



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Дејан М. Јовановић

**ИСПИТИВАЊЕ СТЕПЕНА ПОВЕЗАНОСТИ КОНЦЕНТРАЦИЈЕ  
ЦИТОКИНА У УРИНУ И СЕРУМУ СА ПАТОХИСТОЛОШКИМ И  
КЛИНИЧКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА КАРЦИНОМА ПРОСТАТЕ**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2020.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Dejan M. Jovanović

**THE STUDY OF THE LEVEL OF CORRELATION BETWEEN THE CYTOKINE  
CONCENTRATION IN URINE AND SERUM WITH PATHOHISTOLOGICAL  
AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF PROSTATE CANCER**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2020.

## ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА

<b>Аутор</b>
Име и презиме: Дејан Јовановић
Датум и место рођења: 03.09.1973. Приштина, Република Србија
Садашње запослење: Начелник Одељења радиотерапије, Војномедицинска Академија
<b>Докторска дисертација</b>
Наслов: Испитивање степена повезаности концентрације цитокина у урину и серуму са патохистолошким и клиничким карактеристикама карцинома простате
Број страница: 107
Број слика: 14 табела
Број библиографских података: 238
Установа и место где је рад израђен: Војномедицинска академија, Београд
Научна област ( УДК): Медицина
Ментор: др сци.мед. Владимир Банчевић, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије, Универзитета одбране у Београду
<b>Оцена и одбрана</b>
Датум пријаве теме: 25.9.2017. године
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-449/15 од 06.06.2018.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Иван Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже области Микробиологија и имунологија;Онкологија, председник,</li><li>2. Проф. др Предраг Алексић, ванредни професор Медицинског факултета војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу област Урологија, Онкологија , члан,</li><li>3. Доц. др Александар Арсенијевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу област Онкологија, члан,</li></ol>
Комисија за оцену и одбрану докторске/уметничке дисертације: <ol style="list-style-type: none"><li>1. Проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу област Имунологија, председник,</li><li>2. Доц. др Александар Арсенијевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу област Онкологија, члан,</li><li>3. Проф. др Предраг Алексић, ванредни професор Медицинског факултета војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу област Урологија, Онкологија , члан,</li></ol>
Датум одбране дисертације:

## IDENTIFICATION PAGE

<b>Author</b>
Name and surname: Dejan Jovanović
Date and place of birth: 03.09.1973. Priština, Republic of Serbia
Current employment: Head of the radiotherapy department, Military medical academy
<b>Doctoral dissertation</b>
Title: Испитивање степена повезаности koncentracije цитокина у урину и серуму са патохистолошким и клиничким карактеристикама карцинома простате
NO. Of pages: 107
No. Of images: 14 Tables
No.of bibliografic data: 238
Institution and place of work: Military medical academy, Belgrade
Scientific arae ( UDK): Medicine
Mentor: dr.sc. Vladimir Bančević, associate professor Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defence in Belgrade
<b>Grade and Dissertation Defense</b>
Topic Application Date: 2017/9/25
Decision number and date of accep of doctoral/artistic dissertation topic: IV-03-449/15 од 06.06.2018.г
Comission for evaluation of the scientific merit of the topic and eligibility of the candidate:  <ol style="list-style-type: none"><li>1. Dr. sc. Ivan Jovanović , associate professor, faculty of Medical Sciences University of Kragujevac, speciality Microbiology and Immunology. Oncology, president</li><li>2. Dr.sc.Predrag Aleksić, associate professor Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defence in Belgrade speciality Urology, Oncology , member</li><li>3. Dr.sc. Aleksandar Arsenijević, assistant professor, faculty of medical Sciences University of Kragujevac, speciality Oncology, member</li></ol>
Comission for evaluation and defense of doctoral/artistic dissertation:  <ol style="list-style-type: none"><li>1. Dr.sc. Danilo Vojvodić, full professor at the Medical Faculty of the Military Medical Academy of the University of Defense in Belgrade speciality Imunolgy, president,</li><li>2. Dr.sc. Aleksandar Arsenijević, assistant professor, faculty of medical Sciences University of Kragujevac, speciality Oncology, member,</li><li>3. Dr.sc.Predrag Aleksić, associate professor Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defence in Belgrade speciality Urology, Oncology , member</li></ol>
Date of Dissertation Defense:

## ЗАХВАЛНОСТ

Посебно се захваљујем професору Данилу Војводићу, који ме је својим стрпљењем увео у свет имунологије. Професору који је идејом, стручним вођством и саветима створио услове да се ово истраживање спроведе. Колеги који ми је својом доступношћу, издвојеном времену и сарадњи олакшао писање рада и учинио га пријатним искуством.

Ментору професору Владимиру Банчевићу захваљујем на драгоцености помоћи у научноистраживачком раду. Колеги и пријатељу на чије сам савете увек могао рачунати.

Овом приликом посебну захвалност заслужују: кћерка Ленка, син Лазар и супруга Вања. Ово је тим који ми даје подршку и који ме чини срећним свако на свој начин.

Овај рад посвећујем оцу и мајци која иако није присутна у овом мом великом животном тренутку, знам да би му се највише веселила.

## САЖЕТАК

**УВОД:** Карцином простате (КаП) у популацији мушкараца старијих од 50 година долази на друго место по учесталости. Чест узгредни патохистолошки налаз у ткиву простате уклоњене због тумора представља присуство хетерогеног ћелијског упалног инфилтрата. Цитокини продуковани од туморских ћелија и инфилтришућих имунских ћелија омогућавају преживљавање туморских ћелија и њихов даљи раст. Објављени резултати неколико студија указују на повезаност вредности цитокина из серума, експримата простате и урина са клиничким и хистолошким карактеристикама тумора у болесника са КаП. Показано је да су серумске вредности *IL-4* појединачни предиктор прогресије болести и да су серумске вредности *IL-1 $\beta$*  и *IL-12* повећане у рано откривеним КаП. У групи са малим туморским волуменом доминирали су *HGF* и *IL18BP*, док су вредности *IL18BP* корелирале су са *Gleason* скором, вредности *IL-17*, *GITR* и *ICAM-1* са степеном инфилтрације неутрофила, а вредности *IL18BP*, *IL17*, *GITR* и *ICAM-1* корелирале су са степеном инфилтрације лимфоцита. *IL18BP* је био присутан у високој концентрацији у узорцима експримата простате код болесника са КаП.

**МЕТОД:** У студију је укључено 88 болесника са КаП и 35 здравих особа за две контролне групе (20 болесника у групи са бенигном хиперплазијом простате и 15 оних који немају тегобе везане за урогенитални тракт). Независне варијабле су одређене клиничким карактеристикама тумора патохистолошким карактеристикама тумора и ТНМ стадијумом болести. Зависне варијабле су одређене концентрацијом цитокина у серуму и урину у испитиваним групама.

**РЕЗУЛТАТИ:** Вредности инфламаторних цитокина одражавају степен инфламације у туморском и перитуморском ткиву. Вредности хемокина одражавају степен инфилтрације туморског ткива адекватним типом имунских ћелија, концентрација имunosупресивних цитокина одговара величини тумора, док вредности уринарних цитокина *TN1* типа одговарају степену лимфоцитне инфилтрације.

**ЗАКЉУЧАК И ЗНАЧАЈ СТУДИЈЕ:** Добијени резултати пружају нове информације о биолошким особинама карцинома простате, могућност процене локалног имунског одговора у болесника са КаП на основу вредности уринарних цитокина, пружају могућност процене степена инфламације у туморском ткиву, као и могућност процене ефекта терапијских процедура на локални имунски одговор.

**КЉУЧНЕ РЕЧИ:** карцином простате, цитокини, хемокини, инфламација, радиотерапија, радикална ретропубична простатектомија

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Prostate cancer (CaP) comes second in terms of frequency in the population of men older than 50. The presence of a heterogeneous cellular inflammatory infiltrate is a common incidental pathohistological finding in prostate tissue removed due to tumors. Cytokines produced by tumor cells and infiltrating immune cells enable the survival of tumor cells and their further growth. The published results of several studies indicate an association between serum cytokine values, prostate and urine excreta and clinical and histological characteristics of tumors in patients with KaP. Serum *IL-4* values have been shown to be a single predictor of disease progression and serum *IL-1 $\beta$*  and *IL-12* values are increased in early detected KaP. The small tumor volume group was dominated by *HGF* and *IL18BP*, while *IL18BP* values correlated with the *Gleason* score, *IL-17*, *GITR*, and *ICAM-1* values with neutrophil infiltration rates, and *IL18BP*, *IL17*, *GITR*, and *ICAM-1* values correlated with lymphocyte infiltration. *IL18BP* was present in high concentrations in prostate express samples in patients with KaP.

**METHODOLOGY:** The study included 88 patients with CaP and 35 healthy individuals for two control groups (20 patients in the group with benign prostatic hyperplasia and 15 who did not have urogenital tract problems). The independent variables were determined by the clinical characteristics of the tumor, the pathohistological characteristics of the tumor and the TNM stage of the disease. The dependent variables were determined by the concentration of cytokines in the serum and urine in the examined groups.

**RESULTS:** Inflammatory cytokine values reflect the degree of inflammation in tumor and peritumoral tissue. Chemokine values reflect the degree of infiltration of tumor tissue with an adequate type of immune cells, the concentration of immunosuppressive cytokines corresponds to the size of the tumor, while the values of urinary cytokines *TH1* type correspond to the degree of lymphocytic infiltration.

**CONCLUSION AND THE IMPORTANCE OF THE STUDY:** The obtained results provide new information on the biological properties of prostate cancer, the possibility of assessing the local immune response in patients with CaP based on urinary cytokine values, the possibility of assessing the degree of inflammation in tumor tissue, and the possibility of assessing the effect of therapeutic procedures on local immune response.

**KEYWORDS:** prostate cancer, cytokines, chemokynes, inflammation, radiotherapy, radical retropubic prostatectomy

## САДРЖАЈ

1. УВОД .....	1
1.1. Анатомија .....	2
1.2. Бенигна хиперплазија простате .....	3
1.3. Карцином простате .....	3
1.3.1. Дијагностика карцинома простате .....	4
1.3.2. Дигито-ректални преглед ( ДРП).....	5
1.3.3. Биопсија простате .....	5
1.3.4. Параметри агресивности карцинома простате.....	5
1.3.5. ПСА.....	6
1.3.6. ГГС .....	6
1.3. 7. Стадијум карцинома простате.....	7
1.4. Лечење.....	9
1.5. Цитокини.....	9
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА .....	11
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ .....	12
4. РЕЗУЛТАТИ .....	17
5. ДИСКУСИЈА .....	52
6. ЗАКЉУЧЦИ .....	73
7. РЕФЕРЕНЦЕ .....	76



## 1. УВОД

Карцином простате (КаП) је други по учесталости у односу на остала малигна обољења у мушкој популацији и на њега отпада око 15% свих малигних обољења мушкараца<sup>1,2</sup>.

Данас постоје бројни покушаји да се одређеним анализама и нормограмима прецизније одреде прогностички параметри пре одлуке о начину лечења, али ни један овакав новији модел предикције за сада није ушао у рутинску клиничку употребу<sup>3,4</sup>. Иако је простата специфични антиген (ПСА) један од најбољих туморских маркера у хуманој популацији, он може у око 20% случајева да буде повишен и код пацијената који немају тумор простате, а са друге стране да у сличном проценту буде у нормалном опсегу, а да пацијент има тумор простате. Због овога ПСА није погодан маркер за скрининг у мушкој популацији, док би у одмаклој животној доби повишена вредност ПСА често водила у *overtreatment* што би водило у повећање трошкова лечења, а без продужења преживљавања пацијената<sup>5,6</sup>. Са друге стране, ПСА је одличан предиктор напредовања малигне болести простате<sup>5</sup>. Активно лечење (радикална простатектомија или радикална зрачна терапија) су препоручени код пацијената чија је очекивана дужина живота најмање 10 година, без значајног коморбидитета, у фази орган-ограничене болести, с тим да се најбољи резултати постижу ако је *Gleason score* мањи од 8, а ПСА мањи од 15 *ng/ml*<sup>5,7</sup>.

У узорцима ткива простате болесника са карциномом чест налаз представља присуство хроничне упале, са богатим инфламаторним ћелијским инфилтратом који садржи Т лимфоците, Б лимфоците, макрофаге, неутрофиле и мастоците. У здравих особа, компоненте имунског система специфично препознају и елиминишу туморске ћелије. Инфилтрација тумора Т лимфоцитима, *NK* ћелијама и/или *NKT* ћелијама, обично је удружена са повољним одговором на туморско ткиво, односно са повољним исходом у лечењу малигне болести<sup>8</sup>. Међутим, хронична, алтернативна и неконтролисана активација имуних ћелија (макрофага, неутрофила и мастоцита) уместо одбрамбене има протуморогену улогу, омогућујући тумору да избегне протективни имунски одговор, да се развија и метастазира<sup>8,9</sup>. Цитокини продуковани од туморских ћелија и инфилтришућих имунских ћелија су важни фактори који омогућују преживљавање туморских ћелија и њихов даљи раст упркос постојању анти туморског одговора. До сада су објављени резултати неколико студија у којима су анализирани вредности цитокина у узорцима крви, експримата простате и урина болесника са КаП, који указују на удруженост појединих цитокина са настанком, развојем, патохистолошким и/или клиничким карактеристикама карцинома простате.

### 1.1. Анатомија

Простата је мишићно-жлездани орган пирамидног облика, смештен непосредно испод мокраћне бешике, иза стидне кости, а испред завршног дела дебелог црева и окружује почетна 3 цм мокраћне цеви. Нормална маса простате одраслог човека износи ~18 g, дуга је ~3 cm, широка ~4 cm, дебљине ~2 cm, волумена 20 - 30 ml<sup>10</sup>. Простата свој алкални секрет излива у простатични део уретре помоћу два већа и више мањих изводних канала<sup>11</sup>. Састоји се од: базе и апекса, предње и задње површине, као и две инферолатералне површине. База се налази горе и у континуитету је са вратом мокраћне бешике. На бази се налазе три отвора за: уретру и ејакулаторне дуктусе<sup>11</sup>. Апекс је доњи, сужени део обухваћен спољашњим сфинктером, формирајући урогениталну дијафрагму.

Везиво на периферији простате гради „праву“ капсулу, док са спољашње стране карлична фасција формира „лажну“ капсулу<sup>11,12,13</sup>. Од простатичне капсуле полазе непотпуне преграде које деле орган на слабо дефинисане лобулусе.

McNeal и сарадници<sup>14</sup> описују четири зоне у простати, које се диференцирају по основу морфолошких и функционалних карактеристика. Те зоне су:

- предња фибромускуларна строма. Ова зона одговара предњем режњу и сачињена је од везивно-мишићне строме и нешто мало жлезданог ткива.
- периферна зона одговара бочним и задњем режњу и чини око 70% жлездане компоненте простате. Састоји се од растресите строме и главних жлезда, чији се изводни канали отварају у дисталном делу простатичне уретре. Мезодермалног је порекла и исходиште је највећег броја КаП<sup>12,13,15,16,17,18,19</sup>. Ова зона је такође подложна упали<sup>12,20,21</sup>.
- централна зона одговара средњем режњу, чини око 25% жлезданог паренхима. Окружује ејакулаторне дуктусе, а фиброзним преградама је одвојена од периферне зоне. Изводни канали централне зоне су знатно већи и отварају се у средњем делу простатичне уретре. У поређењу са осталим зонама, ћелије централне зоне имају другачији морфолошки изглед (израженију базифилну цитоплазму и већа једра смештена на различитим висинама). Вероватно настаје из *Wolffovich* каналића и отпорна је на упалу и развој карцинома. Само 1-5% КПа настаје у овој зони<sup>13,20,21</sup>.
- прелазна зона, која се састоји од два мала парауретрална режња жлезданог ткива која се налазе бочно од споја проксималне и дисталне уретре односно зона са око 5-10% паренхима, која лежи испред централне зоне. Ендодермалног је порекла и представља исходиште већине БХП и само око 20% карцинома простате (КаП)<sup>13,16,17,18,20,21, 22</sup>.

## 1.2. Бенигна хиперплазија простате (БХП)

Бенигна хиперплазија простате је хронично прогресивно обољење које карактерише патолошки процес који по дефиницији представља доброћудни раст епителних, мишићних и везивних ћелија простате, што доводи до увећања запремине простате преко 40 мл, а праћена је сметњама доњег уринарног тракта (*eng. lower urinary tract symptoms -LUTS*). ЛУТС је део процеса старења мушкараца и представља синоним за поремећај квалитета живота, везано за учестало мокрење<sup>23,24</sup>. Бројне студије говоре у прилог високе преваленције ЛУТС-а код старије популације<sup>25</sup>. Хистопатолошки БХП се карактерише порастом броја стромалних и епителних ћелија које формирају фиброаденоматозне чвориће у ткиву простате, углавном у периуретралној (фибромускуларној) и прелазној зони. Микроскопске промене се односе на ћелијску пролиферацију и повећавају се са старењем, приближно 40, 70, 80 и 90 % мушкараца обухваћено је њима у шестој, седмој, осмој и деветој деценији живота<sup>24</sup>.

У Србији се убрзано одвија процес општег старења популације, што је у тренду са старењем глобалне популација и иде у прилог повећања инциденције и преваленције БХП<sup>26,27</sup>.

