врсте терапијских протокола који се примењују, од стадијума болести и других значајних чињеница. Код старијих мушкараца од 70 година код којих се постави дијагноза карцинома простате прве три године лечења коштају у просеку \$14.453 (163). У Сједињеним Америчким Државама процењено је да је десетогодишње лечење у просеку коштало код ниско, средње и високо ризичних пацијената редом \$45.957, \$99.445 и \$188.928 (164). Ако је нижи стадијум болести лечење је јефтиније, мада ови пацијенти имају дуже преживљавање тако да су укупни трошкови лечења свакако велики и код њих. Међутим, ако се сагледа чињеница о експанзији броја новооболелих од карцинома простате (165), онда недвосмислено овакав биомаркер без обзира на цену анализе има своје место, тако да у будућности треба видети да ли ће ове анализе које се за сада раде искључиво у научно-истраживачке сврхе и у спонзорисаним клиничким студијама моћи да прерасту у биомаркере који се користе у свакодневној клиничкој пракси. Тиме би се могла достићи персонализована медицина, односно терапија прилагођена сваком пацијенту према индивидуалним захтевима и карактеристикама, као највиши облик лечења пацијената (166). Они би омогућили адекватно циљано лечење сваког пацијента индивидуално, чиме се очекује да се постигну најбољи резултати лечења (167, 168). Тренутно доступни дијагностички, прогностички и предиктивни параметри представљају, у светлу нових сазнања, само добру основу за проналажење нових специфичних биомаркера, а у светлу терапије они имају место као потенцијална мета за адекватно лечење карцинома простате и других малигнитета.

6. Закључци

На основу резултата који су добијени у овој студији, као и до сада објављених података из литературе, изведени су следећи закључци:

1. Ниво експресије *GAS5* је био статистички значајно виши у контролној групи у односу на групу оболелих пацијената- медијана је била за око 36,04% већа у контролној групи у односу на преоперативну групу пацијената са карциномом простате.
2. Вредности *PSA* и *fPSA* биле значајно веће у групи пацијената са карциномом простате у односу на контролну групу.
3. Вредност *f/tPSA* је била статистички значајно већа у контролној групи у односу на пацијенте са карциномом простате преоперативно.
4. Ниво експресије *GAS5* се незнатно смањило постоперативно у односу на преоперативне вредности.
5. *PSA* и *fPSA* су се статистички значајно постоперативно смањили у односу на вредности које су измерене преоперативно.
6. *f/tPSA* се постоперативно статистички значајно повећао у односу на преоперативне вредности.
7. У односу на *CT* налаз увећаних лимфних нодуса у малој карлици, значајно више вредности нивоа експресије *GAS5* су биле код позитивног налаза лимфних нодуса већих од 8 *mm* у малој карлици у односу на пацијенте који су били без оваквог *CT* налаза.
8. У односу на *AJCC* прогностичке групе, ниво експресије *GAS5* је био у првој подгрупи статистички незначајно виши у односу на другу подгрупу пацијената са карциномом простате.
9. Мултирегесионом анализом добијен је статистички значајан модел који објашњава 35,4% варијабилности нивоа експресије *GAS5* уз помоћ варијабли које су се издвојиле као значајне: конзумирање алкохола, *T* стадијум, *AJCC* група и присуство лимфних нодуса у малој карлици > 8 *mm* на *CT*-у.
10. Ниво експресије *GAS5* је показао да сви пацијенти који су имали вредност овог биомаркера испод 0,875 у 40% случајева су припадали групи пацијената са карциномом простате. Специфичност је била 43%, тако да је око пола пацијената означено лажно позитивно овим биомаркером.
11. Ниво експресије *GAS5* је показао да сви пацијенти који су имали вредност овог маркера испод 1,005 у 40% случајева су припадали *AJCC* прогностичкој групи 3 и 4. Специфичност је била 70%.

7. Литература

1. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol.* 2019;10(2):63-89.
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer.* 2019;144(8):1941-53.
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
4. Bashir MN. Epidemiology of Prostate Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(13):5137-41.
5. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F. Global cancer observatory: cancer today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>, Accessed: June 2020.
6. American Cancer Society. Cancer: Facts & Figures 2015. Atlanta, GA, USA: American Cancer Society; 2015. Available from: <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2015.html>, Accessed: December 2021.
7. Miljuš D, Živković Perišić S, Božić Z. Maligni tumori u Republici Srbiji 2018. Beograd, Srbija: Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut“, Odeljenje za prevenciju i kontrolu nezaraznih bolesti; 2020.
8. Bostwick DG, Burke HB, Djakiew D, Euling S, Ho SM, Landolph J, Morrison H, Sonawane B, Shifflett T, Waters DJ, Timmset B. Human prostate cancer risk factors. *Cancer.* 2004;101(10):2371-490.
9. National Cancer Institute, The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. Cancer Stat Facts: Prostate Cancer 2018. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>, Accessed: December 2021.
10. Jani AB, Johnstone PAS, Liauw SL, Master VA, Brawley OW. Age and Grade Trends in Prostate Cancer (1974-2003), *American Journal of Clinical Oncology.* 2008;31(4):375-8.
11. Shen MM, Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes Dev.* 2010;24(18):1967-2000.
12. Yin M, Bastacky S, Chandran U, Becich MJ, Dhir R. Prevalence of Incidental Prostate Cancer in the General Population: A Study of Healthy Organ Donors. *J Urol.* 2008;179(3):892-5.
13. Wu I, Modlin CS. Disparities in prostate cancer in AfricanAmerican men: what primary care physicians can do. *Cleve Clin J Med.* 2012;79(5):313-20.
14. Haas GP, Delongchamps N, Brawley OW, Wang CY, de la Roza G. The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies. *Can J Urol.* 2008;15(1):3866-71.
15. Templeton AR. Human races: A genetic and evolutionary perspective. *American Anthropologist.* 1998;100(3):632-50.