## 1.3. Карцином простате

Карцином простате је међу најчесталијим малигним обољењима мушкараца у западним земљама. Други је по реду узрочник смртности и чини 15%-25% дијагностикованих малигнутих обољења мушкараца<sup>1,2,28</sup>. Најчешће се јавља у осмој деценији живота, а врло је редак код мушкараца до 40. године живота. Управо због тога представља велик здравствено-социјални проблем у развијеним земљама света које имају све старију популацију<sup>29</sup>.

Карцином простате је комплексна и хетерогена болест која је резултат низа промена у генетском материјалу епителних ћелија. Иако се сматра да тумори настају из једног клона генетички трансформисане ћелије, карцином простате би могао бити изузетак. Истраживања су показала да простата мушкараца с дијагностикованим карциномом може садржавати више индивидуалних неопластичних лезија које имају различито порекло и генетски се разликују<sup>30,31</sup>. Карцином простате релативно споро напредује те је од велике важности рано откривање болести. Клинички локални и локорегионални карцином простате лечи се хируршким захватом и зрачењем. Међутим, уколико се не открије у раном стадијуму, може прећи у инвазивни облик праћен метастазама и то најчешће у кости. Такав је облик неизлечив<sup>32,33</sup>.

Фактори ризика повезани са карциномом простате су различити и обухватају генетске и факторе средине. До сада су јасно потврђена три ризична фактора: старост пацијента, раса и наследни фактор<sup>29,32,33</sup>.

Најважнији ризични фактор за настанак карцинома простате је старост пацијента. Готово 85% оболелих су старији од 65 година. На ћелијском нивоу овај карцином се јавља у

знатно ранијој доби међутим клинички видљив облик изразито је редак код мушкараца млађих од 40 година па се у већини случајева дијагностикује у седамдесетим и осамдесетим годинама живота<sup>32,34</sup>.

Појава карцинома простате већа је код мушкараца који имају породично оптерећење за карцином простате. Ризик оболевања може бити удвостручен уколико је болест присутна код најближе родбине, у случају да је у првом реду наслеђивања болесно двоје или више рођака ризик је 5 до 11 пута већи. Осим тога, уочено је да мушкарци с породичном анамнезом карцинома простате имају ризик за појаву карцинома 6 - 7 година раније у односу на спорадични облик<sup>35</sup>. Данас се сматра да око 9% оболелих има наследну болест<sup>35</sup>. То су по правилу особе код којих се тумор дијагностикује у ранијој доби, пре 55-те године<sup>35,36</sup>. Иако до сада није потврђен ген повезан с наследном сколоношћу развоја карцинома простате према неким истраживањима *RNaseL* је потенцијалан кандидат. Функција *RNaseL* је у регулацији ћелијске пролиферације и апоптозе као одговор ћелије домаћина на вирусе<sup>32,33,37</sup>.

Припадници црне расе имају готово два пута већу стопу оболевања од карцинома простате у односу на припаднике беле расе. Осим што је ризик за карцином простате двапут виши у односу на мушкарце беле расе, мушкарци афричког порекла готово увек имају и агресивнији облик болести<sup>34</sup>. Узроци нису још разјашњени, али сматра се да је један о могућих разлога генетски полиморфизам у синтези и метаболизму андрогених хормона. Домен за активацију транскрипције андрогених рецептора (AR) садржи полиморфну N-терминалну регију на ексону 1 која садржи низ понављања од три нуклеотида, *CAG*, који кодирају аминокиселину глутамин. Дужина тог понављајућег низа је инверзна с транскрипцијском активношћу AR-а. Показано је да мушки припадници црне расе чешће имају краћи *CAG* низ у односу на припаднике беле расе<sup>38,39</sup>.

### 1.3.1. Дијагностика карцинома простате

Карцином простате нема никакве специфичне симптоме у раним развојним фазама. Због изостанка специфичних симптома ране, излечиве фазе болести, саветује се редовни годишњи уролошки преглед свих мушкараца старијих од 50 година, односно у случају позитивне породичне анамнезе и у млађој доби, како би се болест открила у што ранијој и излечивој фази. Данашњи дијагностички алгоритам, уз анамнезу и физикални преглед болесника који подразумева дигиторектални преглед (ДРП), обухвата биопсију простате под контролом трансректалног ултразвука (ТРУС) коју индикују вредности серумског ПСА (чешће) или налаз дигиторекталне претраге (ређе)<sup>40</sup>.

### 1.3.2. Дигиторектални преглед (ДРП)

ДРП представља део физикалног прегледа болесника током којег лекар палпирајући простату прстом кроз ректум треба одредити величину и конзистенцију ткива простате, болност, ограниченост простате, присуство или одсуство жљеба (сулкуса) простате, присуство патолошких тврдина и експримата простате. Класични знак сумње на постојање карцинома простате је палпабилни тврди чворић или тврди цели лобус, или читава простата. Уредан налаз палпације не искључује постојање тумора, а позитиван налаз не потврђује карцином (само трећина позитивних ДРП налаза имаће и позитиван налаз биопсије). Осим специфичности, недостатак ДРП-а су слаба осетљивост (немогућност уочавања раних стадијума карцинома) и репродуцибилност (значајнија само код искусног клиничара) <sup>40</sup>. Стопа детекције карцинома повећала се увођењем ПСА уз ДРП. С обзиром на то да ДРП и ПСА не детектују увек исте карциноме, а међусобно су комплементарни, препоручује се коришћење оба код процене ризика од карцинома простате <sup>41</sup>.

### 1.3.3. Биопсија простате

Стандардни начин узимања ткива простате за патохистолошку анализу и постављање дијагнозе карцинома простате је биопсија простате под контролом *TRUS*-а. Биопсијски материјал узима се помоћу аутоматског „пиштоља“ за ткивне биопсије из левог и десног режња простате и то: најмање 6 узорака ткива, али је данас познато да секстант биопсија може имати и до 30 % лажно негативних налаза. Предложени су бројни протоколи који повећавају број узорака ткива по биопсији и локализацији биоптата, а новија схема користи протокол са 10 - 12 узорака латерализованих према периферној зони простате. Апсолутне индикације за биопсију простате су вредност ПСА > 10,0 *ng/ml*, затим или позитивни налаз ДРП-а без обзира на вредност ПСА <sup>40,42</sup>.

### 1.3.4. Параметри агресивности карцинома простате:

Серумске вредности ПСА, патохистолошки стадијум болести, *Gleason* градус систем (ГГС) и клинички стадијум (одређен дигиторектални прегледом и трансректалним ултразвучним налазом), представљају основе дијагностичке и прогностичке параметре КаП (карцином простате).

Модалитети лечења КаП, утврђеним стандардним параметрима, обухватају хируршку и зрачну терапију, широки спектар медикаментозне андрогене супресије, али и само праћење индолетног карцинома <sup>43,44</sup>. Резултати бројних студија показали су међусобну позитивну колерацију ових параметара које се детектују код више од 80 % болесника са КаП <sup>43,44,45,46</sup>.

### 1.3.5. Простата Специфични Антиген (ПСА)

Простата специфични антиген је гликопротеин који по својој биолошкој функцији припада класи ензима – серумских протеаза. ПСА је секреторни продукт бенигну или малигну трансформисаних секреторних ћелија простате и примарни протеин семене течности. Полуживот ПСА у серуму износи од 2 до 3 дана. Повећање вредности серумског ПСА настаје приликом сваког оштећења базалне мембране жлезда и стања повећање васкуларизације, и није искључиво условљена повећаном активности секреторних ћелија<sup>47</sup>.

Повећање ПСА вредности мора се анализирати и у оквиру неких не туморских стања као што су: активни или хронични простатитис, ретенција урина, јатрогена манипулација, ејакулација, прекомерна физичка активност и стрес. У току ових промена вредности ПСА могу бити 5 до 40 пута веће од нормалних док се њихово враћање на нормалне вредности успоставља 6 до 8 недеља након повлачења клиничких симптома обољења простате. Обзиром да граничне вредности ПСА зависе и од животне доби пацијента, као и од запремине простате, на патолошки супстрат у простати код мушараца старости између 40 и 50 година могу указивати и вредности ПСА од 2 – 2,5 ng/ml<sup>47,48,49</sup>.

Серумске вредности ПСА представљају један од најзначајних параметра у откривању и праћењу прогресије КаП<sup>47,48,49,50,51,52,53,54</sup>. Нормалне вредности ПСА у серуму крећу се од 0,1 – 4ng/ml. Интермедијарне вредности ПСА од 4,1 – 10ng/ml налазе се код 18 % до 43 % болесника са БПХ, док се у 3% до 12 % случајева утврђују и вредности изнад 10ng/ml<sup>16,17,18,20</sup>. У оквиру интермедијарних вредности серумског ПСА код 33% болесника се дијагностикује КаП<sup>55,56</sup>.

У малом броју клиничких студија утврђене су позитивне корелације између статуса маргина простате, градуса КаП, инфилтрације капсуле и биохемијске прогресије КП. Вредности серумског ПСА изнад 0,2 ng/ml, након РРП, без клиничких манифестних местастаза дефинишу се као биохемијска прогресија КаП<sup>52,57</sup>. Одржавање ниских вредности серумског ПСА у првих 5-10 година након учињене РРП, присутно је код 16%-53% болесника<sup>52,53,55,58,59</sup>.

Код око 10 % болесника са нелеченим, проширеним КаП (локално унапредовалим или дисеминованим тумором), детектују се ниске вредности серумског ПСА. Када се оне одржавају у присуству великог волумена тумора најчешће се тумаче као последица губитка ПСА секреторних својстава туморских ћелија у слабо диферентованом КаП<sup>60,61,62,63</sup>.

### 1.3.6. Gleason градус систем (ГГС)

Основу ГГС представља пет хистолошких слика или градуса, од 1 до 5 које, на малом увећању микроскопа (10-40x), описују поремећај жлездане архитектуре: облик, величину

и степен гландуларне диференцијације и стромалне инвазије КаП, али не и степен нуклеарне анаплазије<sup>46,64,65</sup>. Из збира две најзаступљеније слике туморског раста изводи се девет збирних *Gleason* градуса (ГГС) од 2 до 10<sup>64,66</sup>.

*Gleason* градус систем саставни је део протокола за утврђивања прогностичких група болесника са КП и учињеном РПП. Ове групе болесника одређују се према препорукама Европског удружења уролога. Параметри за групу болесника са ниским ризиком су: преоперативни ПСА испод 10 *ng/ml*, ГГС < 6 и клинички стадијум Т1 или Т2, интермедијерни ризик односи се на болеснике у истом стадијуму, са ПСА вредностима од 10,1 – 20 *ng/ml*, са ГГС = 7, док су више ПСА вредности, преоперативни стадијум и ГГС > 7 параметри групе са високим ризиком за проширену болест у току РПП<sup>58</sup>.

Досадашња примена ГГС показала је његов вишеструки значај: прогностички - који се односи на очекујућу прогресију КаП независно од терапијског поступка, и предиктивни показатељ доброг одговара или резистенције КаП на антиандрогену терапију<sup>67,68</sup>.

Саставни део извештаја патолога о ГГС обухвата и утврђивање најзаступљенијег и градуса другог по заступљености<sup>64</sup>. Примарни (први) градус по ГГС чини више од 50 % хистолошки анализираног карциона у узорку, а други мањи од 50 % али више од 5 % његовог волумена<sup>64,66,68,69,70,71,72</sup>. Збирни ГГС од 2 до 4 одговара добром диферентованом КаП, од 5 до 7 средње до слабо диферентованог КаП, а од 8 до 10 слабо диферентованом КаП<sup>46,65,66</sup>. Када се у биопсији уочава друга слика туморског раста која је визуелно заступљена у мање од 3% укупног волумена тумора, онда се примарна и секундарна слика изједначавају, тј. уписују се два истоветна градуса<sup>46,65,66,69</sup>.

### 1.3.7. Стадијум карцинома простате

Стадијум карцинома (КС) простате је водећи прогностички параметар. Клинички стадијум одређује проширеност болести на основу налаза при дигиторекталном прегледу ДРП, *TRUS*-у, вредностима серумског ПСА и радиолошких прегледа. Иако није униформно репродукцибилан, КС је прогностички параметар КаП и омогућује разликовање клинички локализованог, локално узнапредовалог и метастатског тумора<sup>61,70,73</sup>.

### TNM стадијум болести<sup>73,74</sup>

TNM стадијум болести представља опис анатомске проширености болести заснована на три компоненте: Т- величина основног тумора; N – одсуство или присуство болести у регионалним лимфним чворовима; M- одсуство или присуство удаљених метастаза.

T- примарни тумор

Tx- немогуће је проценити примарни тумор

T 0- без назнака за примарни тумор

T1- тумор је клинички невидљив, не палпира се и не види радиолошким прегледима

T1a- инцидентални тумор захвата мање од 5% ресекованог ткива  
 T1b- инцидентални тумор захвата више од 5% ресекованог ткива  
 T1c- тумор откривен игленом биопсијом услед повишеног ПСА  
 T2- тумор ограничен на простату, палпабилан и видљив на УЗ  
 T2a- тумор захвата мање од половине једног лобуса  
 T2b- тумор захвата више од половине једног, али не захвата оба лобуса  
 T2c- тумор захвата оба лобуса  
 T3- тумор се шири ван капсуле простате  
 T3a- екстракапсуларно ширење( унилатерално или билатерално), укључујући и  
 микроскопску инвазију врата мокраћне бешике  
 T3b- тумор захвата семене кесице  
 T4- тумор захвата бешику, ректум, карлицу

N- Регионални лимфни нодуси

Nx- немогуће је проценити регионалне лимфне нодусе

N0- регионални лимфни чворови нису метастатски измењени

N1- метастатски измењени регионални лимфни чворови

M- удаљене метастазе

M0-нема удаљених метастаза

M1a- нерегионални лимфни чворови

M1б- кости

M1ц- остале локализације

Груписање по стадијумима:

Стадијум I	T1-T2a,	N0	M0
Стадијум II	T2b-T2c,	N0	M0
Стадијум III	T3	N0	M0
Стадијум IV	T4	N0	M0
	било који T	N1	M0
	било који T било који N		M1

Удаљене метастазе се најчешће јављају у костима и то у 90%, затим плућима 46%, јетри 25%, плеури 21% и надбубрежним жлездама 13%. Најчешће је погођен лумбални део кичме 97%, затим цервикални део 38%, што се тумачи хематогеним ширењем болести дуж спиналних вена<sup>73,74</sup>.



#### 1.4. Лечење

Лечење се спроводи у зависности од стадијума болести, и општег стања пацијента, као и коморбидитета. Тако се пацијенти са I и II стадијумом подвргавају радикалној простатектомији или зрачној терапији, док је за пацијенте у III стадијуму метода избора зрачење<sup>13,19,20,75,76</sup>. Зрачна терапија је индикована и за пацијенте у одмаклијој животној доби, као и за оне који не прихватају ризик могућих компликација током и након хируршког лечења, као и за пацијенте у нижим клиничким стадијумима али са значајним коморбидитетом. За пацијенте у IV стадијуму главни облик терапије је хормонска, односно адјувантна ендокрина терапија и примењује се са циљем да се ћелије карцинома лише стимулаторног дејства андрогена<sup>77,78</sup>. Ово постижемо хируршком или хемијском кастрацијом. Фармаколошка блокада се постиже применом агониста гонадотропног ослобађајућег хормона (*LH-RH*) и/или антиандрогенима<sup>79</sup>. Антиандрогени су једињења која иххибирају дејство андрогена у ћелијама КаП тако што блокирају андрогене рецепторе и на тај начин спречавају везивање андрогених хормона за њих. Пошто се кастрацијом (хируршком или фармаколошком) елиминишу тестикларни андрогени, дејство екстратестикларних андрогена блокира се давањем различитих антиандрогена<sup>79,80</sup>. Спајањем ова два модалитета терапије, постиже се тотална андрогена блокада (*TAB*)<sup>12,20,21,75,76,81,82,83,84,85</sup>. Међутим, поједини пацијенти упркос спроведеној хормонској терапији развију релапс болести, који је удружен са прогресијом и развојем андроген независног стадијума, а за који још увек нема адекватне терапије осим хемотерапије<sup>81</sup>.

#### 1.5. Цитокини

Цитокини су мали нискомолекуларни пептиди (10 - 40 *kD*)<sup>86</sup> које излучују ћелије као одговор на специфични наддражај, а који потом мењају понашање те или неке друге ћелије. Делују на циљне ћелије углавном у хематопоетском саставу и то везивањем за специфичне рецепторе, покретањем преноса сигнала путем секундарног одговора у циљној ћелији. Делују у врло сложеној и координисаној мрежи у којој могу мењати властиту синтезу, као и синтезу других цитокина и рецептора за цитокине. Производња бројних цитокина, као одговор и на антиген специфичне и на антиген неспецифичне наддражаје пресудна је за исход упалних имунолошких одговора<sup>87</sup>.

Цитокини, који имају кључну улогу у регулисању хуморалног и целуларног имуног одговора добили су на значају у биологији карцинома још од 1893. године када је *William Coley* показао да различити малигни тумори уђу у регресију након инфекције одређеним бактеријама<sup>88</sup>. Цитокинска револуција 70-их година прошлог века формирала је мишљење да је ослобађање тумор инхибиторских цитокина, као што су интерферон (*IFN*) и тумор

некроза фактор (*TNF*), последица деловања бактеријских ендотоксина<sup>90</sup>. Данас је познато да 15 - 20 % свих тумора у основи има хроничну упалу<sup>90</sup>.