16. Carroll PR, Grossfeld GD, editors. Prostate cancer. Decker Inc.: Hamilton, ON, Canada; London, UK; 2002.
17. Ferris-i-Tortajada J, Garcia-i-Castell J, Berbel-Tornero O, Ortega-Garcia JA. Constitutional risk factors in prostate cancer. *Actas Urol Esp.* 2011;35(5):282-8.
18. Sridhar G, Masho SW, Adera T, Ramakrishnan V, Roberts JD. Association between family history of prostate cancer. *JMH.* 2010;7:45-54.
19. Zeegers MPA, Jellema A, Ostrer H. Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: A meta-analysis. *Cancer.* 2003;97(8):1894-903.
20. Hemminki K. Familial risk and familial survival in prostate cancer. *World J Urol.* 2012;30(2):143-8.
21. Buyyounouski MK, Choyke PL, McKenney JK, Sartor O, Sandler HM, Amin MB, Kattan MW, Lin DW. Prostate Cancer- Major Changes in the American Joint Committee on Cancer Eighth Edition Cancer Staging Manual. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(3):245-53.
22. Epstein JI, Zelefsky MJ, Sjoberg DD, Nelson JB, Egevad L, Magi-Galluzzi C, Vickers AJ, Parwani AV, Reuter VE, Fine SW, Eastham JA, Wiklund P, Han M, Reddy CA, Ciezki JP, Nyberg T, Klein EA. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur Urol.* 2016;69(3):428-35.
23. Cooner WH, Mosley BR, Rutherford Jr. CL, Beard JH, Pond HS, Terry WJ, Igel TC, Kidd DD. Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen. *J Urol.* 2002;167(2):966-74.
24. Richie JP, Catalona WJ, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL, Waters WB, MacFarlane MT, Southwick PC. Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate-specific antigen and digital rectal examination. *Urology.* 1993;42(4):365-74.
25. Carvalhal GF, Smith DS, Mager DE, Ramos C, Catalona WJ. Digital rectal examination for detecting prostate cancer at prostate specific antigen levels of 4 ng/ml or less. *J Urol.* 1999;161(3):835-9.
26. Gosselaar C, Roobol MJ, Roemeling S, Schröder FH. The role of the digital rectal examination in subsequent screening visits in the European randomized study of screening for prostate cancer (ERSPC), Rotterdam. *Eur Urol.* 2008;54(3):581-8.
27. Stephenson RA, Stanford JL. Population-based prostate cancer trends in the United States: patterns of change in the era of prostate-specific antigen. *World J Urol.* 1997;15(6):331-5.
28. Gallina A, Chun FK, Suardi N, Eastham JA, Perrotte P, Graefen M, Hutterer G, Huland H, Klein EA, Reuther A, Montorsi F, Briganti A, Shariat SF, Roehrborn CG, de la Taille A, Salomon L, Karakiewicz PI. Comparison of stage migration patterns between Europe and the USA: an analysis of 11 350 men treated with radical prostatectomy for prostate cancer. *BJU Int.* 2008;101(12):1513-8.
29. Cerović S, Brajušković G, Vukotić V. Premaligne lezije i karcinom prostate. IP Beograd d.o.o.: Beograd, Srbija; 2009.
30. Stephan C, Jung K, Lein M, Diamandis EP. PSA and other tissue kallikreins for prostate cancer detection. *Eur J Cancer.* 2007;43(13):1918-26.

31. Meng FJ, Shan A, Jin L, Young CYF. The expression of a variant prostate-specific antigen in human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(3):305-9.
32. McCormac RT, Wang TJ, Rittenhouse HG, Wolfert RL, Finlay JA, Lilja H, Okoloff RL, Oesterling JE. Molecular forms of prostate specific antigen and human kallikrein gene family: A new era. *Urology.* 1995;45(5):729-44.
33. Lilja H, Christensson A, Dahlén U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, Lövgren T. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem.* 1991;37(9):1618-25.
34. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, Richie JP, deKernion JB, Walsh PC, Scardino PT, Lange PH, Subong ENP, Parson RE, Gasior GH, Loveland KG, Southwick PC. Use of the percentage of free prostate specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA.* 1998;279(19):1542-7.
35. Partin AW, Brawer MK, Subong ENP, Kelley CA, Cox JL, Bruzek DJ, Pannek J, Meyer GE, Chan DW. Prospective evaluation of percent free-PSA and complexed-PSA for early detection of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 1998;1(4):197-203.
36. Tyloch JF, Wiczorek AP. The standards of an ultrasound examination of the prostate gland. Part 1. *J Ultrason.* 2016;16(67):378-90.
37. Marko J, Gould CF, Bonavia GH, Wolfman DJ. State-of-the-art imaging of prostate cancer. *Urol Oncol.* 2016;34(3):134-46.
38. Mitterberger M, Horninger W, Aigner F, Pinggera GM, Steppan I, Rehder P, Frauscherb F. Ultrasound of the prostate. *Cancer Imaging.* 2010;10(1):40-48.
39. Shinohara K, Wheeler TM, Scardino PT. The appearance of prostate cancer on transrectal ultrasonography: correlation of imaging and pathological examinations. *J Urol.* 1989;142(1):76-82.
40. Terris MK, Macy M, Freiha FS. Transrectal ultrasound appearance of prostatic granulomas secondary to bacillus Calmette-Guérin instillation. *J Urol.* 1997;158(1):126-7.
41. Purohit RS, Shinohara K, Meng MV, Carroll PR. Imaging clinically localized prostate cancer. *Urol Clin North Am.* 2003;30(2):279-93.
42. Varghese SL, Grossfeld GD. The prostatic gland: malignancies other than adenocarcinomas. *Radiol Clin North Am.* 2000;38(1):179-202.
43. Pallwein L, Mitterberger M, Gradl J, Aigner F, Horninger W, Strasser H, Bartsch G, zur Nedden D, Frauscher F. Value of contrast-enhanced ultrasound and elastography in imaging of prostate cancer. *Curr Opin Urol.* 2007;17(1):39-47.
44. van Hove A, Savoie PH, Maurin C, Brunelle S, Gravis G, Salem N, Walz J. Comparison of image-guided targeted biopsies versus systematic randomized biopsies in the detection of prostate cancer: a systematic literature review of well-designed studies. *World J Urol.* 2014;32(4):847-58.
45. Risko R, Merdan S, Womble PR, Barnett C, Ye Z, Linsell SM, Montie JE, Miller DC, Denton BT. Clinical predictors and recommendations for staging computed tomography scan among men with prostate cancer. *Urology.* 2014;84(6):1329-34.
46. Mottet N, Cornford P, van den Bergh RCN, Briers E, De Santis M, Gillessen S, Grummet J, Henry AM, van der Kwast TH, Lam TB, Mason MD, O'Hanlon S, Oprea-

- Lager DE, Ploussard G, van der Poel HG, Rouvière O, Tilki IGSD, Wiegel T, van den Broeck T, Cumberbatch M, Farolfi A, Fossati N, Gandaglia G, Grivas N, Lardas M, Liew M, Linares Espinós E, Moris L, Willemse P-PM. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG Guidelines on Prostate Cancer 2021. Arnhem, The Netherlands: European Association of Urology; 2022. Available from: <https://uroweb.org/guidelines/prostate-cancer/summary-of-changes/2021>, Accessed: June 2022.
47. Carter HB, Albertsen PC, Barry MJ, Etzioni R, Freedland SJ, Greene KL, Holmberg L, Kantoff P, Konety BR, Murad MH, Penson DF, Zietman AL. Early detection of prostate cancer: AUA Guideline. *J Urol*. 2013;190(2):419-26.
 48. Lowrance WT, Breau RH, Chou R, Chapin BF, Crispino T, Dreicer R, Jarrard DF, Kibel AS, Morgan TM, Morgans AK, Oh WK, Resnick MJ, Zietman AL, Cookson MS. Advanced Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline PART I. *J Urol*. 2021;205(1):14-21.
 49. Lowrance WT, Breau RH, Chou R, Chapin BF, Crispino T, Dreicer R, Jarrard DF, Kibel AS, Morgan TM, Morgans AK, Oh WK, Resnick MJ, Zietman AL, Cookson MS. Advanced Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline PART II. *J Urol*. 2021;205(1):22-9.
 50. Kiss B, Thoeny HC, Studer UE. Current Status of Lymph Node Imaging in Bladder and Prostate Cancer. *Urology*. 2016;96:1-7.
 51. Harisinghani MG, Barentsz J, Hahn PF, Deserno WM, Tabatabaei S, van de Kaa CH, de la Rosette J, Weissleder R. Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(25):2491-9.
 52. Hövels AM, Heesakkers RAM, Adang EM, Jager GJ, Strum S, Hoogeveen YL, Severens JL, Barentsz JO. The diagnostic accuracy of CT and MRI in the staging of pelvic lymph nodes in patients with prostate cancer: a meta-analysis. *Clin Radiol*. 2008;63(4):387-95.
 53. Gabriele D, Collura D, Oderda M, Stura I, Fiorito C, Porpiglia F, Terrone C, Zacchero M, Guiot C, Gabriele P. Is there still a role for computed tomography and bone scintigraphy in prostate cancer staging? An analysis from the EUREKA-1 database. *World J Urol*. 2016;34(4):517-23.
 54. Flanigan RC, McKay TC, Olson M, Shankey TV, Pyle J, Waters WB. Limited efficacy of preoperative computed tomographic scanning for the evaluation of lymph node metastasis in patients before radical prostatectomy. *Urology*. 1996;48(3):428-32.
 55. Tiguert R, Gheiler EL, Tefilli MV, Oskanian P, Banerjee M, Grignon DJ, Sakr W, Pontes JE, Wood Jr DP. Lymph node size does not correlate with the presence of prostate cancer metastasis. *Urology*. 1999;53(2):367-71.
 56. Spevack L, Killion LT, West Jr JC, Rooker GM, Brewer EA, Cuddy PG. Predicting the patient at low risk for lymph node metastasis with localized prostate cancer: an analysis of four statistical models. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1996;34(3):543-7.
 57. Hofman MS, Lawrentschuk N, Francis RJ, Tang C, Vela I, Thomas P, Rutherford N, Martin JM, Frydenberg M, Shakher R, Wong LM, Taubman K, Ting Lee S, Hsiao E, Roach P, Nottage M, Kirkwood I, Hayne D, Link E, Marusic P, Matera A, Herschtal A, Iravani A, Hicks RJ, Williams S, Murphy DG, for the proPSMA Study Group Collaborators. Prostate-specific membrane antigen PET-CT in patients with high-risk