Упала и ангиогенеза су уско повезане јер често деле исте путеве, а повезане су и са карциномом. Од различитих типова упалних ћелија које инфилтришу туморе као одговор на упалне надражаје, макрофаги који подржавају туморе (енгл. *tumor-supporting macrophages*, *TAM*) имају кључну улогу у лучењу разних фактора раста, протеиназа, хемокина па тако и фактора ангиогенезе и цитокина у међусобном деловању са ћелијама тумора. Ти фактори повратно стимулишу ћелијску покретљивост, миграцију, пролиферацију, преживљавање, ангиогенезу, метастазирање и тако подстичу прогресију карцинома<sup>90</sup>.

Цитокини су својим аутокриним и паракриним деловањем на различите начине укључени у малигни процес: делују директно на инхибицију раста туморских ћелија, доводе до туморске регресије или појачавају антитуморски имуни одговор, али могу деловати и као фактори раста за малигне ћелије, затим могу посредовати у паранеопластичном процесу на нивоу ДНА<sup>91,92,93</sup>.

Тумор је као и његов одговор на терапију непредвидљива болест па би се такво понашање делимично могло објаснити генетском хетерогености и нестабилности ћелија карцинома. Међутим, могуће је да на однос између домаћина и ћелије карцинома могу утицати индивидуалне варијације у генском коду људи. Полиморфизам хуманог гена има улогу у имуним одговорима, а међу генима повезаним са имуним саставом, гени цитокина су често полиморфни. Неки полиморфизми цитокина и рецептора цитокина могу имати утицај на њихову функцију на нивоу експресије гена и/или његове функције<sup>94</sup>.

Посебна пажња се посвећује полиморфизму у једној бази (енгл. *Single-nucleotide polymorphisms*, СНП) смештеним најчешће у промоторским регијама гена који мењају ниво транскрипције, односно утичу на коначну количину протеинског продукта у серуму и/или туморском ткиву оболелих, а носиоци наведених полиморфизама могу имати већу склоност оболевању од појединих врста тумора<sup>87</sup>.

## 2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗА ИСТРАЖИВАЊА

### 2.1. Хипотеза студије

Степен инфламације у тумору ткива корелира са вредностима инфламаторних цитокина *IL-1 $\alpha$* , *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, и *TNF- $\alpha$*  одређених у узорцима урина болесника са карциномом простате. Величина тумора, градус тумора и вредност ПСА позитивно корелирају са вредностима *IL-10* и *IL-17* а негативно са вредностима *TNFI* цитокина, *IFN- $\gamma$* , *IL-2* и *IL-12*.

### 2.2. Циљеви студије

Одредити патохистолошки тип тумора, *Gleason* скор, степен *Gleason* диференцијације, патохистолошки градус, ТНМ степен, клинички стадијум, вредности ПСА у узорцима серума и узорцима урина у болесника са карциномом простате и контролној групи болесника са бенижном хиперплазијом простате, код којих је клиренс креатинина преко 60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>.

У узорцима урина ( пре радикалне простатектомије или пре зрачне терапије, затим након масаже простате као и 2 месеца након ових процедура ) болесника са карциномом простате и контролним групама болесника са бенижном хиперплазијом простате и здравој контролној групи одредити концентрацију *IL-6*, *IL-1 $\alpha$* , *IL-10*, *IL-1 $\beta$* , *IL-17A*, *TNF- $\alpha$*  *IL-17F*, *IFN- $\gamma$* , *IL-2* и *IL-12*.

Упоредити вредности испитиваних цитокина између група болесника са карциномом простате, бенигне хиперплазије простате и здраве контролне групе. Упоредити вредности испитиваних цитокина између група болесника са карциномом простате према величини тумора, према патохистолошким карактеристикама тумора (волумен тумора, *Gleason* - скор, степен *Gleason* диференцијације, патохистолошки градус, ТНМ степен, и на основу вредности ПСА (у узорцима серума и узорцима урина).

Корелирати вредности испитиваних цитокина у групи болесника са карциномом простате са степеном промене туморског ткива (пораст или редукције тумора) након терапијске процедуре.

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

За спровођење истраживања добијена је сагласност од Етичког одбора Војномедицинске академије у Београду, као и начелника организацијских јединица у којима је истраживање спроведено.

Учествовање у студији подразумева потписани информисани пристанак сваког пацијента, односно његовог овлашћеног лица.

#### 3.1. Врста студије

Проспективна клиничка опсервациона студија пресека.

#### 3.2. Популација која се истражује

Истраживање је спроведено у Клиници за урологију, Институту за радиологију Институту за патологију и Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије у периоду јануар – децембар 2017.год., након одобрења Етичког одбора Војномедицинске академије.

У студију је укључено 88 мушкараца старијих од 18 година, код којих је због постојања сумње на инфилтративну промену (ДРП, повишен ПСА) урађена дијагностичка биопсија простате и код којих је патохистолошким прегледом утврђено постојање карцинома простате.

Контролну групу чини 20 мушкараца са бенигном хиперплазијом простате и 15 здравих мушкараца које обављају редован систематски преглед у ВМА и који претходно нису боловали од малигних болести.

Узорци ткива тумора за патохистолошку анализу узимани су током оперативног захвата. Узорци урина су узимани на контролним прегледима ових пацијената (пре операције као и два месеца после операције, комплетан целокупан преглед урина). Узорци крви су узимани истом динамиком.

### 3.3. Узорковање

Критеријуми регрутовања болесника у групу испитаника:

Критеријум за укључење у студију су патохистолошки дијагностикован карцином простате код пацијената, а пре започињања онколошког лечења у стадијуму орган ограничене болести .

Критеријуми за искључивање из студије су: присуство других малигних обољења, присуство аутоимунских обољења, обољења бубрега са вредностима клиренса креатинина испод  $60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ , обољења мокраћне бешике и употреба лекова који утичу на хематопоезу.

Образац информисаног пристанка који су потписали сви студијски испитаници у коме су поступно наведене и објашњене процедуре је одобрен од Етичког одбора Војномедицинске академије.

Постављање патохистолошке дијагнозе карцинома простате:

Патохистолошка обрада узорака простате осамдесет осам пацијената у овој студији са постављеном дијагнозом КаП је анализирана у Институту за патологију и судску медицину, Војномедицинске академије (ВМА) у Београду, Србија у временском интервалу од јануара 2017 до децембра 2017.

Сви пацијенти су класификовани према 8. едицији ТНМ класификације у две групе, према врсти терапијског третмана<sup>73</sup>.

Узорци тумора добијени у току дијагностичке биопсије простате су фиксирани у 5% пуферисаном неутралном формалину, дехидрисани серијом етанола растуће концентрације (75% до апсолутног), просветљени ксилолом и прожети парафином у *Leica ASP300* апарату за аутоматску фиксацију, дехидратацију и прожимање ткива па затим укалупљени у парафинске блокове. Парафински блокови су исечени на микротому на резове дебљине 4 $\mu\text{m}$ , затим обојени стандардним хематоксилин-еозином (*Hematoxylin & Eosin*) и анализирани светлосним микроскопом према ТНМ критеријумима.

Стадијум болести:

Локализација, и величина тумора су утврђени клиничким прегледом ( ДРП) и потврђени ПХ налазом.

Клинички стадијум болести је одређен према 8. едицији ТНМ класификације<sup>73</sup>.

Дизајн студије:

Болесници са карциномом простате су подељени у две групе, према врсти терапијског третмана:

- групу болесника која је оперисана (радикална ретропубична простатектомија),
- групу болесника који је зрачена.

Контролне групе представљају:

- група болесника са бенигном хиперплазијом простате.
- група контролних здравих мушкараца (са нормалним ДРП налазом, без знакова запаљења, ПСА референтних вредности) .

У свакој групи болесника, је узето укупно два узорка урина, први непосредно пре започињања изабране терапије и други узорак на редовном контролном прегледу после изабране терапије (два месеца након терапијске процедуре лечења) као и први млаз урина након масаже простате пре и два месеца након завршетка изабране терапије . У контролним групама, је узет само један узорак урина, на контролном прегледу, као и први млаз урина након масаже простате

У групи болесника, су узета укупно два узорка крви, први непосредно пре започињања изабране терапије и други узорак на редовном контролном прегледу после изабране терапије (два месеца након терапијске процедуре лечења).

У контролним групама, је узет само један узорак крви, на контролном прегледу.

### 3.4. Испитиване варијабле

Независне варијабле:

Свим пацијентима је на почетку испитивања урађен ДРП, скинтиграфија костију, (уколико је доказан карцином простате) , у складу са Националним водичем добре клиничке праксе за карцином простате из 2012.године<sup>95</sup>.

Анализирана је патохистологија тумора простате (хистолошки тип, величина, хистолошки градус, присуство лимфоваскуларне и/или перинеуралне туморске инвазије, патолошки ТНМ стадијум).

Хистолошка верификација анализе туморског ткива обухватила је стандардну методу бојења препарата хематоксилин-еозин која је важан елемент одређивања хистолошког типа и градуса болести.

За патохистолошку анализу узорци туморског ткива код свих пацијената су фиксирани у 5% пуферисаном неутралном формалину, и обрађени у *Leica ASP300* апарату за аутоматску фиксацију, дехидратацију и прожимање ткива, а потом укалупљени у парафин.

Зависне варијабле:

1. Вредности ПСА

2. Концентрација цитокина

Концентрација *IFN- $\gamma$* , *IL-33*, *IL-6*, *IL-4*, *IL-2*, *IL-12*, *IL-5*, *IL-8*, *IL-10*, *IL-13*, *IL-17A*, *IL-1 $\beta$* , *IL-22*, *IL-17F*, *IL-27*, *IL-31*, *IL-1 $\alpha$* , *TNF- $\alpha$* , *TNF- $\beta$* , *IP-10*, *MCP-1*, *MIP-1 $\alpha$*  у узорцима урина и крви испитаника су одређена коришћењем комерцијалних китова за одређивања концентрације цитокина методом проточне цитометрије (*YSL flow multiplex proteomic cytokine test kit*), на проточном цитометру (*Beckman Coulter FC500*).

3.5. Снага студије и величина узорка

На основу стандардних статистичких параметара (снага студије 80% (0,80), вероватноћа  $\alpha$  грешке 0,05), уз очекивану снагу ефекта од 0,4, односно да је разлика између анализираних група око 40%, анализом варијансе је добијено да је неопходан број испитаника у свим групама 90 (у свакој од три испитиваних група по 30 пацијената). Снага студије је прорачуната према раду *Tazaki* и сарадника <sup>96</sup>, који су одређивали вредности 10 цитокина у серуму (*IL-5*, *IL-8*, *IL-1 $\beta$* , *IL-2*, *IFN- $\gamma$* , *IL-4*, *IL-6*, *TNF- $\alpha$* , *IL-10*, и *IL-12*) три групе пацијената са КаП, са ограниченом болести, узнапредовалом болести и у групи болесника са метастазама и кахексијом. У групи болесника где је карцином био ограничен само на ткиво простате детектовали су повећање вредности *IL-1 $\beta$*  и *IL-12* у односу на контролну групу. Група са узнапредовалом болести карактерисала се повећањем серумских вредности *IL-1 $\beta$* , *IL-2*, *IL-8*, *IL-12*, *TNF- $\alpha$*  и *IFN- $\gamma$* , док су у групи са метастазама и кахексијом детектоване повећане вредности свих 10 испитиваних цитокина. *Tazaki* и сарадници нису успели да утврде постојање значајне корелације вредности испитиваних цитокина и вредности серумског ПСА. Ови резултати су показали постојање различитих профила цитокина у болесника различитог степена болести у болесника са КаП. Такође, указали су да серумске вредности *IL-1 $\beta$*  и *IL-12* могу бити корисне у иницијалној евалуацији болесника са КаП <sup>96</sup>.

Софтверски програм који је коришћен је *G Power 3.1.9.2. Kiel, Germany*.

### 3.6. Статистичка обрада података

Сви статистички прорачуни су урађени коришћењем *GraphPad Prism 5 version 5.01* софтвер. Неспарена поређења између група вршена су коришћењем Студентовог Т теста и *Mann-Whitney* теста. За неспарена поређења више група је коришћен *One-way ANOVA* тест са накнадним *Bonferroni* тестом. За процену статистичке повезаности међу различитим параметрима користили смо *Pearson*-ов и *Spearman*-ов тест корелације. Резултати су процењени као статистички значајни ( $p \leq 0,05$ ), високо статистички значајни ( $p \leq 0,01$ ) и веома високо статистички значајни ( $p \leq 0,001$ ).



#### 4. РЕЗУЛТАТИ

Концентрације интерлеукина одређиване су у узорцима 88 болесника са карциномом простате (КаП), 20 особа са бенижном хиперплазијом простате (БХП) и 15 здравих контролних особа (К).

##### 4.1. Вредности цитокина у узорцима КаП болесника, особа са бенижном хипертрофијом хиперплазијом простате и контролних испитаника

###### 4.1.1. Концентрација *IL-2* у узорцима, КаП, БХП и К

Вредности *IL-2* биле су значајно снижене у узорцима серума КаП у односу на групу БХП (MW,\*)(Табела 4.1.-1.). Вредности *IL-2* биле су снижене и у односу на К групу, али без значајности. У узорцима серума БХП детектоване су највише просечне серумске вредности *IL-2*.

Такође, у узорцима урина, у групи КаП детектовали смо значајно смањење вредности *IL-2* у односу на БХП групу (MW,\*)(Табела 4.1.-1.).

У узорцима урина (м), вредности *IL-2* биле су снижене у односу на БХП и К групе, али без значајности.

###### 4.1.2. Концентрација *IFN-γ* у узорцима, КаП, БХП и К

Вредности *IFN-γ* у узорцима серума КаП биле су значајно снижене у односу на друге две испитиване групе, БХП (MW,\*\*) и К (MW,\*)(Табела 4.1.-1.). Такође, група БХП је демонстрирала значајно снижене вредности *IFN-γ* у односу на К групу (MW,\*).

Насупрот налазу *IFN-γ* у узорцима серума, у узорцима урина највеће просечне вредности *IFN-γ* детектовали смо у БХП групи, значајно више у односу на КаП групу (MW,\*\*)(Табела 4.1.-1.).

Практично исти налаз *IFN-γ* био је и у узорцима урина (м), са највећом просечном концентрацијом у групи БХП, значајно већом од групе КаП (MW,\*\*)(Табела 4.1.-1.). Вредности *IFN-γ* у групи КаП биле су значајно снижене и у односу на К групу (MW,\*).

4.1.3. Концентрација *IL-12* у узорцима, КаП, БХП и К

Просечне вредности *IL-12* у узорцима серума биле су највеће у групи БХП, потом у групи К, а најниже у групи КаП, без значајних међусобних разлика (Табела 4.1.-1.).

Вредности *IL-12* у узорцима урина биле су највеће у групи БХП, приближно исте вредности у групама КаП и К, опет без значајних разлика.

Такође, вредности *IL-12* у узорцима урина (м) биле су највеће у групи БХП, приближно исте вредности у групама КаП и К, опет без значајних разлика.

Табела 4.1.-1. Поређење просечних концентрација између група испитаника 0 дана. ( $x \pm SD$ , pg/ml, MW-test).

0 дан	узорак	КаП	БХП	К	MW-test
<b>IL-2</b>	С	43 ± 13	56 ± 11	51 ± 14	БХП/КаП* К/БХП*, К/КаП** p>0,05
<b>IFN-γ</b>	С	6 ± 4	11 ± 5	27 ± 19	
<b>IL-12</b>	С	98 ± 14	118 ± 17	105 ± 16	
<b>IL-10</b>	С	77 ± 69	72 ± 22	55 ± 14	К/КаП* p>0,05
<b>IL-17</b>	С	▲ 13 ± 13	22 ± 15	5 ± 3	
<b>IL-1β</b>	С	56 ± 39	52 ± 8	70 ± 43	p>0,05 p>0,05 p>0,05 p>0,05 p>0,05 К/БХП**, К/КаП***
<b>TNF-α</b>	С	125 ± 53	124 ± 22	137 ± 43	
<b>IL-33</b>	С	193 ± 77	180 ± 20	148 ± 90	
<b>MCP-1</b>	С	114 ± 41	121 ± 17	131 ± 47	
<b>IL-8</b>	С	864 ± 1221	230 ± 60	282 ± 208	
<b>IL-6</b>	С	▼ 10 ± 10	11 ± 4	36 ± 24	
<b>IL-18</b>	С	512 ± 325	221 ± 60	515 ± 205	БХП/КаП* p>0,05
<b>IL-23</b>	С	76 ± 23	82 ± 8	85 ± 25	

0 дан	узорак	КаП	БХП	К	MW-test
<b>IL-2</b>	У	34 ± 12	47 ± 13	34 ± 11	БХП/КаП * БХП/КаП ** p>0,05
<b>IFN-γ</b>	У	2 ± 3	7 ± 3	5 ± 3	
<b>IL-12</b>	У	84 ± 3	98 ± 6	86 ± 5	
<b>IL-10</b>	У	36 ± 17	56 ± 15	37 ± 17	БХП/К*, БХП/КаП** БХП/К**, БХП/КаП**
<b>IL-17</b>	У	5 ± 6	7 ± 4	4 ± 3	
<b>IL-1β</b>	У	27 ± 9	33 ± 5	30 ± 8	p>0,05 К/КаП * К/КаП ** p>0,05 p>0,05 p>0,05
<b>TNF-α</b>	У	▲ 75 ± 47	61 ± 15	28 ± 27	
<b>IL-33</b>	У	▲ 113 ± 74	91 ± 25	28 ± 24	
<b>MCP-1</b>	У	84 ± 28	94 ± 11	80 ± 15	
<b>IL-8</b>	У	385 ± 662	178 ± 494	192 ± 177	
<b>IL-6</b>	У	6 ± 4	7 ± 4	6 ± 4	
<b>IL-18</b>	У	25 ± 10	30 ± 13	27 ± 11	p>0,05 БХП/КаП**
<b>IL-23</b>	У	61 ± 12	74 ± 8	62 ± 11	

0 дан	узорак	КаП	БХП	К	MW-test
	<b>IL-2</b> У(м)	35 ± 14	45 ± 7	37 ± 9	p>0,05
	<b>IFN-γ</b> У(м)	▼ 3 ± 3	7 ± 4	6 ± 3	<b>К/КаП*, БХП/КаП**</b>
	<b>IL-12</b> У(м)	85 ± 4	108 ± 5	83 ± 4	
	<b>IL-10</b> У(м)	40 ± 23	49 ± 6	35 ± 12	p>0,05
	<b>IL-17</b> У(м)	7 ± 8	16 ± 3	4 ± 4	p>0,05
	<b>IL-1β</b> У(м)	29 ± 10	36 ± 5	32 ± 8	<b>К/КаП*</b>
	<b>TNF-α</b> У(м)	▲ 86 ± 52	49 ± 17	31 ± 28	
	<b>IL-33</b> У(м)	▲ 130 ± 86	62 ± 36	36 ± 28	p>0,05
	<b>MCP-1</b> У(м)	85 ± 26	93 ± 8	83 ± 12	p>0,05
	<b>IL-8</b> У(м)	758 ± 1219	192 ± 67	150 ± 70	p>0,05
	<b>IL-6</b> У(м)	6 ± 5	6 ± 4	8 ± 7	p>0,05
	<b>IL-18</b> У(м)	23 ± 13	27 ± 4	26 ± 11	p>0,05
	<b>IL-23</b> У(м)	67 ± 15	74 ± 5	63 ± 8	p>0,05

#### 4.1.4. Концентрација *IL-10* у узорцима, КаП, БХП и К

Просечне вредности *IL-10* у узорцима серума биле су највеће у групи КаП, потом у групи БХП, без значајних међусобних разлика (Табела 4.1.-1.).

У узорцима урина група БХП је демонстрирала највећу просечну концентрацију *IL-10*, значајно већу у односу на КаП (MW,\*\*) или К групу (MW,\*)(Табела 4.1.-1.).

Просечне вредности *IL-10* у узорцима урина (м) биле су највеће у групи БХП, потом у групи КаП, без значајних међусобних разлика.

#### 4.1.5. Концентрација *IL-17* у узорцима, КаП, БХП и К

Вредности *IL-17* у испитиваним групама показивале су исти профил у све три врсте узорака. Наиме, највеће просечне вредности детектоване су у узорцима групе БХП, потом у КаП групи а најниже су биле у К групи.

У узорцима серума детектовали смо значајно повећање вредности *IL-17* у КаП групи у односу на К групу (MW,\*)(Табела 4.1.-1.).

У узорцима урина детектовали смо значајан пораст вредности *IL-17* у БХП групи у односу на КаП (MW,\*\*) и К групу (MW,\*)(Табела 4.1.-1.).

У узорцима урина (м) детектовали смо највеће просечне вредности *IL-17* у БХП групи, птотом КаП групи и најмање у К групи, без значајних разлика.

#### 4.1.6. Концентрација *IL-1 $\beta$* у узорцима, КаП, БХП и К

У узорцима серума, највеће просечне вредности *IL-1 $\beta$*  детектовали смо у К групи, са приближно истим вредностима у групама БХП и КаП, без значајних разлика.

У узорцима урина и урина (м) највеће просечне вредности биле су у групи БХП, потом у К групи а најмање у КаП групи, без значајних разлика (Табела 4.1.-1.).

#### 4.1.7. Концентрација *TNF- $\alpha$* у узорцима, КаП, БХП и К

У узорцима серума највеће просечне вредности *TNF- $\alpha$*  детектоване су у К групи, са приближно једнаким вредностима у групама БХП и КаП, без значајних разлика.

Насупрот овом налазу, у узорцима урина највеће просечне вредности *TNF- $\alpha$*  биле су у групи КаП, значајно веће од К групе (MW,\*) (Табела 4.1.-1.).

Такође, у узорцима урина (м) највеће просечне вредности *TNF- $\alpha$*  биле су у групи КаП, значајно веће од К групе (MW,\*) (Табела 4.1.-1.).

#### 4.1.8. Концентрација *IL-33* у узорцима, КаП, БХП и К

Вредности *IL-33* у испитиваним групама показивале су исти профил у све три врсте узорака. Наиме, највеће просечне вредности детектоване су у узорцима групе КаП, потом у БХП групи а најниже су биле у К групи.

У узорцима серума највеће просечне вредности *IL-33* детектоване су у КаП групи, без значајних разлика.

У узорцима урина највеће просечне вредности *IL-33* биле су у групи КаП, значајно веће од К групе (MW,\*\*)(Табела 4.1.-1.).

Такође, у узорцима урина (м) највеће просечне вредности *IL-33* биле су у групи КаП, значајно веће од К групе (MW,\*\*)(Табела 4.1.-1.).

#### 4.1.9. Концентрација *MCP-1* у узорцима, КаП, БХП и К

Највеће просечне вредности *MCP-1* у узорцима серума детектовали смо у К групи, са приближно једнаким вредностима у групама КаП и БХП, без значајних разлика (Табела 4.1.-1.).

Насупрот овом налазу, у узорцима урина и урина (м), највеће просечне вредности *MCP-1* детектоване су у БХП групи, са приближно једнаким вредностима у групама КаП и К, без значајних разлика.

#### 4.1.10. Концентрација *IL-8* у узорцима, КаП, БХП и К

Просечне вредности *IL-8* у све три врсте узорака биле су највеће у групи КаП, без значајних разлика у односу на БХП и К, због велике варијације у концентрацијама између различитих пацијената (Табела 4.1.-1.).

#### 4.1.11. Концентрација *IL-6* у узорцима, КаП, БХП и К

У узорцима серума највеће просечне вредности *IL-6* биле су у групи К, значајно веће од група КаП (MW,\*\*) и БХП (MW,\*)(Табела 4.1.-1.).

Насупрот овом налазу, у узорцима урина највеће просечне вредности *IL-6* детектоване су у БХП групи, са приближно једнаким вредностима у групама КаП и К, без значајних разлика.

У узорцима урина (м) највеће просечне вредности *IL-6* биле су у групи К, без значајних разлика у односу на групе КаП и БХП.

#### 4.1.12. Концентрација *IL-18* у узорцима, КаП, БХП и К

У узорцима серума вредности *IL-18* биле су приближно једнаке у групама К и КаП, снижене у групи БХП у односу на ове две групе, али без значајних међусобних разлика (Табела 4.1.-1.).

У узорцима урина просечне вредности *IL-18* биле су највеће у групи БХП, без разлика у односу на друге две групе.

У узорцима урина (м) вредности *IL-18* биле су приближно једнаке у свим испитиваним групама.

#### 4.1.13. Концентрација *IL-23* у узорцима, КаП, БХП и К

У узорцима серума просечне вредности *IL-23* биле су највеће у групи К, без значајних разлика у односу на друге две групе (Табела 4.1.-1.).

У узорцима урина највеће просечне вредности *IL-23* детектовали смо у БХП групи, значајно веће од групе КаП (W,\*\*)(Табела 4.1.-1.).

У узорцима урина (м) просечне вредности *IL-23* биле су највеће у групи БХП, без значајних разлика у односу на друге две групе.

#### 4.2. Вредности цитокина у узорцима КаП болесника у групама подељеним према *Gleason* скору

Испитивани цитокини одређени су у узорцима 88 болесника са КаП подељених у четири групе према вредностима *Gleason* скору.

##### 4.2.1. Концентрација *IL-2* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, поређење просечне концентрације *IL-2* између испитиваних група показало је пораст вредности од групе са најмањим *Gleason* скор-ом, 3+3, до групе 4+3 (Табела 4.2.-1.). У групи 4+3 детектовали смо значајно већу концентрацију *IL-2* у све три врсте узорака. Наиме, група 4+3 имала је значајно веће вредности *IL-2* у узорцима серума односу на групу 3+3 (MW, \*\*) и групу 4+4 (MW,\*). Вредности *IL-2* у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*\*), групу 3+4 (MW,\*) и групу 4+4 (MW,\*\*). Вредности *IL-2* у узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*), групу 3+4 (MW,\*\*) и групу 4+4 (MW,\*\*\*)(Табела 4.2.-3.).

После терапије, поређење просечне концентрације *IL-2* између испитиваних група показало је практично исти профил, са највећим просечним вредностима у узорцима групе 4+3. Група 4+3 имала је значајно веће вредности *IL-2* у узорцима серума односу на групу 3+3 (MW, \*\*). Вредности *IL-2* у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групу 3+4 (MW,\*\*). Вредности *IL-2* у узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групу 4+4 (MW,\*\*)(Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *IL-2* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст у узорцима урина 3+3 групе (W, \*\*\*), као и у све три врсте узорака групе 4+4, серума (W, \*\*), урина (W, \*\*) и урина (м)(W, \*\*)(Табела 4.2.-4.). Вредности *IL-2* биле су значајно снижене у узорцима урина (м) групе 3+4 (W, \*) и 4+3 (W, \*\*\*)(Табела 4.2.-5.).

##### 4.2.2. Концентрација *IFN-γ* у односу на *Gleason* скор

Као и вредности *IL-2* пре терапије, поређење просечне концентрације *IFN-γ* између испитиваних група показало је пораст вредности од групе са најмањим *Gleason* скор-ом, 3+3, до групе 4+3 (Табела 4.2.-1.). У групи 4+3 детектовали смо значајно већу концентрацију *IFN-γ* у све три врсте узорака. Наиме, група 4+3 имала је значајно веће вредности *IL-2* у узорцима серума односу на групу 3+3 (MW, \*). Вредности *IFN-γ* у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*). Вредности *IFN-γ* у

узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*), групу 3+4 (MW,\*) и групу 4+4 (MW,\*) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, поређење просечне концентрације *IFN-γ* између испитиваних група показало је практично исти профил, са највећим просечним вредностима у узорцима групе 4+3. Група 3+3 имала је значајно ниже вредности *IFN-γ* у узорцима серума односу на групу 3+4 (MW, \*) и групу 4+4 (MW, \*). Вредности *IFN-γ* у узорцима урина групе 4+3 биле су значајно веће у односу на групу 3+3 (MW,\*\*) и групу 3+4 (MW, \*). Вредности *IFN-γ* у узорцима урина (м) групе 4+4 биле су значајно веће у односу на групу 3+3 (MW,\*) и групу 3+4 (MW,\*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Табела 4.2.-1. Поређење просечних концентрација између група КаП болесника према *Gleason* скору 0 дана.  
( $x \pm SD$ , pg/ml, MW-test).

Gleason		0 дан, КаП			
узорак		3+3	3+4	4+3	4+4
IL-2	C	40± 12	42± 12	50± 14	40± 10
IFN-γ	C	6± 6	9± 9	13± 11	9± 4
IL-12	C	103± 57	94± 24	110± 40	97± 32
IL-10	C	62± 45	50± 21	75± 42	44± 16
IL-17	C	6± 6	9± 9	35± 34	33± 39
IL-1β	C	60± 38	49± 32	50± 19	50± 23
TNF-α	C	138± 32	100± 40	149± 46	172± 21
IL-33	C	187± 38	129± 53	229± 90	233± 56
MCP-1	C	98± 30	104± 29	119± 38	96± 15
IL-8	C	531± 315	483± 488	740± 457	756± 746
IL-6	C	7± 4	9± 7	14± 8	6± 1
IL-18	C	536± 232	222± 144	711± 358	266± 152
IL-23	C	87± 44	67± 13	75± 16	74± 22

узорак		3+3	3+4	4+3	4+4
IL-2	Y	28± 11	32± 10	41± 12	30± 8
IFN-γ	Y	<sup>a</sup> 3± 4	4± 4	7± 5	4± 2
IL-12	Y	72± 22	88± 22	97± 28	80± 14
IL-10	Y	31± 13	40± 17	45± 21	31± 6
IL-17	Y	4± 5	5± 5	11± 16	3± 3
IL-1β	Y	24± 8	26± 6	33± 10	26± 6
TNF-α	Y	89± 47	70± 51	63± 25	55± 4
IL-33	Y	131± 69	103± 78	93± 44	85± 15
MCP-1	Y	74± 17	79± 9	95± 20	76± 13
IL-8	Y	341± 325	190± 93	324± 314	118± 15
IL-6	Y	4± 1	5± 2	8± 5	4± 1
IL-18	Y	22± 11	23± 9	30± 10	25± 7
IL-23	Y	55± 10	60± 8	66± 14	60± 10

узорак		3+3	3+4	4+3	4+4
<b>IL-2</b>	У(м)	33± 15	32± 10	<b>44± 13</b>	29± 6
<b>IFN-γ</b>	У(м)	<sup>a</sup> 3± 3	<sup>b</sup> 4± 3	<b>8± 6</b>	<sup>c</sup> 3± 3
<b>IL-12</b>	У(м)	79± 34	76± 17	<b>105± 34</b>	70± 11
<b>IL-10</b>	У(м)	34± 22	31± 14	56± 26	27± 6
<b>IL-17</b>	У(м)	5± 5	3± 3	24± 28	4± 3
<b>IL-1β</b>	У(м)	28± 10	26± 6	<b>35± 11</b>	26± 5
<b>TNF-α</b>	У(м)	93± 75	94± 61	90± 33	81± 28
<b>IL-33</b>	У(м)	132± 112	125± 81	126± 49	118± 42
<b>MCP-1</b>	У(м)	81± 21	74± 13	<b>96± 22</b>	75± 8
<b>IL-8</b>	У(м)	<b>501± 395</b>	302± 155	322± 259	248± 175
<b>IL-6</b>	У(м)	5± 1	4± 1	<b>10± 8</b>	4± 0
<b>IL-18</b>	У(м)	24± 14	20± 7	27± 15	20± 6
<b>IL-23</b>	У(м)	62± 17	60± 10	<b>72± 17</b>	57± 4

Поређење вредности *IFN-γ* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст у узорцима урина 3+3 групе (W, \*\*\*), као и у све три врсте узорака групе 4+4, серума (W, \*), урина (W, \*) и урина (м)(W, \*) (Табела 4.2.-4.). Вредности *IFN-γ* биле су значајно снижене у узорцима групе 4+3, узорцима серума (W, \*) и урина (м)(W, \*\*\*) (Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.3. Концентрација *IL-12* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, поређење просечне концентрације *IL-12* између испитиваних група показало је пораст вредности од групе са најмањим *Gleason* скор-ом, 3+3, до групе 4+3 (Табела 4.2.-1.). У групи 4+3 детектовали смо значајно већу концентрацију *IL-12* у све три врсте узорака. Вредности *IL-12* у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*). Вредности *IL-12* у узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*) и групу 4+4 (MW, \*\*) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, поређење просечне концентрације *IL-12* између испитиваних група показало је практично исти профил, са највећим просечним вредностима у узорцима серума и урина групе 4+3. Вредности *IL-12* у узорцима урина 4+3 биле су значајно веће у односу на групу 3+4 (MW, \*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *IL-12* у узорцима истог пацијента групе 3+3 после/пре терапије показало је значајан пораст у узорцима серума (W, \*) и урина (W, \*\*\*). Такође, значајан пораст детектован је у узорцима серума групе 4+3 (W, \*) и узорцима урина (м) групе 4+4 (W, \*\*\*). Вредности *IL-12* биле су значајно снижене у узорцима урина групе 3+4 (W, \*) и у узорцима урина (м) групе 4+3 (W, \*\*\*) (Табела 4.2.-5.).



#### 4.2.4. Концентрација IL-10 у односу на Gleason скор

Пре терапије, у групи 4+3 детектовали смо значајно веће вредности IL-10 у узорцима серума односу на групу 4+4 (MW, \*) (Табела 4.2.-1.). Вредности IL-10 у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*) и групу 4+4 (MW,\*). Вредности IL-10 у узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*), 3+4 (MW,\*) и 4+4 (MW,\*\*) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, поређење просечних концентрација IL-10 између испитиваних група показало је није показало постојање значајних разлика (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности IL-10 у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст у све три врсте узорака групе 4+4, серума (W, \*\*\*), урина (W, \*\*) и урина (м) (W, \*\*) (Табела 4.2.-4.). Вредности IL-10 биле су значајно снижене у узорцима урина (м) 4+3 (W, \*\*\*) (Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.5. Концентрација IL-17 у односу на Gleason скор

Пре терапије, поређење просечне концентрације IL-17 између испитиваних група показало је пораст вредности од групе са најмањим Gleason скор-ом, 3+3, до групе 4+3 (Табела 4.2.-1.). У групи 4+3 детектовали смо значајно већу концентрацију IL-17 у све три врсте узорака. Наиме, група 4+3 имала је значајно веће вредности IL-17 у узорцима серума односу на групу 3+3 (MW, \*\*\*) и групу 3+4 (MW, \*\*). Такође, група 4+4 имала је значајно веће вредности овога цитокина у односу на групу 3+3 (MW, \*) и групу 3+4 (MW,\*). Вредности IL-17 у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*), и групу 4+4 (MW,\*). Вредности IL-17 у узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*), групу 3+4 (MW,\*\*) и групу 4+4 (MW,\*\*) (Табела 4.2.-3.).