- prostate cancer before curative-intent surgery or radiotherapy (proPSMA): a prospective, randomised, multicentre study. *The Lancet*. 2020;395(10231):1208-16.
58. Hegde JV, Mulkern RV, Panych LP, Fennessy FM, Fedorov A, Maier SE, Tempany CMC. Multiparametric MRI of prostate cancer: an update on state-of-the-art techniques and their performance in detecting and localizing prostate cancer. *J Magn Reson Imaging*. 2013;37(5):1035-54.
 59. Ghai S, Haider MA. Multiparametric-MRI in diagnosis of prostate cancer. *Indian J Urol*. 2015;31(3):194-201.
 60. Boesen L. Multiparametric MRI in detection and staging of prostate cancer. *Dan Med J*. 2017;64(2):B5327.
 61. Turkbey B, Rosenkrantz AB, Haider MA, Padhani AR, Villeirs G, Macura KJ, Tempany CM, Choyke PL, Cornud F, Margolis DJ, Thoeny HC, Verma S, Barentsz J, Weinreb JC. Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2.1: 2019 Update of Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2. *Eur Urol*. 2019;76(3):340-51.
 62. Kasivisvanathan V, Rannikko AS, Borghi M, Panebianco V, Mynderse LA, Vaarala MH, Briganti A, Budäus L, Hellawell G, Hindley RG, Roobol MJ, Eggener S, Ghei M, Villers A, Bladou F, Villeirs GM, Virdi J, Boxler S, Robert G, Singh PB, Venderink W, Hadaschik BA, Ruffion A, Hu JC, Margolis D, Crouzet S, Klotz L, Taneja SS, Pinto P, Gill I, Allen C, Giganti F, Freeman A, Morris S, Punwani S, Williams NR, Brew-Graves C, Deeks J, Takwoingi Y, Emberton M, Moore CM. MRI-Targeted or Standard Biopsy for Prostate-Cancer Diagnosis. *N Engl J Med*. 2018;378(19):1767-77.
 63. Hofbauer SL, Maxeiner A, Kittner B, Heckmann R, Reimann M, Wiemer L, Asbach P, Haas M, Penzkofer T, Stephan C, Friedersdorff F, Fuller F, Miller K, Cash H. Validation of Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2 for the Detection of Prostate Cancer. *J Urol*. 2018;200(4):767-73.
 64. Johnson DC, Raman SS, Mirak SA, Kwan L, Bajgirani AM, Hsu W, Maehara CK, Ahuja P, Faiena I, Pooli A, Salmasi A, Sisk A, Felker ER, Lu DSK, Reiter RE. Detection of Individual Prostate Cancer Foci via Multiparametric Magnetic Resonance Imaging. *Eur Urol*. 2019;75(5):712-20.
 65. Borofsky S, George AK, Gaur S, Bernardo M, Greer MD, Mertan FV, Taffel M, Moreno V, Merino MJ, Wood BJ, Pinto PA, Choyke PL, Turkbey B. What Are We Missing? False-Negative Cancers at Multiparametric MR Imaging of the Prostate. *Radiology*, 2018;286(1):186-95.
 66. Bratan F, Niaf E, Melodelima C, Chesnais AL, Souchon R, Mège-Lechevallier F, Colombel M, Rouvière O. Influence of imaging and histological factors on prostate cancer detection and localisation on multiparametric MRI: a prospective study. *Eur Radiol*. 2013;23(7):2019-29.
 67. Roobol MJ, Steyerberg EW, Kranse R, Wolters T, van den Bergh RCN, Bangma CH, Schröder FH. A risk-based strategy improves prostate-specific antigen-driven detection of prostate cancer. *Eur Urol*. 2010;57(1):79-85.
 68. Narayan P, Jajodia P, Stein R, Tanagho EA. A comparison of fine needle aspiration and core biopsy in diagnosis and preoperative grading of prostate cancer. *J Urol*. 1989;141(3):560-3.
 69. Hodge KK, McNeal JE, Terris MK, Stamey TA. Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol*. 1989;142(1):71-4.

70. Xue J, Qin Z, Cai H, Zhang C, Li X, Xu W, Wang J, Xu Z, Yu B, Xu T, Zou Q. Comparison between transrectal and transperineal prostate biopsy for detection of prostate cancer: a meta-analysis and trial sequential analysis. *Oncotarget*. 2017;8(14):23322-36.
71. Roberts MJ, Bennett HY, Harris PN, Holmes M, Grummet J, Naber K, Wagenlehner FME. Prostate Biopsy-related Infection: A Systematic Review of Risk Factors, Prevention Strategies, and Management Approaches. *Urology*. 2017;104:11-21.
72. Pilatz A, Veeratterapillay R, Köves B, Cai T, Bartoletti R, Wagenlehner F, Bruyère F, Geerlings S, Bonkat G, Pradere B. Update on Strategies to Reduce Infectious Complications After Prostate Biopsy. *Eur Urol Focus*. 2019;5(1):20-8.
73. Donovan J, Hamdy F, Neal D, Peters T, Oliver S, Brindle L, Jewell D, Powell P, Gillatt D, Dedman D, Mills N, Smith M, Noble S, Lane A, ProtecT Study Group. Prostate Testing for Cancer and Treatment (ProtecT) feasibility study. *Health Technol Assess*. 2003;7(14):1-88.
74. Eichler K, Hempel S, Wilby J, Myers L, Bachmann LM, Kleijnen J. Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: a systematic review. *J Urol*. 2006;175(5):1605-12.
75. Shariat SF, Roehrborn CG. Using biopsy to detect prostate cancer. *Rev Urol*. 2008;10(4):262-80.
76. Kuru TH, Wadhwa K, Chang RTM, Echeverria LMC, Roethke M, Polson A, Rottenberg G, Koo B, Lawrence EM, Seidenader J, Gnanapragasam V, Axell R, Roth W, Warren A, Doble A, Muir G, Popert R, Schlemmer HP, Hadaschik BA, Kastner C. Definitions of terms, processes and a minimum dataset for transperineal prostate biopsies: a standardization approach of the Ginsburg Study Group for Enhanced Prostate Diagnostics. *BJU Int*. 2013;112(5):568-77.
77. Vyas L, Acher P, Kinsella J, Challacombe B, Chang RTM, Sturch P, Cahill D, Chandra A, Popert R. Indications, results and safety profile of transperineal sector biopsies (TPSB) of the prostate: a single centre experience of 634 cases. *BJU Int*. 2014;114(1):32-7.
78. Jradi MA, Dridi M, Teyeb M, Mohamed MOS, Khiary R, Ghozzi S, Ben Rais N. The 20-core prostate biopsy as an initial strategy: impact on the detection of prostatic cancer. *Can Urol Assoc J*. 2010;4(2):100-4.
79. Guo CC, Epstein JI. Intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy: Histologic features and clinical significance. *Mod Pathol*. 2006;19(12):1528-35.
80. Ericson KJ, Wenger HC, Rosen AM, Kiriluk KJ, Gerber GS, Paner GP, Eggener SE. Prostate cancer detection following diagnosis of atypical small acinar proliferation. *Can J Urol*. 2017;24(2):8714-20.
81. Djavan B, Milani S, Remzi M. Prostate biopsy: who, how and when - an update. *Can J Urol*. 2005;12(1):44-8.
82. Carroll PR, Parsons JK, Andriole G, Bahnson RR, Barocas DA, Castle EP, Catalona WJ, Dahl DM, Davis JW, Epstein JI, Etzioni RB, Farrington T, Hemstreet 3rd GP, Kawachi MH, Lange PH, Loughlin KR, Lowrance W, Maroni P, Mohler J, Morgan TM, Nadler RB, Poch M, Scales C, Shaneyfelt TM, Smaldone MC, Sonn G, Sprenke P, Vickers AJ, Wake R, Shead DA, Freedman-Cass D. NCCN Clinical practice Guidelines

- Prostate Cancer Early Detection, Version 2. 2015. *J Natl Compr Canc Netw*. 2015;13(12):1534-61.
83. Singh S, Dorairajan LN, Manikandan R, Sreerag KS, Sunil K, Kant DU, Tepukiel Z. Comparison of infective complications in Transperineal versus Transrectal Ultrasound Guided Prostatic Biopsy in patients suspected to have prostate cancer. *Indian J Urol*. 2017;33(3):S43.
 84. Loeb S, Vellekoop A, Ahmed HU, Catto J, Emberton M, Nam R, Rosario DJ, Scattoni V, Lotan Y. Systematic review of complications of prostate biopsy. *Eur Urol*. 2013;64(6):876-92.
 85. Garcia C, Winter M, Bergersen P, Woo H, Chalasani V. Does transperineal prostate biopsy reduce complications compared with transrectal biopsy? A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *J Urol*. 2016;195(4S):e328-9.
 86. Jarroux J, Morillon A, Pinskaya M. History, Discovery, and Classification of lncRNAs. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1008:1-46.
 87. ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012;489(7414):57-74.
 88. Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi A, et al. Landscape of transcription in human cells. *Nature*. 2012;489:101-8.
 89. Misawa A, Takayama KI, Inoue S. Long non-coding RNAs and prostate cancer. *Cancer Sci*. 2017;108(11):2107-14.
 90. Ma L, Cao J, Liu L, Du Q, Li Z, Zou D, Bajic VB, Zhang Z. LncBook: a curated knowledgebase of human long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res*. 2019;47 (Database issue):D128-34.
 91. Martens-Uzunova ES, Böttcher R, Croce CM, Jenster G, Visakorpi T, Calin GA. Long Noncoding RNA in Prostate, Bladder, and Kidney Cancer. *Eur Urol*. 2014;65(6):1140-51.
 92. Smolle MA, Bauernhofer T, Pummer K, Calin GA, Pichler M. Current Insights into Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci*. 2017;18(2):473.
 93. Smolle M, Uranitsch S, Gerger A, Pichler M, Haybaeck J. Current status of long non-coding RNAs in human cancer with specific focus on colorectal cancer. *Int J Mol Sci*. 2014;15(8):13993-4013.
 94. Seles M, Hutterer GC, Kiesslich T, Pummer K, Berindan-Neagoe I, Perakis S, Schwarzenbacher D, Stotz M, Gerger A, Pichler M. Current Insights into Long Non-Coding RNAs in Renal Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2016;17(4):573.
 95. Cerk S, Schwarzenbacher D, Adiprasito JB, Stotz M, Hutterer GC, Gerger A, Ling H, Calin GA, Pichler M. Current Status of Long Non-Coding RNAs in Human Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2016;17(9):1485.
 96. Smolle MA, Bullock MD, Ling H, Pichler M, Haybaeck J. Long Non-Coding RNAs in Endometrial Carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2015;16(11):26463-72.
 97. Ling H, Krassnig L, Bullock MD, Pichler M. MicroRNAs in Testicular Cancer Diagnosis and Prognosis. *Urol Clin North Am*. 2016;43(1):127-34.
 98. Zebisch A, Hatzl S, Pichler M, Wölfler A, Sill H. Therapeutic Resistance in Acute Myeloid Leukemia: The Role of Non-Coding RNAs. *Int J Mol Sci*. 2016;17(12):2080.