Табела 4.2.-2. Поређење просечних концентрација између група КаП болесника према Gleason скору 60 дана. ( $x \pm SD$ , pg/ml, MW-test).

Gleason		60 дан, КаП			
узорак		3+3	3+4	4+3	4+4
IL-2	C	39± 7	47± 22	<b>51± 17</b>	42± 9
IFN-γ	C	6± 3	8± 10	<b>10± 7</b>	9± 5
IL-12	C	113± 54	95± 33	119± 37	100± 18
IL-10	C	62± 40	55± 29	71± 34	77± 33
IL-17	C	8± 8	8± 10	<b>24± 24</b>	7± 5
IL-1β	C	46± 20	37± 12	45± 12	<b>42± 13</b>
TNF-α	C	119± 46	122± 87	109± 25	<b>212± 89</b>

<b>IL-33</b>	<b>C</b>	161± 63	162± 125	159± 38	<b>284±108</b>
<b>MCP-1</b>	<b>C</b>	96± 23	109± 60	104± 25	112± 32
<b>IL-8</b>	<b>C</b>	533± 492	754± 516	648± 507	<b>920± 312</b>
<b>IL-6</b>	<b>C</b>	7± 5	10± 10	<b>14± 14</b>	9± 6
<b>IL-18</b>	<b>C</b>	404± 193	252± 176	<b>528± 166</b>	421± 131
<b>IL-23</b>	<b>C</b>	77± 20	76± 39	78± 23	79± 22

узорак		<b>3+3</b>	<b>3+4</b>	<b>4+3</b>	<b>4+4</b>
<b>IL-2</b>	<b>Y</b>	35± 11	31± 8	<b>40± 9</b>	36± 8
<b>IFN-γ</b>	<b>Y</b>	4± 4	3± 3	<b>7± 3</b>	6± 4
<b>IL-12</b>	<b>Y</b>	88± 20	75± 15	<b>90± 12</b>	86± 19
<b>IL-10</b>	<b>Y</b>	37± 16	31± 11	41± 12	36± 10
<b>IL-17</b>	<b>Y</b>	5± 5	3± 1	6± 5	5± 3
<b>IL-1β</b>	<b>Y</b>	28± 6	26± 5	<b>32± 3</b>	30± 9
<b>TNF-α</b>	<b>Y</b>	<b>94± 47</b>	49± 28	66± 25	49± 6
<b>IL-33</b>	<b>Y</b>	<b>138±73</b>	66± 38	95± 42	73± 7
<b>MCP-1</b>	<b>Y</b>	82± 16	76± 11	<b>92± 11</b>	81± 12
<b>IL-8</b>	<b>Y</b>	297± 260	167± 85	392± 408	204± 92
<b>IL-6</b>	<b>Y</b>	4± 1	4± 1	<b>6± 2</b>	4± 1
<b>IL-18</b>	<b>Y</b>	30± 11	22± 7	<b>38± 20</b>	28± 10
<b>IL-23</b>	<b>Y</b>	61± 11	59± 9	64± 8	63± 8

узорак		<b>3+3</b>	<b>3+4</b>	<b>4+3</b>	<b>4+4</b>
<b>IL-2</b>	<b>Y(м)</b>	33± 11	27± 12	33± 8	<b>35± 4</b>
<b>IFN-γ</b>	<b>Y(м)</b>	3± 3	3± 3	5± 4	<b>6± 3</b>
<b>IL-12</b>	<b>Y(м)</b>	77± 23	71± 17	83± 26	86± 16
<b>IL-10</b>	<b>Y(м)</b>	32± 15	27± 13	41± 24	34± 11
<b>IL-17</b>	<b>Y(м)</b>	5± 5	2± 3	<b>6± 6</b>	3± 2
<b>IL-1β</b>	<b>Y(м)</b>	26± 7	25± 7	29± 8	27± 3
<b>TNF-α</b>	<b>Y(м)</b>	<b>90± 46</b>	48± 25	67± 23	60± 32
<b>IL-33</b>	<b>Y(м)</b>	<b>131± 74</b>	68± 36	100± 36	91± 53
<b>MCP-1</b>	<b>Y(м)</b>	77± 18	73± 14	85± 23	80± 5
<b>IL-8</b>	<b>Y(м)</b>	199± 118	125± 60	322± 260	<b>173± 68</b>
<b>IL-6</b>	<b>Y(м)</b>	4± 1	4± 1	8± 5	4± 1
<b>IL-18</b>	<b>Y(м)</b>	23± 10	20± 10	26± 17	25± 12
<b>IL-23</b>	<b>Y(м)</b>	60± 13	56± 12	61± 14	61± 7

После терапије, поређење просечне концентрације *IL-17* између испитиваних група показало је практично исти профил, са највећим просечним вредностима у узорцима групе 4+3. Група 4+3 имала је значајно веће вредности *IL-17* у узорцима серума односу на групу 3+3 (MW, \*), групу 3+4 (MW,\*) и групу 4+4 (MW,\*). Вредности *IL-17* у узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групу 3+4 (MW,\*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.)..

Поређење вредности *IL-17* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је да не постоји значајан пораст, већ искључиво значајно смањење концентрације овога

цитокина у свим групама. Тако, вредности *IL-17* биле су снижене у узорцима урина (м) групе 3+3 (W, \*), групе 3+4 (W, \*) групе 4+3 (W, \*\*\*) и 4+4 (W, \*\*\*). Додатно, вредности *IL-17* биле су снижене у узорцима серума (м) групе 4+4 (W, \*\*)(Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.6. Концентрација *IL-1β* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, у групи 3+3 детектовали смо највећу просечну концентрацију *IL-1β*, без значајних разлика у односу на дуге групе (Табела 4.2.-1.). Вредности *IL-1β* у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*\*), групу 3+4 (MW,\*) и групу 4+4 (MW,\*). Вредности *IL-1β* у узорцима урина (м) биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW, \*\*), групу 3+4 (MW,\*) и групу 4+4 (MW,\*) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, група 4+3 имала је значајно веће вредности *IL-1β* у узорцима серума односу на групу 3+4 (MW, \*). Вредности *IL-1β* у узорцима урина биле су значајно веће у односу на групу 3+4 (MW,\*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *IL-1β* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст у узорцима урина 3+3 групе (W, \*\*\*) и 4+4 групе (W, \*\*) (Табела 4.2.-4.). Вредности *IL-1β* биле су значајно снижене у узорцима серума група 3+3 (W, \*) и 4+4 (W, \*), као и у узорцима урина (м) групе 3+4 (W, \*\*\*)(Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.7. Концентрација *TNF-α* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, у узорцима серума групе 4+4 детектовали смо највећу просечну концентрацију *TNF-α*, значајно већу у односу на групе 3+3 (MW, \*), 3+4 (MW, \*\*\*) и 4+3 (MW, \*\*)(Табела 4.2.-1.). Вредности *TNF-α* у узорцима урина групе 3+3 биле су највеће, значајно веће у односу на групу 4+4 (MW,\*) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, група 4+3 имала је значајно веће вредности *TNF-α* у узорцима серума односу на групе 3+4 (MW,\*), 4+3 (MW,\*) и 4+4 (MW,\*). Насупрот томе, група 3+3 имала је највеће просечне вредности овога цитокина у узорцима урина, значајно веће у односу на групу 3+4 (MW, \*\*\*)(Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *TNF-α* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је да не постоји значајан пораст, већ искључиво значајно смањење концентрације овога цитокина у свим групама. Терапија је индуковала значајно снижење у узорцима серума групе 4+3 (W,\*\*\*), као и у узорцима урина група 3+4 (W,\*) и 4+4 (W,\*\*). Такође, значајно смањење вредности детектовано је у узорцима урина (м) група 3+4 (W,\*\*), 4+3 (W,\*) и 4+4 (W,\*\*) (Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.8. Концентрација *IL-33* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, највеће вредности *IL-33* у узорцима серума детектоване су у групи 4+4, значајно веће од вредности у групи 3+4 (MW,\*\*\*)( Табела 4.2.-1.). Такође, у групи 4+3 детектовали смо значајно веће концентрације овог цитокина у односу на групу 3+3 (MW,\*\*) и групу 3+4 (MW,\*\*\*). Вредности *IL-33* одређене у узорцима урина и урина (м), иако су биле највеће у групи 3+3, нису се значајно разликовале између испитиваних група(Табела 4.2.-3.).

После терапије, највеће просечне вредности *IL-33* у узорцима серума детектоване су у групи 4+3, значајно веће вредности односу на групе 3+3 (MW,\*\*\*), 3+4 (MW,\*\*\*) и 4+3 (MW,\*\*\*). Насупрот овом налазу, у узорцима урина највеће вредности *IL-33* имала је група 3+3, значајно веће у поређењу са групама 3+4 (MW,\*\*\*), 4+3 (MW,\*\*) и 4+4 (MW,\*\*\*). Опет, у групи 3+3 детектоване су највеће просечне вредности *IL-33* у узорцима урина (м), значајно веће од вредности *IL-33* групе 3+4 (MW,\*\*\*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *IL-33* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајано смањење вредности у свим групама. Значајно смањење вредности овог цитокина у серуму детектовано је у групи 4+3 (W,\*\*\*). У узорцима урина, значајно смањење *IL-33* детектовано је у групама 3+4 (W,\*) и 4+4 (W, \*\*). У узорцима урина (м), значајно смањење *IL-33* детектовано је такође у групама 3+4 (W,\*) и 4+4 (W, \*\*)(Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.9. Концентрација *MCP-1* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, највеће просечне вредности *MCP-1* у узорцима серума детектоване су у групи 4+3, без значајних разлика у односу на друге испитиване групе ( Табела 4.2.-1.). Вредности *MCP-1* одређене у узорцима урина групе 4+3 биле су значајно веће у односу на на групе 3+3 (MW,\*\*\*), 3+4 (MW,\*) и 4+4 (MW, \*\*). Такође, вредности *MCP-1* одређене у узорцима урина групе 4+3 биле су значајно веће у односу на на групе 3+4 (MW,\*\*) и 4+4 (MW, \*\*)(Табела 4.2.-3.).

После терапије, највеће просечне вредности *MCP-1* у узорцима серума детектоване су у групи 4+3, без значајних разлика у односу на друге испитиване групе. У узорцима урина највеће вредности *MCP-1* имала је група 4+3, значајно веће у поређењу са групама 3+4 (MW,\*\*\*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *MCP-1* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајано повећање вредности у свим узорцима групе 4+4, серуму (W, \*\*), урину (W, \*) и урину (м) (W, \*\*). Значајно смањење вредности овог цитокина (м) детектовано је у узорцима урина групе 4+3 (W,\*\*\*) (Табела 4.2.-5.).

Табела 4.2.-3. Статистичка значајност разлика између група КаП разврстаних према вредностима *Gleason* скорa (MW-test, 0 дан).

0 дан Gleason	узорак	3+3 /3+4	3+3 /4+3	3+3 /4+4	3+4 /4+3	3+4 /4+4	4+3 /4+4
IL-2	C		**				*
	Y		***		*		**
	Y (M)		**		**		***
IFN- $\gamma$	C		*				
	Y		**				
	Y (M)		**		*		
IL-12	C						
	Y		**				
	Y (M)		*				**
IL-10	C						*
	Y		*				*
	Y (M)		*		*		**
IL-17	C		***	*	**	*	
	Y		*				*
	Y (M)		**		**		**
IL-1 $\beta$	C						
	Y		***		*		*
	Y (M)		**		*		*
TNF- $\alpha$	C	*		*	**	***	
	Y			*			
	Y (M)						
IL-33	C	**			***	***	
	Y						
	Y (M)						
MCP-1	C						
	Y		***		*		**
	Y (M)				**		**
IL-8	C				**		
	Y			***		*	*
	Y (M)						***
IL-6	C						
	Y						
	Y (M)						
IL-18	C	***		**	***		***
	Y		**		*		
	Y (M)						
IL-23	C						
	Y		**				*
	Y (M)						

#### 4.2.10. Концентрација *IL-8* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, највеће просечне вредности *IL-8* у узорцима серума детектоване су у групама 4+3 и 4+4. Значајне разлике установили смо између групе 4+3 и групе 3+4 (MW,\*\*)(Табела 4.2.-1.). Насупрот овоме налазу, вредности *IL-8* у узорцима урина биле су најмање у групи 4+4, значајно мање у односу на све испитиване групе, групе 3+3 (MW,\*\*\*), 3+4 (MW,\*) и 4+3 (MW,\*). Упркос највећој просечној вредности овога цитокина у узорцима урина (м) групе 3+3, једина значајна разлика било је повећање вредности *IL-8* у групи 4+3 у односу на групу 4+4 (MW,\*\*\*)(Табела 4.2.-3.).

После терапије, вредности *IL-8* одређене у узорцима серума групе 4+4 биле су значајно веће у односу на групе 3+3 (MW,\*\*\*). Вредности *IL-8* одређене у узорцима урина (м) групе 4+4 биле су значајно веће у односу на групе 3+4 (MW,\*\*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.)..

Поређење вредности *IL-8* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајано повећање вредности у узорцима серума групе 3+4, (W,\*), као и у узорцима урина групе 4+4, (W,\*\*). Даље, детектовали смо значајан пад вредности *IL-8* у узорцима урина (м) група 3+3 (W,\*\*\*), 3+4 (W,\*\*\*)) и 4+3 (W,\*\*\*)) (Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.11. Концентрација *IL-6* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, највеће просечне вредности *IL-6* у све три врсте узорака детектоване су у групи 4+3, али без значајних разлика у односу на друге групе (Табела 4.2.-1.) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, такође највеће просечне вредности *IL-6* у све три врсте узорака детектоване су у групи 4+3, али без значајних разлика у односу на друге групе (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *IL-6* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајано повећање вредности у узорцима урина групе 3+3, (W,\*), као и у узорцима серума (W,\*\*\*)) и урина групе 4+4, (W,\*\*). Даље, детектовали смо значајан пад вредности *IL-6* у узорцима урина (м) групе 4+3 (W,\*\*\*)) (Табела 4.2.-5.).

4.2.12. Концентрација *IL-18* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, највеће просечне вредности *IL-18* у узорцима серума детектоване су у групама 3+3 и 4+3. *IL-18* је био значајно повећан у узорцима серума групе 3+3 у односу на групе 3+4 (MW, \*\*\*), 4+4 (MW, \*\*), као и у узорцима серума групе 4+3 у односу на групе 3+4 (MW, \*\*), 4+4 (MW, \*\*\*). *IL-18* у узорцима урина је био значајно повећан у групи 4+3 у односу на групе 3+3 (MW, \*\*), 3+4 (MW, \*) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, *IL-18* је био значајно снижен у узорцима серума групе 3+4 у односу на групе 3+3 (MW, \*) и 4+3 (MW, \*\*\*). Исту значајност утврдили смо и у узорцима урина, где је *IL-18* био значајно снижен у узорцима серума групе 3+4 у односу на групе 3+3 (MW, \*) и 4+3 (MW, \*\*\*) (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *IL-18* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајано повећање вредности у узорцима урина групе 3+4, (W, \*\*), као и у узорцима серума групе 4+4, (W, \*). Даље, детектовали смо значајан пад вредности *IL-18* у узорцима серума и урина (M) групе 4+3 (W, \*\*\*) (Табела 4.2.-5.).

Табела 4.2.-4. Статистичка значајност разлика између група КаП разврстаних према вредностима *Gleason* скорa (MW-test, 60 дан).

60 дан Gleason	узорак	3+3 / 3+4	3+3 /4+3	3+3 /4+4	3+4 /4+3	3+4 /4+4	4+3 /4+4
IL-2	C		**				
	У				**		
	У (M)					**	
IFN- $\gamma$	C		*	*			
	У		**		*		
	У (M)			*		*	
IL-12	C						
	У				*		
	У (M)						
IL-10	C						
	У						
	У (M)						
IL-17	C		*		*		*
	У						
	У (M)				*		
IL-1 $\beta$	C					*	
	У				*		
	У (M)						
TNF- $\alpha$	C			**		***	**
	У	***		***			
	У (M)	***					

IL-33	C			***		***	***
	У	***	**	***			
	У (м)	***					
MCP-1	C						
	У				***		
	У (м)						
IL-8	C			**			
	У					**	
	У (м)						
IL-6	C						
	У						
	У (м)						
IL-18	C	*			***		*
	У	*			***		
	У (м)						
IL-23	C						
	У						
	У (м)						

#### 4.2.13. Концентрација *IL-23* у односу на *Gleason* скор

Пре терапије, највеће просечне вредности *IL-23* у узорцима серума детектоване су у групи 3+3, али без значајних разлика у односу на друге групе (Табела 4.2.-1.). *IL-23* је био значајно повећан у узорцима урина групе 4+3, значајно већи у односу на групе 3+3 (MW, \*\*), 4+4 (MW, \*) (Табела 4.2.-3.).

После терапије, просечне вредности *IL-23* у све три врсте узорака нису се значајно разликовале између испитиваних група (Табела 4.2.-2.) (Табела 4.2.-4.).

Поређење вредности *IL-23* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајано повећање вредности у узорцима урина групе 3+3, (W, \*\*\*), као и у узорцима серума (W, \*\*) и урина (м) групе 4+4, (W, \*\*) (Табела 4.2.-5.).