99. Fernandes M, Marques H, Teixeira AL, Medeiros R. Competitive Endogenous RNA Network Involving miRNA and lncRNA in Non-Hodgkin Lymphoma: Current Advances and Clinical Perspectives. *Biomedicines*. 2021;9(12):1934.
100. Zhu YS, Zhu J. Molecular and cellular functions of long non-coding RNAs in prostate and breast cancer. *Advances in Clinical Chemistry*. 2022;106:91-179.
101. Xu YH, Deng JL, Wang G, Zhu YS. Long non-coding RNAs in prostate cancer: Functional roles and clinical implications. *Cancer Lett*. 2019;464:37-55.
102. Auprich M, Haese A, Walz J, Pummer K, de la Taille A, Graefen M, de Reijke T, Fisch M, Kil P, Gontero P, Irani J, Chun FKH. External validation of urinary PCA3-based nomograms to individually predict prostate biopsy outcome. *Eur Urol*. 2010;58(5):727-32.
103. Auprich M, Chun FKH, Ward JF, Pummer K, Babaian R, Augustin H, Luger F, Gutsch S, Budäus L, Fisch M, Huland H, Graefen M. Critical assessment of preoperative urinary prostate cancer antigen 3 on the accuracy of prostate cancer staging. *Eur Urol*. 2011;59(1):96-105.
104. Ploussard G, Durand X, Xylinas E, Moutereau S, Radulescu C, Forgue A, Nicolaiew N, Terry S, Allory Y, Loric S, Salomon L, Vacherot F, de la Taille A. Prostate cancer antigen 3 score accurately predicts tumour volume and might help in selecting prostate cancer patients for active surveillance. *Eur Urol*. 2011;59(3):422-9.
105. Ren S, Wang F, Shen J, Sun Y, Xu W, Lu J, Wei M, Xu C, Wu C, Zhang Z, Gao X, Liu Z, Hou J, Huang J, Sun Y. Long non-coding RNA metastasis associated in lung adenocarcinoma transcript 1 derived miniRNA as a novel plasma-based biomarker for diagnosing prostate cancer. *Eur J Cancer*. 2013;49(13):2949-59.
106. Ren S, Liu Y, Xu W, Sun Y, Lu J, Wang F, Wei M, Shen J, Hou J, Gao X, Xu C, Huang J, Zhao Y, Sun Y. Long noncoding RNA MALAT-1 is a new potential therapeutic target for castration resistant prostate cancer. *J Urol*. 2013;190(6):2278-87.
107. Wang F, Ren S, Chen R, Lu J, Shi X, Zhu Y, Zhang W, Jing T, Zhang C, Shen J, Xu C, Wang H, Wang H, Wang Y, Liu B, Li Y, Fang Z, Guo F, Qiao M, Wu C, Wei Q, Xu D, Shen D, Lu X, Gao X, Hou J, Sun Y. Development and prospective multicenter evaluation of the long noncoding RNA MALAT-1 as a diagnostic urinary biomarker for prostate cancer. *Oncotarget*. 2014;5(22):11091-102.
108. Zhang A, Zhao JC, Kim J, Fong KW, Yang YA, Chakravarti D, Mo YY, Yu J. LncRNA HOTAIR Enhances the Androgen-Receptor-Mediated Transcriptional Program and Drives Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cell Rep*. 2015;13(1):209-21.
109. Prensner JR, Iyer MK, Sahu A, Asangani IA, Cao Q, Patel L, Vergara IA, Davicioni E, Erho N, Ghadessi M, Jenkins RB, Triche TJ, Malik R, Bedenis R, McGregor N, Ma T, Chen W, Han S, Jing X, Cao X, Wang X, Chandler B, Yan W, Siddiqui J, Kunju LP, Dhanasekaran SM, Pienta KJ, Feng FY, Chinnaiyan AM. The long noncoding RNA SChLAP1 promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. *Nat Genet*. 2013;45(11):1392-8.
110. Mehra R, Udager AM, Ahearn TU, Cao X, Feng FY, Loda M, Petimar JS, Kantoff P, Mucci LA, Chinnaiyan AM. Overexpression of the Long Non-coding RNA SChLAP1 Independently Predicts Lethal Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2016;70(4):549-52.

111. Li P, Yang R, Gao WQ. Contributions of epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells to the development of castration resistance of prostate cancer. *Mol Cancer*. 2014;13:55.
112. Kiesslich T, Pichler M, Neureiter D. Epigenetic control of epithelial-mesenchymal-transition in human cancer. *Mol Clin Oncol*. 2013;1(1):3-11.
113. Xu S, Yi XM, Tang CP, Ge JP, Zhang ZY, ZhouWQ. Long non-coding RNA ATB promotes growth and epithelial-mesenchymal transition and predicts poor prognosis in human prostate carcinoma. *Oncol Rep*. 2016;36(1):10-22.
114. Chakravarty D, Sboner A, Nair SS, Giannopoulou E, Li R, Hennig S, Mosquera JM, Pauwels J, Park K, Kossai M, MacDonald TY, Fontugne J, Erho N, Vergara IA, Ghadessi M, Davicioni E, Jenkins RB, Palanisamy N, Chen Z, Nakagawa S, Hirose T, Bander NH, Beltran H, Fox AH, Elemento O, Rubin MA. The oestrogen receptor alpha-regulated lncRNA NEAT1 is a critical modulator of prostate cancer. *Nat Commun*. 2014;5:5383.
115. Luo G, Wang M, Wu X, Tao D, Xiao X, Wang L, Min F, Zeng F, Jiang G. Long Non-Coding RNA MEG3 Inhibits Cell Proliferation and Induces Apoptosis in Prostate Cancer. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37(6):2209-20.
116. Ma WL, Jeng LB, Lai HC, Liao PY, Chang C. Androgen receptor enhances cell adhesion and decreases cell migration via modulating beta1-integrin-AKT signaling in hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett*. 2014;351(1):64-71.
117. Jia J, Li F, Tang XS, Xu S, Gao Y, Shi Q, Guo W, Wang X, He D, Guo P. Long noncoding RNA DANCR promotes invasion of prostate cancer through epigenetically silencing expression of TIMP2/3. *Oncotarget*. 2016;7(25):37868-81.
118. Yang X, Guo Z, Sun F, Li W, Alfano A, Shimelis H, Chen M, Brodie AMH, Chen H, Xiao Z, Veenstra TD, Qiu Y. Novel membrane-associated androgen receptor splice variant potentiates proliferative and survival responses in prostate cancer cells. *J Biol Chem*. 2011;286(41):36152-60.
119. Zhang Z, Zhou N, Huang J, Ho TT, Zhu Z, Qiu Z, Zhou X, Bai C, Wu F, Xu M, Mo YY. Regulation of androgen receptor splice variant AR3 by PCGEM1. *Oncotarget*. 2016;7(13):15481-91.
120. Liang W, Lv T, Shi X, Liu H, Zhu Q, Zeng J, Yang W, Yin J, Song Y. Circulating long noncoding RNA GAS5 is a novel biomarker for the diagnosis of nonsmall cell lung cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(37):e4608.
121. Pickard MR, Mourtada-Maarabouni M, Williams GT. Long non-coding RNA GAS5 regulates apoptosis in prostate cancer cell lines. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1832(10):1613-23.
122. Yacqub-Usman K, Pickard MR, Williams GT. Reciprocal regulation of GAS5 lncRNA levels and mTOR inhibitor action in prostate cancer cells. *Prostate*. 2015;75(7):693-705.
123. Tracy CR, Brooks NA, Said M, Kim ED. Prostate Cancer. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/1967731-overview#a2>, Accessed: June 2022.
124. Heinzer H, Steuber T. Prostate cancer in the elderly. *Urol Oncol*. 2009;27(6):668-72.
125. Hussein S, Satturwar S, van der Kwast T. Young-age prostate cancer. *J Clin Pathol*. 2015;68(7):511-5.