#### 4.2.14. Динамика профила испитиваних цитокина у односу на *GLEASON* скор утврђена у свакој појединачној групи након терапије

Поређењем вредности 60/о дан за сваки испитивани цитокин у појединачној групи можемо да нагласимо да постоји значајно повећање/смањење профила одређених цитокина, карактеристично за поједине групе (Табела 4.2.-5.).

У узорцима серума групе 3+3 детектовали смо значајан пораст вредности *IL-2*, као и значајно снижење вредности У узорцима урина детектовали смо значајан пораст *IL-12*,



*IL-2, IL-18, IL-1β, IL-6, IFN-γ и IL-23.* У узорцима урина (м) детектовали смо значајно снижење вредности *IL-17* и *IL-8*.

У узорцима серума групе 3+4 детектовали смо значајан пораст вредности *IL-8*. У узорцима урина детектовали смо значајан снижење вредности *IL-12, TNF-α* и *IL-33*. У узорцима урина (м) детектовали смо значајно снижење вредности *IL-2, IL-17, TNF-α, IL-33* и *IL-8*.

У узорцима серума групе 4+3 детектовали смо значајан пораст вредности *IL-2*, као и значајно снижење вредности *IFN-γ, TNF-α, IL-33* и *IL-18*. У узорцима урина није било значајних промена концентрације 60/0 дана. У узорцима урина (м) детектовали смо значајно снижење вредности практично свих испитиваних цитокина *IL-17, IL-2, IFN-γ, IL-10, IL-1β, IL-12, TNF-α, MCP-1, IL-8, IL-6* и *IL-18*.

У узорцима серума групе 4+4 детектовали смо значајан пораст вредности *IL-2, IFN-γ, IL-10, MCP-1, IL-6, IL-18* и *IL-23*, као и значајно смањење вредности *IL-17* и *IL-1β*. У узорцима урина детектовали смо значајно повећање вредности *IL-2, IFN-γ, IL-10, IL-1β, MCP-1, IL-8* и *IL-6*, као и значајно смањење вредности *TNF-α* и *IL-33*. У узорцима урина (м) детектовали смо значајно повећање вредности *IL-2, IFN-γ, IL-12, IL-10, MCP-1* и *IL-23*, као и значајно снижење вредности *IL-17, TNF-α* и *IL-33*.

Табела 4.2.-5. Приказ промене динамике цитокина унутар сваке групе КаП болесника према *GLEASON* скору (после/пре терапије, Wilcoxon- test).

CP Gleason	3+3			3+4			4+3			4+4		
	s	u	u(M)	s	u	u(M)	s	u	u(M)	s	u	u(M)
<b>IL-2</b>	▽	▲***	▽	▲	▽	*▽	▲	▽	***▽	▲**	▲**	▲**
<b>IFN-γ</b>	▽	▲***	▽	=	▽	▽	*▽	▲	***▽	▲*	▲*	▲*
<b>IL-12</b>	▲*	▲***	▽	=	*▽	▽	▲*	▽	***▽	▲	▲	▲***
<b>IL-10</b>	=	▲	▽	▲	▽	▽	▽	▽	***▽	▲***	▲**	▲**
<b>IL-17</b>	▲	▲	*▽	▽	▽	*▽	▽	▽	***▽	*▽	▲	***▽
<b>IL-1β</b>	*▽	▲***	▽	▽	▽	▽	▽	▽	***▽	*▽	▲**	▲
<b>TNF-α</b>	▽	▲	▽	▲	*▽	***▽	***▽	▲	*▽	▲	*▽	*▽
<b>IL-33</b>	▽	▲	=	▲	*▽	***▽	***▽	=	▽	▲	*▽	***▽
<b>MCP-1</b>	▽	▲	▽	▲	▽	▽	▽	▽	***▽	▲**	▲*	▲**
<b>IL-8</b>	=	▽	***▽	▲*	▽	***▽	▽	▲	***▽	▲	▲**	▽
<b>IL-6</b>	▽	▲*	▽	▲	▽	=	▲	▽	***▽	▲***	▲**	▲
<b>IL-18</b>	▽	▲**	▲	▲	▽	▽	***▽	▲	***▽	▲*	▲	▲
<b>IL-23</b>	▽	▲***	▽	▲	▽	▽	▲	▽	▽	▲**	▲	▲**

#### 4.3. Вредности цитокина у узорцима КаП болесника у групама подељеним према серумској концентрацији ПСА.

Концентрације интерлеукина одређиване у узорцима 88 болесника са КаП анализирани су и у односу на серумске концентрације ПСА. Пацијенти су подељени у две групе, са вредностима ПСА  $> 10 \text{ ng/ml}$  и групу са вредностима ПСА  $< 10 \text{ ng/ml}$ .

##### 4.3.1. Концентрација *IL-2* у односу на ПСА вредности.

Вредности *IL-2* у узорцима серума, урина и урина након масаже простате нису се значајно разликовале између испитиваних група (Табела 4.3.-1.). У групи са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$  шездесет дана након терапије дошло до статистички значајног пада концентрације *IL-2* у урину након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p<0,01$ ) (Табела 4.3.-2.).

##### 4.3.2. Концентрација *IFN- $\gamma$* у односу на ПСА вредности

Вредности *IFN- $\gamma$*  биле су значајно веће у узорцима серума групе КаП са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$ , и пре и после терапије (Табела 4.3.-1.). Такође, *IFN- $\gamma$*  вредност је била значајно већа у узорцима урина групе болесника КаП са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$ , после терапије, 60 дана. Између ове две анализирани групе нису нађене значајне разлике у концентрацији *IFN- $\gamma$*  у урину након масаже простате. Анализа промене концентрације унутар испитиваних група после/пре терапије, показала је да у групи са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$  шездесет дана након терапије долази до значајног пораста концентрације *IFN- $\gamma$*  (*Wilcoxon test*,  $p<0,01$ ) (Табела 4.3.-2.).

##### 4.3.3. Концентрација *IL-12* у односу на ПСА вредности

Вредности *IL-12* биле су значајно веће у узорцима урина у групи која је имала ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$  у поређењу са групом која је имала ПСА  $<10 \text{ ng/ml}$  (Табела 4.3.-1.). У узорцима серума и урина након масаже простате није показана статистички значајна разлика (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). Анализа промене *IL-12* у урину са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$  показала је 60 дана након терапије значајан пад концентрације *IL-12* у урину након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p<0,01$ ), док је у узорцима серума показан значајан пораст концентрације *IL-12* (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ) (Табела 4.3.-2.).

##### 4.3.4. Концентрација *IL-10* у односу на ПСА вредности

Вредности *IL-10* биле су значајно веће у узорцима серума групе КаП са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$ , и пре и после терапије (Табела 4.3.-1.). Такође, вредност *IL-10* је била значајно већа у узорцима урина групе болесника КаП са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$ , после терапије, 60 дана. У групи са ПСА  $>10 \text{ ng/ml}$  60 дана након терапије дошло до статистички значајног пада концентрације *IL-10* у урину након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ) (Табела 4.3.-2.).

Табела 4.3.-1. Просечна концентрација цитокина у групама КаП пацијената подељеним према серумским вредностима ПСА. (групе ПСА <10 ng/ml / ПСА >10 ng/ml. (X ± SD, pg/ml).

КаП		ПСА 0 дан		ПСА 60 дан		k
цитокин		<10 ng/ml	>10 ng/ml	<10 ng/ml	>10 ng/ml	
IL-2	C	43 ± 13	45 ± 14	42 ± 15	48 ± 17	51 ± 14
	Y	33 ± 15	36 ± 9	35 ± 14	36 ± 8	nr
	Y (M)	35 ± 11	37 ± 13	31 ± 11	32 ± 9	nr
IFN-γ	C	9 ± 9	▲* 11 ± 9	6 ± 6	▲* 10 ± 9	27 ± 19
	Y	4 ± 5	4 ± 4	4 ± 4	▲* 6 ± 4	nr
	Y (M)	4 ± 5	5 ± 4	4 ± 4	4 ± 3	nr
IL-12	C	108 ± 48	98 ± 32	108 ± 50	110 ± 29	105 ± 6
	Y	85 ± 30	87 ± 19	81 ± 17	▲* 89 ± 16	nr
	Y (M)	85 ± 33	89 ± 27	78 ± 22	78 ± 22	nr
IL-10	C	64 ± 42	▲* 69 ± 46	59 ± 31	▲* 87 ± 64	55 ± 14
	Y	38 ± 20	39 ± 15	35 ± 21	▲* 38 ± 14	nr
	Y (M)	35 ± 14	48 ± 15	29 ± 15	33 ± 15	nr
IL-17	C	22 ± 30	30 ± 35	5 ± 5	▲*** 24 ± 27	5 ± 3
	Y	7 ± 11	5 ± 6	5 ± 5	4 ± 4	nr
	Y (M)	7 ± 9	6 ± 6	4 ± 4	2 ± 3	nr
IL-1β	C	60 ± 44	50 ± 26	43 ± 18	▲* 50 ± 27	70 ± 43
	Y	26 ± 9	29 ± 8	28 ± 6	▲* 31 ± 5	nr
	Y (M)	29 ± 10	30 ± 9	25 ± 7	28 ± 7	nr
TNF-α	C	143 ± 41	132 ± 37	103 ± 35	▲*** 135 ± 65	125 ± 53
	Y	81 ± 34	79 ± 18	87 ± 50	65 ± 34	nr
	Y (M)	▲*** 115 ± 58	61 ± 20	▲* 78 ± 40	62 ± 28	nr
IL-33	C	194 ± 88	191 ± 54	146 ± 68	▲** 192 ± 89	148 ± 90
	Y	▲** 121 ± 71	81 ± 34	100 ± 68	96 ± 50	nr
	Y (M)	▲** 144 ± 95	85 ± 30	110 ± 68	90 ± 43	nr
MCP-1	C	113 ± 43	194 ± 88	99 ± 33	146 ± 68	131 ± 47
	Y	79 ± 18	▲** 121 ± 71	87 ± 34	100 ± 68	nr
	Y (M)	86 ± 29	144 ± 95	83 ± 32	110 ± 68	nr
IL-8	C	494 ± 478	▲** 804 ± 620	711 ± 670	1067 ± 1000	282 ± 208
	Y	▲** 383 ± 503	161 ± 61	360 ± 511	183 ± 78	nr
	Y (M)	▲* 687 ± 663	334 ± 347	370 ± 600	185 ± 100	nr
IL-6	C	9 ± 6	12 ± 13	9 ± 11	12 ± 12	36 ± 24
	Y	7 ± 5	5 ± 3	4 ± 1	▲* 5 ± 2	nr
	Y (M)	7 ± 6	6 ± 4	5 ± 4	5 ± 3	nr
IL-18	C	404 ± 267	▲** 584 ± 373	358 ± 228	▲** 500 ± 217	515 ± 205
	Y	23 ± 12	▲** 29 ± 8	29 ± 19	36 ± 20	nr
	Y (M)	23 ± 14	25 ± 10	21 ± 9	26 ± 18	nr
IL-23	C	80 ± 35	78 ± 28	75 ± 23	81 ± 36	85 ± 25
	Y	60 ± 13	62 ± 10	64 ± 16	65 ± 13	nr
	Y (M)	60 ± 10	62 ± 8	58 ± 13	60 ± 12	nr

4.3.5. Концентрација *IL-17* у односу на ПСА вредности

Вредности *IL-17* биле су значајно веће у узорцима серума групе КаП са ПСА >10 *ng/ml* пре терапије (Табела 4.3.-1.). Динамика промене *IL-17* у анализираним узорцима у групи која је имала ПСА >10 *ng/ml* је показала да је након терапије дошло до пада концентрације *IL-17* у свим узорцима, али је значајан пад забележен у урину након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p < 0,001$ ) (Табела 4.3.-2.).

4.3.6. Концентрација *IL-1β* у односу на ПСА вредности

У групи са ПСА >10 *ng/ml* смо детектовали значајно веће вредности *IL-1β* у узорцима серума и урина у односу на групу ПСА <10 *ng/ml*, али само после терапије (Табела 4.3.-1.). Анализа промене *IL-1β* у узорцима групе ПСА <10 *ng/ml* је показала да је 60 дана након терапије значајно пала концентрација *IL-1β* у узорцима серума и урина након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ) (Табела 4.3.-2.). Анализа промене *IL-1β* у узорцима групе ПСА >10 *ng/ml* је показала да је 60 дана након терапије дошло до пада концентрације *IL-1β* у узорцима урина након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p < 0,01$ ).

Табела 4.3.-2. Приказ промене динамике цитокина унутар сваке групе КаП болесника (*Wilcoxon test*). Значајност промене концентрације обележена је звездицама.

CP, PSA	<10 ng/ml			>10 ng/ml		
	serum	urine	urine (M)	serum	urine	urine (M)
IL-2	▼	▲	▼	▲	=	**▼
IFN-γ	▼	=	=	▼	▲**	**▼
IL-12	=	▼	▼	▲***	▲	**▼
IL-10	▼	▼	*▼	▲	=	***▼
IL-17	**▼	▼	*▼	▼	▼	***▼
IL-1β	**▼	▲	**▼	=	▲	**▼
TNF-α	▼	▼	▼	▲	▼	▲
IL-33	*▼	*▼	*▼	▲	▲	▲
MCP-1	▼	▲	▼	▼	▼	▼
IL-8	▲	▼	***▼	▲	▲*	*▼
IL-6	=	▼	▼	=	=	*▼
IL-18	▼	▲	▼	▼	▲*	▼
IL-23	▼	▲	**▼	▲	▲	**▼

#### 4.3.7. Концентрација *TNF- $\alpha$* у односу на *PSA* вредности

Вредности *TNF- $\alpha$*  биле су повећане у узорцима урина (м) групе ПСА <10 *ng/ml* и пре и након терапије (Табела 4.3.-1.). Насупрот томе, вредности *TNF- $\alpha$*  биле су повећане у узорцима серума групе ПСА >10 *ng/ml*, након терапије.

#### 4.3.8. Концентрација *IL-33* у односу на ПСА вредности

Вредности *IL-33* пре терапије биле су значајно вече у узорцима урина и урина (м) у групи ПСА <10 *ng/ml*, док су после терапије биле значајно веће у узорцима серума групе са ПСА >10 *ng/ml* (Табела 4.3.-1.). 60 дана након терапије дошло до значајног пада концентрације *IL-33* у свим анализираним узорцима групе ПСА <10 *ng/ml* (*Wilcoxon test*,  $p < 0,05$ ) (Табела 4.3.-2.).

#### 4.3.9. Концентрација *MCP-1* у односу на ПСА вредности

Вредности *MCP-1* биле су значајно вече у узорцима урина у групи ПСА >10 *ng/ml*, пре терапије (Табела 4.3.-1.). Друга поређења нису показала постојање значајних разлика.

#### 4.3.10. Концентрација *IL-8* у односу на ПСА вредности

Пре теарапије, значајно повећање вредности *IL-8* утврдили смо у узорцима урина и урина (м) групе ПСА <10 *ng/ml*, као и у узорцима серума групе са ПСА >10 *ng/ml* (Табела 4.3.-1.). После терапије, није било разлике између испитиваних група. У групи ПСА >10 *ng/ml*, 60 дана након терапије дошло до значајног пада концентрације *IL-8* у узорцима урина након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p < 0,05$ ), док је у узорцима урина детектован значајан пораст (*Wilcoxon test*,  $p < 0,05$ ) (Табела 4.3.-2.).

#### 4.3.11. Концентрација *IL-6* у односу на ПСА вредности

Једино значајно повећање вредности *IL-6* утврдили смо након терапије, у узорцима урина групе ПСА >10 *ng/ml* (Табела 4.3.-1.). У групи ПСА >10 *ng/ml*, 60 дана након терапије је дошло до значајног пада концентрације *IL-6* у узорцима урина након масаже простате (*Wilcoxon test*,  $p < 0,05$ ) (Табела 4.3.-2.).

#### 4.3.12. Концентрација *IL-18* у односу на ПСА вредности.

Вредности *IL-18* биле су значајно повећане у групи ПСА >10 *ng/ml*, у узорцима серума пре и после терапије, као и у узорцима урина пре терапије (Табела 4.3.-1.). Опет, у групи ПСА >10 *ng/ml*, након терапије, дошло је до значајног пораста вредности *IL-18* (Табела 4.3.-2.).

#### 4.3.13. Концентрација *IL-23* у односу на ПСА вредности

Концентрације *IL-23* у свим анализираним узорцима пре почетка терапије и 60 дана након терапије нису показале значајне промене између анализираних група (Табела 4.3.-1.).

Након терапије, дошло је до значајнога пада вредности *IL-23* у урину (м) у обе испитиване групе (Табела 4.3.-2.).

Табела 4.3.-3. Поређење група болесника са мањим/већим вредностима ПСА. Приказ профила цитокина чија је концентрација била значајно повећана у испитиваним групама.

	0 дан		0 дан	
	ПСА<10	ПСА>10	ПСА<10	ПСА>10
<b>С</b>		IFN- $\gamma$ , IL-10, MCP-1 IL-8,IL-18		IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-17, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-33, IL-18
<b>У</b>	IL-33, IL-8	MCP-1, IL-18		IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-12, IL-6
<b>У (м)</b>	TNF- $\alpha$ , IL-33, IL-8		TNF- $\alpha$	

4.3.14. Профил испитиваних цитокина у односу на ПСА вредности.

На основу анализираних података, поређењем ове две групе болесника, можемо да нагласимо да постоји значајно повећање профила одређених цитокина.

У узорцима серума болесника групе ПСА >10 *ng/ml*, доминира профил *IFN- $\gamma$* , *IL-10*, *MCP-1*, *IL-8* и *IL-18* (Табела 4.3.-3.). Након терапије, у узорцима серума ове групе детектује се значајан пораст *IFN- $\gamma$* , *IL-10*, *IL-17*, *IL-1 $\beta$* , *TNF- $\alpha$* , *IL-33* и *IL-18*. У узорцима урина ове групе пре терапије манифестно је значајно повећање концентрације *MCP-1* и *IL-18*, а после терапије *IFN- $\gamma$* , *IL-10*, *IL-12*, и *IL-6*. У узорцима урина (м) нема значајнога повећања испитиваних цитокина у односу на другу групу.

У узорцима урина болесника групе ПСА <10 *ng/ml* утврдили смо значајно повећање вредности *IL-33* и *IL-8* пре терапије. У узорцима урина (м) пре терапије утврдили смо значајно повећање вредности *TNF- $\alpha$* , *IL-33* и *IL-8*, као и вредности *TNF- $\alpha$* , после терапије (Табела 4.3.-3.).

#### 4.4. Вредности цитокина у узорцима КаП болесника у групама подељеним према волумену тумора (ТВ).

Концентрације интерлеукина одређиване у узорцима 88 болесника са карциномом простате (КаП) анализирани су и у односу на волумен тумора. Пацијенти су подељени у две групе, са волуменом тумора (ТВ) >10% и волуменом тумора <10% од целокупне величине простате.

##### 4.4.1. Концентрација *IL-2* у односу на волумен тумора.

Једино значајно повећање концентрације *IL-2* утврдили смо у групи ТВ >10% , после терапије (Табела 4.4.-1.). После терапије, у узорцима урина групе ТВ <10% утврдили смо значајан пораст концентрације *IL-2* (у односу на вредности пре терапије, Табела 4.4.-2.) (*Mann-Whitney test*,  $p > 0,05$ ). Са друге стране, после терапије, у узорцима серума групе ТВ >10% утврдили смо значајан пораст *IL-2*. У узорцима урина (м) групе ТВ >10% утврдили смо значајан пад вредности *IL-2* након терапије.

##### 4.4.2. Концентрација *IFN- $\gamma$* у односу на волумен тумора

Значајно повећање вредности *IFN- $\gamma$*  детектовали смо само у узорцима серума групе ТВ >10%, пре почетка терапије (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p > 0,05$ ). После терапије, детектовали смо пораст вредности *IFN- $\gamma$*  у узорцима урина групе ТВ <10% , као и значајно снижење у узорцима урина (м) групе ТВ >10% (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,05$ ).

##### 4.4.3. Концентрација *IL-12* у односу на волумен тумора

Просечне вредности *IL-12* у нису се разликовале између испитиваних група, било пре или после терапије. После терапије, у узорцима урина групе ТВ <10% утврдили смо значајан пораст концентрације *IL-12* (у односу на вредности пре терапије, Табела 4.4.-2.) (*Mann-Whitney test*,  $p > 0,05$ ). Са друге стране, после терапије, у узорцима серума групе ТВ >10% утврдили смо значајан пораст *IL-12*. У узорцима урина (м) групе ТВ >10% утврдили смо значајан пад вредности *IL-12* након терапије (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,05$ ).

##### 4.4.4. Концентрација *IL-10* у односу на волумен тумора

Концентрација *IL-10* је била значајно повећана у узорцима серума групи ТВ >10% и пре и после терапије (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p > 0,05$ ). После терапије, у узорцима серума исте групе, ТВ >10%, детектовали смо значајан пораст вредности *IL-10* (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,05$ ). У узорцима урина (м) обе групе, детектовали смо значајан пад *IL-10* након терапије (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,001$ ).

Табела 4.4.-1. Просечна концентрација цитокина у групама КаП пацијената подељеним према волумену тумора.(групе ТВ <10 % / ТВ >10 %) ( $X \pm SD$ , pg/ml).

КаП		ТВ 0 дан		ТВ 60 дан		k
цитокин		<10 %	>10 %	<10 %	>10 %	
IL-2	C	43± 14	44± 14	40± 5	*▲ 48± 18	51 ± 14
	У	30± 12	37± 11	34± 11	36± 10	nr
	У (м)	36± 13	36± 14	32± 13	31± 10	nr
IFN-γ	C	5± 4	*▲ 10± 9	7± 3	10± 8	27 ± 19
	У	3± 4	5± 5	4± 4	5± 4	nr
	У (м)	4± 5	5± 6	3± 3	4± 4	nr
IL-12	C	97± 32	98± 36	96± 35	108± 33	105 ± 6
	У	78± 23	*▲ 92± 25	84± 23	84± 16	nr
	У (м)	85± 30	87± 32	78± 25	79± 23	nr
IL-10	C	51± 23	*▲ 75± 46	48± 12	*▲ 81± 51	55 ± 14
	У	34± 12	40± 19	33± 16	36± 15	nr
	У (м)	40± 19	42± 25	32± 18	34± 20	nr
IL-17	C	4± 4	*▲ 12± 12	7± 5	*▲ 13± 12	5 ± 3
	У	4± 4	5± 6	5± 5	5± 5	nr
	У (м)	6± 5	7± 8	5± 6	4± 5	nr
IL-1β	C	*▲ 56± 35	55± 33	44± 21	47± 24	70 ± 43
	У	25± 9	30± 8	27± 7	30± 6	nr
	У (м)	30± 10	30± 10	28± 9	27± 7	nr
TNF-α	C	136± 34	142± 46	36± 42	*▲ 114± 49	125 ± 53
	У	**▲ 94± 51	64± 40	94± 10	54± 25	nr
	У (м)	***▲ 87± 41	79± 47	**▲ 77± 30	57± 23	nr
IL-33	C	193± 70	204± 82	180± 59	154± 65	148 ± 90
	У	*▲ 138± 80	94± 65	***▲ 124± 59	79± 38	nr
	У (м)	122± 64	111± 68	*▲ 106± 42	87± 40	nr
MCP-1	C	104± 33	111± 34	85± 13	*▲ 107± 33	131 ± 47
	У	79± 16	87± 26	77± 16	84± 13	nr
	У (м)	94± 38	83± 21	74± 15	79± 19	nr
IL-8	C	***▲ 626± 286	402± 228	402± 251	**▲ 840± 574	282 ± 208
	У	*▲ 329± 249	228± 188	168± 77	*▲ 257± 251	nr
	У (м)	374± 220	456± 391	137± 54	*▲ 268± 258	nr
IL-6	C	16± 9	*▲ 18± 9	16± 7	*▲ 20± 19	36 ± 24
	У	9± 4	13± 7	12± 7	12± 5	nr
	У (м)	14± 7	13± 8	12± 6	12± 6	nr
IL-18	C	374± 269	414± 387	374± 227	450± 235	515 ± 205
	У	24± 12	27± 10	27± 13	23± 13	nr
	У (м)	28± 10	28± 14	24± 12	22± 10	nr
IL-23	C	80± 29	72± 17	73± 16	74± 21	85 ± 25
	У	57± 11	*▲ 63± 12	66± 15	64± 16	nr
	У (м)	66± 12	64± 10	59± 15	60± 10	nr



4.4.5. Концентрација *IL-17* у односу на волумен тумора

Концентрација *IL-17* је била значајно повећана у узорцима серума групе ТВ>10% и пре и после терапије (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ )(Табела 4.4.-1.). После терапије, вредност *IL-17* била је значајно повећана у узорцима серума групе ТВ <10% (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,05$ ). У узорцима урина (м) групе ТВ>10% детектовали смо значајан пад *IL-10* након терапије (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ).

Табела 4.4.-2. Приказ промене динамике цитокина унутар сваке групе КаП болесника (после/пре терапије, *Wilcoxon test*). Значајност промене концентрације обележена је звездицама.

КаП	ТВ <10 %			ТВ >10 %		
	С	У	У (м)	С	У	У (м)
<b>IL-2</b>	▼	▲ **	▼	▲ *	▼	** ▼
<b>IFN-γ</b>	▲	▲ *	▼	=	=	* ▼
<b>IL-12</b>	▼	▲ **	* ▼	▲ ***	* ▼	** ▼
<b>IL-10</b>	▼	▼	*** ▼	▲ *	* ▼	*** ▼
<b>IL-17</b>	▲ *	▲	▲	▲	=	*** ▼
<b>IL-1β</b>	* ▼	▲ *	*** ▼	▼	=	** ▼
<b>TNF-α</b>	=	=	▼	*** ▼	* ▼	** ▼
<b>IL-33</b>	▼	▼	▼	* ▼	▼	*** ▼
<b>MCP-1</b>	▼	* ▼	** ▼	▼	▼	* ▼
<b>IL-8</b>	* ▼	* ▼	*** ▼	▲ ****	▲	** ▼
<b>IL-6</b>	=	▲ ***	▼	▲	▼	** ▼
<b>IL-18</b>	=	▲ *	▼	▲	▼	▼
<b>IL-23</b>	▼	▲ **	** ▼	▲	▲	*** ▼

4.4.6. Концентрација *IL-1β* у односу на волумен тумора

Вредности *IL-1β* биле су значајно повећане у узорцима серума, пре терапије, у групи ТВ<10% (Табела 4.4.-1.)(*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). После терапије, у групи ТВ <10%, вредности *IL-1β* значајно су порасле у узорцима урина, док су значајно снижене у узорцима серума и урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ). У групи ТВ>10%, после терапије дошло је до значајног снижења *IL-1β* у узорцима урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ).

#### 4.4.7. Концентрација *TNF- $\alpha$* у односу на волумен тумора

У групи ТВ <10%, вредности *TNF- $\alpha$*  биле су значајно повећане у узорцима урина пре терапије, као и узорцима урина (м) и пре и након терапије (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). У групи ТВ>10% вредности *TNF- $\alpha$*  биле су значајно повећане у узорцима серума после терапије (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). После терапије, у групи ТВ>10%, дошло је до значајног снижења *IL-1 $\beta$*  у свим испитиваним узорцима (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*).

#### 4.4.8. Концентрација *IL-33* у односу на волумен тумора

Поређење између две групе болесника, показало је да су вредности *IL-33* повећане у групи ТВ<10%, у узорцима урина пре и после терапије, као и у узорцима урина (м) после терапије (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). После терапије, у групи ТВ>10%, дошло је до значајног снижења *IL-33* у узорцима серума и урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*).

#### 4.4.9. Концентрација *MCP-1* у односу на волумен тумора

Вредности *MCP-1* једино су биле повећане у узорцима серума групе >10%, након терапије (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). После терапије, у групи ТВ <10%, вредности *MCP-1* биле су значајно снижене у узорцима урина и урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ). У групи ТВ>10%, после терапије дошло је до значајног снижења *MCP-1* у узорцима урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ).

#### 4.4.10. Концентрација *IL-8* у односу на волумен тумора

Пре терапије, вредности *IL-8* биле су значајно повећане у узорцима серума и урина групе ТВ <10% (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). Интересантно, након терапије, вредности *IL-8* биле су значајно повећане у свим испитиваним узорцима групе ТВ>10%. После терапије, у групи ТВ <10%, вредности *IL-8* биле су значајно снижене у свим испитиваним узорцима (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ). У групи ТВ>10%, после терапије дошло је до значајнога пораста вредности *IL-8* у узорцима серума и значајног снижења у узорцима урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p<0,001$ ).

#### 4.4.11. Концентрација *IL-6* у односу на волумен тумора

Вредности *IL-6* биле су значајно повећане у узорцима серума групе ТВ >10%, и пре и после терапије (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p>0,05$ ). После терапије, у групи ТВ <10%, вредности *IL-6* биле су значајно повећане узорцима урина (Табела 4.4.-2.)

(*Wilcoxon test*,  $p < 0,001$ ). У групи ТВ>10%, после терапије дошло је до значајног снижења у узорцима урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,001$ ).

#### 4.4.12. Концентрација *IL-18* у односу на волумен тумора

Вредности *IL-18* биле су повећане у узорцима серума групе ТВ >10%, и пре и после терапије, али без статистичке значајности (Табела 4.4.-2.). После терапије, у групи ТВ <10%, вредности *IL-18* биле су значајно повећане узорцима урина (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,001$ ). У групи ТВ>10%, није било значајне промене концентрације цитокина.

#### 4.4.13. Концентрација *IL-23* у односу на волумен тумора

Концентрација *IL-23* била је значајно повећана у узорцима урина групе >10%, пре терапије (Табела 4.4.-1.) (*Mann-Whitney test*,  $p > 0,05$ ). После терапије, у групи ТВ <10%, вредности *IL-23* биле су значајно повећане узорцима урина и значајно смањене у узорцима урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,01$ ). У групи ТВ>10%, после терапије дошло је до значајног снижења у узорцима урина (м) (Табела 4.4.-2.) (*Wilcoxon test*,  $p < 0,001$ ).

Табела 4.4.-3. Поређење група болесника са мањим/већим вредностима волумена тумора(ТВ). Приказ профила цитокина чија је концентрација била значајно повећана у испитиваним групама.

КаП	0 дан		60 дан	
	ТВ<10%	ТВ>10%	ТВ<10%	ТВ>10%
С	IL-1 $\beta$ , IL-8	IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-17, IL-6	TNF- $\alpha$	IL-2, IL-10, IL-17, MCP-1, IL-8, IL-6
У	TNF- $\alpha$ , IL-33, IL-8	IL-12, IL-23	IL-33	IL-8
У (М)	TNF- $\alpha$		TNF- $\alpha$ , IL-33	IL-8

#### 4.4.14. Профил испитиваних цитокина у односу на волумен тумора (ТВ)

На основу анализираних података, поређењем ове две групе болесника, можемо да нагласимо да постоји значајно повећање профила одређених цитокина.

Пре терапије, у узорцима серума болесника групе ТВ >10%, доминира профил *IFN-γ*, *IL-10*, *IL-17* и *IL-6* (Табела 4.3.-3.). Након терапије, у узорцима серума ове групе детектује се значајан пораст *IL-17*, *IL-2*, *MCP-1*, *IL-8*, *IL-6* и *IL-10*. У узорцима урина ове групе пре терапије манифестно је значајно повећање концентрације *IL-12* и *IL-23*, а после терапије повећање *IL-8*. У узорцима урина (м) нема детектовали смо значајно повећање само после терапије, и то *IL-8*.

Пре терапије, у узорцима серума болесника групе ТВ <10% утврдили смо пораст *IL-1β*, и *IL-8*, а после терапије пораст *TNF-α*. У узорцима урина утврдили смо значајно повећање вредности *TNF-α*, *IL-33* и *IL-8* пре терапије, као и пораст *IL-33* после терапије. У узорцима урина (м) пре терапије доминирао је пораст *TNF-α*, пре терапије, а после терапије значајно су порасле вредности *TNF-α* и *IL-33*.

#### 4.5. Вредности цитокина у узорцима КаП болесника у групама подељеним према врсти терапије

Испитивани цитокини одређени су у узорцима 88 болесника са КаП подељених у две групе (РПП и РТ) према врсти примењене терапије.

##### 4.5.1. Концентрација *IL-2* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-2* биле су значајно повећане у све три врсте узорака групе пацијената која је зрачена, РТ, у узорцима серума (MW,\*\*), урина (MW,\*\*) и урина (м) (MW,\*)(Табела 4.5.-1.).

После терапије, вредности *IL-2* биле су значајно повећане једино у узорцима урина (м) РТ групе (MW,\*)(Табела 4.5.-2.).

Насупрот овим подацима, поређење вредности *IL-2* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст само у узорцима РПП групе, и то узорцима серума (W,\*) и урина (W,\*), док се у групи РТ детектовало значајно снижење вредности, у узорцима урина (м) (W,\*), (Табела 4.5.-3.).

##### 4.5.2. Концентрација *IFN-γ* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IFN-γ* биле су значајно повећане у све три врсте узорака групе пацијената која је зрачена, РТ, у узорцима серума (MW,\*), урина (MW,\*) и урина (м) (MW,\*\*)(Табела 4.5.-1.).

После терапије, вредности *IFN- $\gamma$*  нису се значајно разликовале између ове две групе КаП болесника (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IFN- $\gamma$*  у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст у узорцима урина (W,\*) и урина (м) (W,\*) РПП групе, као и значајно смањење вредности у узорцима урина (м) РТ групе (W,\*)(Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.3. Концентрација *IL-12* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-12* биле су значајно повећане у групи пацијената која је зрачена, РТ, у узорцима урина (MW,\*\*) и урина (м) (MW,\*)(Табела 4.5.-1.).

После терапије, вредности *IL-12* нису се значајно разликовале (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-12* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст само у узорцима РПП групе, и то узорцима серума (W,\*\*), док се у групи РТ детектовало значајно снижење вредности, у узорцима урина (м) (W,\*\*), (Табела 4.5.-3.).

Табела 4.5.-1. Поређење просечних концентрација између група КаП болесника према врсти терапије 0 дана. ( $x \pm SD$ , pg/ml, MW-test).