126. Sesso HD, Paffenbarger RS Jr, Lee IM. Alcohol consumption and risk of prostate cancer: The Harvard Alumni Health Study. *Int J Epidemiol.* 2001;30(4):749-55.
127. Macke AJ, Petrosyan A. Alcohol and Prostate Cancer: Time to Draw Conclusions. *Biomolecules.* 2022;12(3):375.
128. Giovannucci E, Rimm EB, Liu Y, Leitzmann M, Wu K, Stampfer MJ, Willett WC. Body mass index and risk of prostate cancer in U.S. health professionals. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(16):1240-4.
129. Baillargeon J, Pollock BH, Kristal AR, Bradshaw P, Hernandez J, Basler J, Higgins B, Lynch S, Rozanski T, Troyer D, Thompson I. The association of body mass index and prostate-specific antigen in a population-based study. *Cancer.* 2005;103(5):1092-5.
130. Shephard RJ. Physical Activity and Prostate Cancer: An Updated Review. *Sports Med.* 2017;47(6):1055-73.
131. Huncharek M, Haddock KS, Reid R, Kupelnick B. Smoking as a risk factor for prostate cancer: a meta-analysis of 24 prospective cohort studies. *Am J Public Health.* 2010;100(4):693-701.
132. Jian Z, Ye D, Chen Y, Li H, Wang K. Sexual Activity and Risk of Prostate Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis. *J Sex Med.* 2018;15(9):1300-9.
133. Zapata DF, Howard LE, Frank J, Simon RM, Hoyo C, Grant DJ, Freedland SJ, Vidal AC. The association between sexual function and prostate cancer risk in US veterans. *Asian J Androl.* 2017;19(2):191-5.
134. Baisden BL, Kahane H, Epstein JI. Perineural invasion, mucinous fibroplasia, and glomerulations: diagnostic features of limited cancer on prostate needle biopsy. *Am J Surg Pathol.* 1999;23(8):918-24.
135. Bismar TA, Lewis JS Jr, Vollmer RT, Humphrey PA. Multiple measures of carcinoma extent versus perineural invasion in prostate biopsy tissue in prediction of pathologic stage in a screening population. *Am J Surg Pathol.* 2003;27(4):432-40.
136. Ali TZ, Epstein JI. Perineural involvement by benign prostatic glands on needle biopsy. *Am J Surg Pathol.* 2005;29(9):1159-63.
137. Fajkovic H, Mathieu R, Lucca I, Hiess M, Hubner N, Al Hussein Al Awamlh B, Lee R, Briganti A, Karakiewicz P, Lotan Y, Roupret M, Rink M, Kluth L, Loidl W, Seitz C, Klatte T, Kramer G, Susani M, Shariat SF. Validation of lymphovascular invasion is an independent prognostic factor for biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Urol Oncol.* 2016;34(5):233.e1-e6.
138. Magi-Galluzzi C, Evans AJ, Delahunt B, Epstein JI, Griffins DF, van der Kwast TH, Montironi R, Wheeler TM, Srigley JR, Egevad LL, Humphrey PA, ISUP Prostate Cancer Group. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference of Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 3: Extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease. *Mod Pathol.* 2011;24(1):26-38.
139. Theiss M, Wirth MP, Manseck A, Frohmüller HG. Prognostic significance of capsular invasion and capsular penetration in patients with clinically localized prostate cancer undergoing radical prostatectomy. *Prostate.* 1995;27(1):13-7.

140. Soyly FN, Peng Y, Jiang Y, Wang S, Schmid-Tannwald C, Sethi I, Eggener S, Antic T, Oto A. Seminal vesicle invasion in prostate cancer: evaluation by using multiparametric endorectal MR imaging. *Radiology*. 2013;267(3):797-806.
141. Kim J, Ebertowski J, Janiga M, Arzola J, Gillespie G, Fountain M, Soderdahl D, Canby-Hagino E, Elsamanoudi S, Gurski J, Davis JW, Parker PA, Boyd DD. Many young men with prostate-specific antigen (PSA) screen-detected prostate cancers may be candidates for active surveillance. *BJU Int*. 2013;111(6):934-40.
142. Abida W, Cyrta J, Heller G, Prandi D, Armenia J, Coleman I, Cieslik M, Benelli M, Robinson D, van Allen EM, Sboner A, Fedrizzi T, Mosquera JM, Robinson BD, De Sarkar N, Kunju LP, Tomlins S, Wu YM, Rodrigues DN, Loda M, Gopalan A, Reuter VE, Pritchard CC, Mateo J, Bianchini D, Miranda S, Carreira S, Rescigno P, Filipenko J, Vinson J, Montgomery RB, Beltran H, Heath EI, Scher HI, Kantoff PW, Taplin ME, Schultz N, deBono JS, Demichelis F, Nelson PS, Rubin MA, Chinnaiyan AM, Sawyers CL. Genomic correlates of clinical outcome in advanced prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(23):11428-36.
143. Li-Sheng Chen S, Ching-Yuan Fann J, Sipeky C, Yang TK, Yueh-Hsia Chiu S, Ming-Fang Yen A, Laitinen V, Tammela TLJ, Stenman UH, Auvinen A, Schleutker J, Chen HH. Risk Prediction of Prostate Cancer with Single Nucleotide Polymorphisms and Prostate Specific Antigen. *J Urol*. 2019;201(3):486-95.
144. Chen WS, Aggarwal R, Zhang L, Zhao SG, Thomas GV, Beer TM, Quigley DA, Foye A, Playdle D, Huang J, Lloyd P, Lu E, Sun D, Guan X, Rettig M, Gleave M, Evans CP, Youngren J, True L, Lara P, Kothari V, Xia Z, Chi KN, Reiter RE, Maher CA, Feng FY, Small EJ, Alumkal JJ; West Coast Prostate Cancer Dream Team. Genomic Drivers of Poor Prognosis and Enzalutamide Resistance in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2019;76(5):562-71.
145. Lin CY, Wang SS, Yang CK, Li JR, Chen CS, Hung SC, Chiu KY, Cheng CL, Ou YC, Yang SF. Genetic polymorphism and carbonic anhydrase 9 expression can predict nodal metastatic prostate cancer risk in patients with prostate-specific antigen levels ≤ 10 ng/ml at initial biopsy. *Urol Oncol*. 2019;37(11):814.e9-814.e16.
146. Smith CM, Steitz JA. Classification of GAS5 as a multi-small-nucleolar-RNA (snoRNA) host gene and a member of the 5'-terminal oligopyrimidine gene family reveals common features of snoRNA host genes. *Mol Cell Biol*. 1998;18(12):6897-909.
147. Tan Q, Zuo J, Qiu S, Yu Y, Zhou H, Li N, Wang H, Liang C, Yu M, Tu J. Identification of circulating long non-coding RNA GAS5 as a potential biomarker for non-small cell lung cancer diagnosis non-small cell lung cancer, long non-coding RNA, plasma, GAS5, biomarker. *Int J Oncol*. 2017;50(5):1729-38.
148. Xue D, Zhou C, Lu H, Xu R, Xu X, He X. LncRNA GAS5 inhibits proliferation and progression of prostate cancer by targeting miR-103 through AKT/mTOR signaling pathway. *Tumour Biol*. 2016;37:16187-97.
149. Vesovic N, Tomic N, Karan Djurasevic T, Andric Z, Zdravkovic D, Pavlovic S, Jovanovic D. Expression pattern of circulating long non-coding RNA GAS5 as a novel biomarker in non-small cell lung cancer patients. *Arch Med Sci*. 2020;1-7.
150. Han L, Ma P, Liu SM, Zhou X. Circulating long noncoding RNA GAS5 as a potential biomarker in breast cancer for assessing the surgical effects. *Tumour Biol*. 2016;37(5):6847-54.

151. Senousy MA, El-Abd AM, Abdel-Malek RR, Rizk SM. Circulating long non-coding RNAs HOTAIR, Linc-p21, GAS5 and XIST expression profiles in diffuse large B-cell lymphoma: association with R-CHOP responsiveness. *Sci Rep.* 2021;11:2095.
152. Sun D, Yu Z, Fang X, Liu M, Pu Y, Shao Q, Wang D, Zhao X, Huang A, Xiang Z, Zhao C, Franklin RJ, Cao L, He C. LncRNA GAS5 inhibits microglial M2 polarization and exacerbates demyelination. *EMBO Rep.* 2017;18(10):1801-16.
153. Li J, Wang Y, Zhang CG, Xiao HJ, Hou JM, He JD. Effect of long non-coding RNA GAS5 on proliferation, migration, invasion and apoptosis of colorectal cancer HT-29 cell line. *Cancer Cell Int.* 2018;18:4.
154. Weber DG, Casjens S, Brik A, Raiko I, Lehnert M, Taeger D, Gleichenhagen J, Kollmeier J, Bauer TT, Brüning T, Johnen G; MoMar study group. Circulating long non-coding RNA GAS5 (growth arrest-specific transcript 5) as a complement marker for the detection of malignant mesothelioma using liquid biopsies. *Biomark Res.* 2020;8:15.
155. Ji J, Dai X, Yeung SJ, He X. The role of long non-coding RNA GAS5 in cancers. *Cancer Manag Res.* 2019;11:2729-37.
156. Liu L, Meng T, Yang XH, Sayim P, Lei C, Jin B, Ge L, Wang HJ. Prognostic and predictive value of long non-coding RNA GAS5 and mircoRNA-221 in colorectal cancer and their effects on colorectal cancer cell proliferation, migration and invasion. *Cancer Biomark.* 2018;22(2):283-99.
157. Nath A, Lau EYT, Lee AM, Geeleher P, Cho WCS, Huang RS. Discovering Long Noncoding RNA Predictors of Anticancer Drug Sensitivity Beyond Protein-Coding Genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(44):22020-29.
158. Carter G, Miladinovic B, Patel AA, Deland L, Mastorides S, Patel NA. Circulating long noncoding RNA GAS5 levels are correlated to prevalence of type 2 diabetes mellitus. *BBA Clin.* 2015;4:102-7.
159. Gao Q, Xie H, Zhan H, Li J, Liu Y, Huang W. Prognostic Values of Long Noncoding RNA GAS5 in Various Carcinomas: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Physiol.* 2017;8:814.
160. Liang W, Lv T, Shi X, Liu H, Zhu Q, Zeng J, Yang W, Yin J, Song Y. Circulating long noncoding RNA GAS5 is a novel biomarker for the diagnosis of nonsmall cell lung cancer. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(37):e4608.
161. Li W, Li N, Shi K, Chen Q. Systematic review and meta-analysis of the utility of long non-coding RNA GAS5 as a diagnostic and prognostic cancer biomarker. *Oncotarget.* 2017;8(39):66414-25.
162. Benisek A. The Cost of Prostate Cancer. Available from: <https://www.webmd.com/prostate-cancer/cost-of-prostate-cancer>, Accessed: June 2022.
163. Trogdon JG, Falchook AD, Basak R, Carpenter WR, Chen RC. Total Medicare Costs Associated With Diagnosis and Treatment of Prostate Cancer in Elderly Men. *JAMA Oncol.* 2019;5(1):60-6.
164. Gustavsen G, Gullet L, Cole D, Lewine N, Bishoff JT. Economic burden of illness associated with localized prostate cancer in the United States. *Future Oncol.* 2020;16(1):4265-77.

165. Bolayırlı IM, Önal B, Adıgüzel M, Konukoğlu D, Demirdağ Ç, Kurtuluş EM, Türegün FA, Uzun H. The clinical significance of circulating miR-21, miR-142, miR-143, and miR-146a in patients with prostate cancer. *J Med Biochem.* 2022;41(2):191-8.
166. Babić N. Clinical pharmacogenomics and concept of personalized medicine. *J Med Biochem.* 2012;31(4):281-6.
167. Mijović M, Nedeljković V, Vukićević D, Mitić NB, Đerković B, Rašić J, Premović V. Diagnostic, prognostic and predictive parameters in prostate cancer. *Praxis Medica.* 2020;49(3,4):43-9.
168. Cikota-Aleksić BM, Rančić NK, Ratković NG, Dragojević-Simić VM. The basic principals of pharmacogenetics testing in cancer treatment. *Hospital Pharmacology. International Multidisciplinary Journal.* 2020;7(1):895-902.

ДОБРОВОЉНИ ИНФОРМИСАНИ ПРИСТАНАК ЗА УЧЕШЋЕ У ИСТРАЖИВАЊУ

ПОВЕЗАНОСТ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ СЛОБОДНЕ ЦИРКУЛИШУЋЕ *lncRNA GAS5* СА ПАТОХИСТОЛОШКИМ, ЛАБОРАТОРИЈСКИМ И РАДИОЛОШКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА КАРЦИНОМА ПРОСТАТЕ

Молимо Вас да, пре него што потпишете пристанак за учешће у овом истраживању, пажљиво прочитате информације дате у тексту испод.

Циљ истраживања:

Циљ овог истраживања је да се поређењем вредности концентрације слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* у крви пацијената са дијагностикованим карциномом простате са резултатима *MDCT* стејџинга, патохистолошким налазом и вредностима туморског маркера *PSA* укаже на знацај праћења концентрације *lncRNA GAS5* у крви код ових пацијената и дефинише *lncRNA GAS5* као потенцијални биомаркер у дијагностици и праћењу пацијената са карциномом простате.

Шта би сте Ви требали да урадите у овом истраживању:

Ваша улога у истраживању би подразумевала да Вам се поред стандардног *MDCT* стејџинга, патохистолошког налаза и одређивања вредности *PSA* у крви, који се стандардно раде код свих пацијената са карциномом простате, одреди и концентрација *lncRNA GAS5* у крви.

У ту сврху би Вам се приликом вађења крви за потребе других лабораторијских анализа извадиле још две епрувете са укупно око 10 *mL* крви из које би се одредила концентрација *lncRNA GAS5*.

Такође, пре или након вађења крви, биће Вам дато да попуните кратак анкетни лист са податцима везаним за Ваше животне навике и здравствено стање, а који су у корелацији са карциномом простате и од значаја су за извођење овог истраживања.

Резултати свих Ваших горе наведених прегледа и анализа могу бити спојени са резултатима других пацијената у базу података, како би се, у будућности, могли користити како за ово, тако и за друга истраживања и у сврху едукације. Уколико би се резултати Ваших прегледа и анализа делили са другим истраживачима, Ваши лични подаци би били уклоњени, а резултати би били кодирани посебним шифрама. На тај начин Ваши лични подаци не би били доступни никоме.

Време трајања процедуре:

Приближно 5 минута за вађење крви и око 5 минута за попуњавање анкетног листа.

Ризици:

На месту пункције вене (вена на руци) могу се појавити оток, бол, мањи крвни подливи, као и крварење на месту убода. Ове компликације су везане за свако вађење крви из вене, не захтевају лечење и пролазе спонтано за неколико дана

Уколико Вам је непријатно или не желите да разговарате о овим темама, треба да одбијете учешће у истраживању. Нисте у обавези да нас обавестите о разлозима одбијања да учествујете у истраживању.

Уколико се у истраживање укључујете у циљу проналажења клиничке дијагнозе, не треба да учествујете у истраживању.

Понекад се дешава да члан истраживачког тима уочи промене на снимцима које могу указивати на присуство поремећаја или обољења. Главни истраживач може консултовати одговарајућег клиничког лекара у вези налаза. У оваквим ситуацијама главни истраживач или одговорни лекар би Вас обавестили о запажању, а одлука о даљим дијагностичким процедурама и лечењу би била препуштена Вама и Вашем лекару.

Корисност/ бенефит истраживања:

На крају истраживања обезбедићемо детаљно објашњење истраживања, хипотеза, као и потенцијалне импликације резултата истраживања у случају да су наше хипотезе потврђене или не. Уколико желите можете послати *e-mail* поруку пп. прим. ас. др мед. Мирославу Мишовићу (miki_misic@yahoo.com) и ми ћемо Вам послати копије научних публикација које су произишле из истраживања.

Поверљивост:

Ваше учешће у овом истраживању ће бити тајно и Ваш идентитет неће бити приказан на начињеним прегледима и анализама, нити ће подаци о Вашем идентитету бити чувани заједно са резултатима прегледа и анализа.

Ваш идентитет ће бити кодиран бројчаном шифром, а документ на коме је шифра повезана са Вашим личним подацима ће бити чувана у закључаној просторији, без могућности приступа других особа изузев главног истраживача. Уколико подаци, тј. резултати буду дељени са другим истраживачима, Ваши подаци никада неће бити откривени, без Ваше дозволе.

Учешће и одустајање од учешћа у истраживању:

Ваше учешће у овом истраживању је потпуно добровољно, и Ви имате право да одустанете од учешћа у истраживању, у било ком тренутку и без икаквих последица и без потребе за образлагањем своје одлуке.

Уколико имате било каквих питања, сугестија или предлога у вези истраживања, молимо Вас да се обратите одговорној особи: пп. прим. ас. др мед. Мирославу Мишовићу, Институт за радиологију ВМА Београд, Црнотравска 17, 11000 Београд, тел. 011/ 266-34-81; *e-mail*: miki_misic@yahoo.com.

Пристанак:

Природа и сврха овог истраживања ми је довољно објашњена и прихватам учешће у истраживању. У потпуности ми је јасно да имам право да, у било ком тренутку, одустанем од учешћа у истраживању, без икаквих последица или потребе да образлажем своју одлуку.

Име и презиме учесника (штампаним словима): _____

Потпис учесника: _____

Име и презиме одговорног истраживача (штампаним словима): _____

Потпис одговорног истраживача: _____

Датум и место: _____

Прилог 2.

Анкета за пацијенте:

Име и презиме	
Старост (година рођења)	
Расна припадност	
Породична анамнеза за карцином простате	
Телесна маса	
Телесна висина	
Пушење; ако да колико дневно?	
Алкохолизам; ако да колико често?	
Физичка активност 1. Седентаран 2. Физички активан 1 до 2 пута недељно 3. Физички активан 3 до 5 пута недељно 4. Физички активан свакодневно 5. Спортиста	
Сексуална активност 1. Нормална ерекција и ејакулација 2. Повремене тегобе 3. Изражене тегобе 4. Потпуна импотенција	
Да ли узимате неке лекове; ако да које?	
Коморбидитет; ако да који?	

Биографија аутора

Др Мирослав С. Мишовић, рођен је 11.11.1977. године у Београду. Основну и средњу школу завршио је у Београду са одличним успехом. Медицински факултет Универзитета у Београду уписао је 1996. године, а дипломирао 2003. године са просечном оценом 8,57. Обавезни лекарски стаж, као стажер Дома здравља „Стари град“ и Клиничког центра Србије у Београду, започео је 2003. године, а исти завршио 2004. године. Од 2004. године припадник је Војске Србије и Црне горе, на служби у Гардијској бригади, касније Гарди Војске Србије у Београду, као Управник Амбуланте Гарде. Специјализацију из радиологије започиње 2007. године на Институту за радиологију Војномедицинске академије у Београду, а исту завршава фебруара 2012. године са одличним успехом, од када је на служби, као специјалиста радиологије, на Институту за радиологију Војномедицинске академије у Београду.

Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу уписао је 2012. године- смер онкологија, а докторски испит положио 2014.године.

У оквиру стручног усавршавања активно је учествовао на бројним научним скуповима, конгресима и симпозијумима, у земљи и иностранству.

Активан је члан Радиолошке секције Српског лекарског друштва (*SLD*), Удружења радиолога Србије (*URS*), Европског удружења радиолога (*ESR*), Српског удружења за ултразвук у медицини (*SUZUM*) и Удружења за примену ултразвука у медицини и биологији Републике Србије (*SECHO*).

Аутор и коаутор је већег броја стручних и научних радова објављених у домаћим и страним часописима и презентованих на међународним и домаћим стручним састанцима и конгресима.

Као предавач је учествовао у раду секцијских састанака Радиолошке секције *SLD*, као и већег броја ултразвучних, колор Доплер и *СТ* школа.

Говори енглески језик.

Списак радова који су услов за пријаву завршене докторске дисертације:

1. **Mišović M.**, Aleksić P., Kostić D., Vuković M., Radojičić B., Rančić N., Cikota Aleksić B., The levels of circulating long non-coding RNA GAS5 in prostate cancer patients: Single center study. *Vojnosanit Pregl* 2022; Online First July 2022., doi: 10.2298/VSP220412075M, **M23, IF 0.168**
2. Živanović A., Stamatović D., Strelić N., Magić Z., Tarabar O., Miljanović O., **Mišović M.**, Đukić S., Cikota- Aleksić B., Association of ATG16L1 rs2241880 and TP53 rs1042522 with characteristics and course of diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology - Research and Practice* 237 (2022) 154033. doi: 10.1016/j.prp.2022.154033, **IF 3.309**
3. Kosanović T., **Mišović M.**, Đukić V., Lalošević M., Đorđević M., Rančić N., CT appearance in the 330 patients with COronaVirus Disease 2019 (COVID-19) in Serbia, *Vojnosanit Pregl* 2021; 78(6): 642-650., doi: 10.2298/VSP200725125K, **M23, IF 0.168**

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, др **Мирослав С. Мишовић**, изјављујем да докторска

дисертација под насловом:

„Повезаност концентрације слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* са патохистолошким, лабораторијским и радиолошким карактеристикама карцинома простате“

која је одбрањена на **Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу** представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

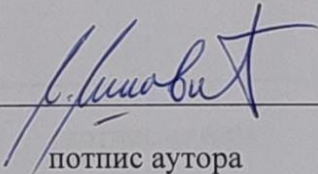
Овом Изјавом такође потврђујем:

да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,

да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 11. 10. 2022. године,



потпис аутора

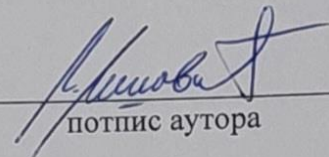
**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

**„Повезаност концентрације слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* са
патохистолошким, лабораторијским и радиолошким карактеристикама
карцинома простате“**

истоветне.

У Крагујевцу, 11.10.2022. године,


потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, др **Мирослав С. Мишовић**,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

„Повезаност концентрације слободне циркулишуће *lncRNA GAS5* са патохистолошким, лабораторијским и радиолошким карактеристикама карцинома простате“

која је одбрањена на **Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу**, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

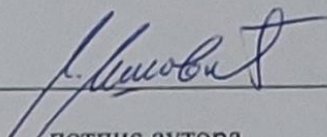
не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 11.10.2022. године,



потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>