0 дан		Терапија		MW-test
узорак		РПП	РТ	р
<b>IL-2</b>	C	39 ± 17	<b>45 ± 10</b>	**
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	C	9 ± 8	<b>10 ± 10</b>	*
<b>IL-12</b>	C	105 ± 62	99 ± 27	
<b>IL-10</b>	C	62 ± 54	77 ± 74	
<b>IL-17</b>	C	2 ± 3	<b>12 ± 8</b>	***
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	C	57 ± 37	52 ± 28	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	C	120 ± 46	<b>141 ± 38</b>	*
<b>IL-33</b>	C	190 ± 97	201 ± 60	
<b>MCP-1</b>	C	110 ± 51	114 ± 34	
<b>IL-8</b>	C	341 ± 182	<b>594 ± 458</b>	**
<b>IL-6</b>	C	15 ± 10	19 ± 8	
<b>IL-18</b>	C	<b>564 ± 196</b>	376 ± 269	***
<b>IL-23</b>	C	78 ± 41	77 ± 22	

узорак		РПП	РТ	р
<b>IL-2</b>	У	29 ± 15	<b>36 ± 10</b>	**
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	У	4 ± 5	<b>5 ± 4</b>	*
<b>IL-12</b>	У	76 ± 30	<b>89 ± 21</b>	**
<b>IL-10</b>	У	33 ± 20	39 ± 15	
<b>IL-17</b>	У	5 ± 6	5 ± 5	

<b>IL-1<math>\beta</math></b>	У	25 $\pm$ 10	<b>29 <math>\pm</math> 7</b>	*
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	У	83 $\pm$ 44	70 $\pm$ 44	
<b>IL-33</b>	У	<b>126 <math>\pm</math> 64</b>	100 $\pm$ 69	*
<b>MCP-1</b>	У	75 $\pm$ 20	<b>89 <math>\pm</math> 30</b>	*
<b>IL-8</b>	У	<b>248 <math>\pm</math> 213</b>	185 $\pm$ 107	**
<b>IL-6</b>	У	11 $\pm$ 7	13 $\pm$ 6	
<b>IL-18</b>	У	21 $\pm$ 11	<b>27 <math>\pm</math> 33</b>	*
<b>IL-23</b>	У	58 $\pm$ 14	<b>62 <math>\pm</math> 10</b>	*

узорак		РП	РТ	р
<b>IL-2</b>	У(м)	32 $\pm$ 17	<b>37 <math>\pm</math> 11</b>	*
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	У(м)	2 $\pm$ 3	<b>5 <math>\pm</math> 3</b>	**
<b>IL-12</b>	У(м)	79 $\pm$ 41	<b>89 <math>\pm</math> 23</b>	*
<b>IL-10</b>	У(м)	34 $\pm$ 26	<b>43 <math>\pm</math> 15</b>	**
<b>IL-17</b>	У(м)	2 $\pm$ 4	<b>6 <math>\pm</math> 4</b>	***
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	У(м)	27 $\pm$ 13	<b>30 <math>\pm</math> 7</b>	*
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	У(м)	<b>120 <math>\pm</math> 64</b>	77 $\pm$ 49	**
<b>IL-33</b>	У(м)	<b>155 <math>\pm</math> 81</b>	107 $\pm$ 68	**
<b>MCP-1</b>	У(м)	86 $\pm$ 37	85 $\pm$ 16	
<b>IL-8</b>	У(м)	210 $\pm$ 64	<b>321 <math>\pm</math> 178</b>	*
<b>IL-6</b>	У(м)	12 $\pm$ 8	<b>14 <math>\pm</math> 7</b>	*
<b>IL-18</b>	У(м)	20 $\pm$ 18	<b>25 <math>\pm</math> 32</b>	**
<b>IL-23</b>	У(м)	60 $\pm$ 20	<b>66 <math>\pm</math> 11</b>	*

#### 4.5.4. Концентрација *IL-10* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-10* биле су значајно повећане у групи пацијената која је зрачена, РТ, у узорцима урина (м) (MW, \*\*)(Табела 4.5.-1.).

После терапије, вредности *IL-10* нису се значајно разликовале (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-10* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајно снижење вредности у узорцима урина (м) (W, \*\*\*), групе РТ (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.5. Концентрација *IL-17* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-17* биле су значајно повећане у групи пацијената која је зрачена, РТ, у узорцима урина (MW, \*\*\*) и урина (м) (MW, \*\*)(Табела 4.5.-1.).

После терапије, вредности *IL-17* биле су значајно повећане у узорцима серума РТ групе (MW, \*) (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-17* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајан пораст само у узорцима РПП групе, и то узорцима серума (W,<sup>\*\*\*</sup>), док се у групи РТ детектовало значајно снижење вредности, у узорцима урина (м) (W,<sup>\*\*\*</sup>) (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.6. Концентрација *IL-1β* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-1β* биле су значајно повећане у групи пацијената која је зрачена, РТ, у узорцима серума (MW,<sup>\*</sup>) и урина (м) (MW,<sup>\*</sup>) (Табела 4.5.-1.).

После терапије, вредности *IL-1β* биле су значајно повећане у узорцима урина РТ групе (MW,<sup>\*</sup>) (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-1β* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајно снижење вредности у узорцима серума (W,<sup>\*\*</sup>) и урина (м) (W,<sup>\*\*</sup>) РТ групе (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.7. Концентрација *TNF-α* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *TNF-α* биле су значајно повећане у узорцима серума РТ групе пацијената (MW,<sup>\*</sup>) али и значајно повећане у узорцима урина (м) РПП групе пацијената (MW,<sup>\*\*</sup>) (Табела 4.5.-1.).

После терапије, вредности *TNF-α* биле су значајно повећане у узорцима урина (м) РПП групе пацијената (MW,<sup>\*</sup>) (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *TNF-α* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајно снижење вредности у узорцима урина (м) обе групе, РПП групе (W,<sup>\*\*\*</sup>) и РТ групе (W,<sup>\*</sup>) (Табела 4.5.-3.).

Табела 4.5.-2. Поређење просечних концентрација између група КаП болесника према врсти терапије 60 дана. ( $x \pm SD$ , pg/ml, MW-test).

60 дан		Терапија		MW-test
узорак		РПП	РТ	р
<b>IL-2</b>	C	45 ± 16	45 ± 13	
<b>IFN-γ</b>	C	7 ± 6	10 ± 11	
<b>IL-12</b>	C	120 ± 57	103 ± 27	
<b>IL-10</b>	C	68 ± 46	94 ± 112	
<b>IL-17</b>	C	6 ± 5	<b>12 ± 11</b>	*
<b>IL-1β</b>	C	44 ± 16	43 ± 14	

<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>C</b>	109 $\pm$ 46	136 $\pm$ 72	
<b>IL-33</b>	<b>C</b>	144 $\pm$ 53	<b>200 <math>\pm</math> 99</b>	*
<b>MCP-1</b>	<b>C</b>	111 $\pm$ 48	106 $\pm$ 37	
<b>IL-8</b>	<b>C</b>	330 $\pm$ 114	<b>633 <math>\pm</math> 602</b>	*
<b>IL-6</b>	<b>C</b>	16 $\pm$ 10	20 $\pm$ 19	
<b>IL-18</b>	<b>C</b>	<b>538 <math>\pm</math> 148</b>	368 $\pm$ 175	***
<b>IL-23</b>	<b>C</b>	79 $\pm$ 25	75 $\pm$ 26	

узорак		РПГ	РТ	р
<b>IL-2</b>	<b>У</b>	36 $\pm$ 10	36 $\pm$ 8	
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	<b>У</b>	5 $\pm$ 4	5 $\pm$ 3	
<b>IL-12</b>	<b>У</b>	80 $\pm$ 17	87 $\pm$ 17	
<b>IL-10</b>	<b>У</b>	33 $\pm$ 15	38 $\pm$ 13	
<b>IL-17</b>	<b>У</b>	5 $\pm$ 6	5 $\pm$ 4	
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>У</b>	27 $\pm$ 6	<b>30 <math>\pm</math> 6</b>	*
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>У</b>	78 $\pm$ 50	61 $\pm$ 31	
<b>IL-33</b>	<b>У</b>	<b>125 <math>\pm</math> 65</b>	89 $\pm$ 51	*
<b>MCP-1</b>	<b>У</b>	91 $\pm$ 38	84 $\pm$ 13	
<b>IL-8</b>	<b>У</b>	282 $\pm$ 254	186 $\pm$ 90	
<b>IL-6</b>	<b>У</b>	11 $\pm$ 5	13 $\pm$ 6	
<b>IL-18</b>	<b>У</b>	26 $\pm$ 14	30 $\pm$ 11	
<b>IL-23</b>	<b>У</b>	59 $\pm$ 10	<b>64 <math>\pm</math> 10</b>	*

узорак		РПГ	РТ	р
<b>IL-2</b>	<b>У(м)</b>	28 $\pm$ 10	<b>33 <math>\pm</math> 10</b>	*
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	<b>У(м)</b>	3 $\pm$ 4	4 $\pm$ 3	
<b>IL-12</b>	<b>У(м)</b>	75 $\pm$ 26	80 $\pm$ 20	
<b>IL-10</b>	<b>У(м)</b>	34 $\pm$ 24	33 $\pm$ 14	
<b>IL-17</b>	<b>У(м)</b>	4 $\pm$ 6	4 $\pm$ 4	
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>У(м)</b>	25 $\pm$ 8	27 $\pm$ 7	
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>У(м)</b>	<b>83 <math>\pm</math> 43</b>	61 $\pm$ 30	*
<b>IL-33</b>	<b>У(м)</b>	<b>123 <math>\pm</math> 71</b>	87 $\pm$ 45	*
<b>MCP-1</b>	<b>У(м)</b>	85 $\pm$ 39	79 $\pm$ 13	
<b>IL-8</b>	<b>У(м)</b>	157 $\pm$ 55	176 $\pm$ 94	
<b>IL-6</b>	<b>У(м)</b>	12 $\pm$ 7	12 $\pm$ 6	
<b>IL-18</b>	<b>У(м)</b>	21 $\pm$ 11	23 $\pm$ 10	
<b>IL-23</b>	<b>У(м)</b>	57 $\pm$ 13	60 $\pm$ 12	

#### 4.5.8. Концентрација *IL-33* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-33* биле су значајно повећане у узорцима урина (MW,\*) и урина (м) (MW,\*\*) РПГ групе пацијената (Табела 4.5.-1.).



После терапије, вредности *IL-33* биле су значајно повећане у узорцима серума РТ групе (MW,\*), али и значајно повећане у узорцима урина (MW,\*) и урина (м) РПП групе пацијената (MW,\*) (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-33* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је да нема значајних разлика унутар испитиваних група (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.9. Концентрација *MCP-1* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *MCP-1* биле су значајно повећане у узорцима урина (MW,\*) РТ групе пацијената (Табела 4.5.-1.).

После терапије није било значајних разлика вредности *MCP-1* између испитиваних група (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *MCP-1* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајно повећање вредности у узорцима урина РПП групе (W,\*), као и значајно снижење вредности у узорцима урина (м) РТ групе (W,\*)(Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.10. Концентрација *IL-8* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-8* биле су значајно повећане у узорцима серума (MW,\*\*) и урина (м) (MW,\*) РТ групе болесника, а значајно снижене у узорцима урина (MW,\*\*) РПП групе болесника (Табела 4.5.-1.).

После терапије вредности *IL-8* биле су значајно повећане у узорцима серума (MW,\*) РТ групе болесника (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-8* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајно снижење вредности у узорцима урина (м) обе групе, РПП групе (W,\*) и РТ групе (W,\*\*\*) (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.11. Концентрација *IL-6* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-6* биле су значајно повећане у узорцима урина (м) (MW,\*) РТ групе болесника (Табела 4.5.-1.).

После терапије није било значајних разлика вредности *IL-6* између испитиваних група (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-6* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајно снижење вредности у узорцима урина (м) РТ групе (W,\*\*) (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.12. Концентрација *IL-18* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-18* биле су значајно повећане у узорцима серума (MW,\*\*\*) РРП групе болесника, а значајно повећане у узорцима урина (м) (MW,\*\*) РТ групе болесника (Табела 4.5.-1.).

После терапије вредности *IL-18* биле су значајно повећане у узорцима серума (MW,\*\*\*) РРП групе болесника (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-18* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је да нема значајних разлика унутар испитиваних група (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.13. Концентрација *IL-23* у односу на врсту терапије

Пре терапије, вредности *IL-23* биле су значајно повећане у узорцима урина (MW,\*) и урина (м) (MW,\*) РТ групе болесника (Табела 4.5.-1.).

После терапије вредности *IL-23* биле су значајно повећане у узорцима урина (MW,\*) РТ групе болесника (Табела 4.5.-2.).

Поређење вредности *IL-23* у узорцима истог пацијента после/пре терапије показало је значајно снижење вредности у узорцима урина (м) РТ групе (W,\*\*) (Табела 4.5.-3.).

#### 4.5.14. Динамика профила испитиваних цитокина у односу на врсту терапије утврђена унутар сваке појединачне групе

Након 60 дана у узорцима серума групе РРП утврдили смо значајан пораст вредности *IL-2* (W,\*), *IL-12* (W,\*\*) и *IL-17* (W,\*\*\*), док смо у узорцима серума групе РТ утврдили једино значајно смањење вредности *IL-1β* (W,\*\*) (Табела 4.5.-3.).

У узорцима урина РРП групе смо детектовали значајан пораст вредности *IL-2* (W,\*), *IFN-γ* (W,\*) и *MCP-1* (W,\*), док у узорцима РТ групе није било значајне промене концентрације испитиваних цитокина.

У узорцима урина (м) РРП групе детековали смо значајан пораст вредности *IFN-γ* (W,\*), као и значајан пад вредности *TNF-α* (W,\*\*\*) и *IL-8* (W,\*). У узорцима урина (м) РТ детектовали смо значајно смањење практично свих испитиваних цитокина, изузев *IL-33* и *IL-18* (Табела 4.5.-3.).

Табела 4.5.-3. Приказ промене динамике цитокина унутар сваке групе КаП болесника према врсти терапије (после/пре терапије, Wilcoxon- test).

Терапија	РРП			РТ		
	С	У	У (м)	С	У	У (м)
<b>IL-2</b>	▲*	▲*	▼	=	=	*▼
<b>IFN-γ</b>	▼	▲*	▲*	=	=	*▼
<b>IL-12</b>	▲**	▲	▼	▲	▼	**▼
<b>IL-10</b>	▲	=	=	▲	▼	***▼
<b>IL-17</b>	▲***	▲	▲	=	=	***▼
<b>IL-1β</b>	▼	▲	▼	**▼	▲	**▼
<b>TNF-α</b>	▼	▼	***▼	▼	▼	*▼
<b>IL-33</b>	▼	=	▼	=	▼	▼
<b>MCP-1</b>	▲	▲*	=	▼	▼	*▼
<b>IL-8</b>	▼	▲	*▼	▲	▲	***▼
<b>IL-6</b>	▲	=	=	=	=	**▼
<b>IL-18</b>	▼	▲	=	▼	▲	▼
<b>IL-23</b>	=	=	▼	▼	▲	**▼

## 5. ДИСКУСИЈА

Вредности нивоа цитокина у серуму, урину и урину након ДРП третирања простате пре и после адекватног онколошког лечења и њихову повезаност са патохистолошким карактеристикама и стадијумом болести код пацијената са КаП испитивали смо у нашој студији. Упоредивне су вредности испитиваних цитокина између група болесника са карциномом простате, бенигном хиперплазијом простате и контролне групе здравих мушкараца .

У савременом добу, водећи узрок смртности је малигна болест па је приоритет што раније дијагностиковање и стажирање болести као и проналажење што ефикаснијих метода лечења, како би побољшали резултате лечења пацијената са карциномом простате. ПСА је секреторни продукт бенигну или малигну трансформисаних секреторних ћелија простате и примарни протеин семене течности, па повећање вредности серумског ПСА настаје приликом сваког оштећења базалне мембране жлезде и није искључиво условљена повећаном активношћу секреторних ћелија <sup>97</sup>. Осим ПСА, не постоји сензитиван биомаркер који је специфичан за КаП. Тако да, карјњи резултат наше студије је да покажемо који би то цитокини из серума и урина били резултат имунског одговора код пацијената са КаП, како би раније дијагностиковали и тачније одредили стадијум болести а самим тим би пацијента адекватно лечили.

Доминантни анти-туморски механизам *in vivo* је ћелијски имунски одговор. У ефекторне ћелије имунског одговора спадају ћелије природне убице (*Natural Killer, NK* ћелије), цитотоксични *T*- лимфоцити (*Cytotoxic T lymphocyte, CTL*), и макрофаги. Субпопулација *T* лимфоцита који експримују *CD4* молекула (*CD4+*) називају се помоћнички *T* лимфоцити (*engl. helper, Th*). Дуги низ година зна се за 2 субпопулације *Th* лимфоцита- *Th1* и *Th2*. Осим *Th1* и *Th2* субпопулације, последњих година откривене су и друге врсте *Th* ћелија и њихова улога у анти-туморској имуности <sup>98,99</sup>. Предпоставља се да настанак тумора предходи поремећај у односу *Th1* и *Th2* имунског одговора, односно да повећани *Th2*, а смањени *Th1* имунски одговор доводи до појаве малигног тумора <sup>100</sup>.

Потенцијална имунска терапија довела би до стварања адекватног имунског одговора на туморе тако што би оптимизовала *Th1* одговор и превазишла имунску толеранцију тумора.

5.1. Карактеристике цитокинског профила према серумским и вредностима из урина КаП болесника, особа са бенигом хипертрофијом простате и контролних испитаника

Нормална простата, као и сви други органи, садржи ендogene ћелије које се састоје од мноштва стромалних и интраепителних Т и Б лимфоцита<sup>101,102</sup>, макрофага и мастоцита. Међутим, већина ткива простате одраслих садржи појачану упалну способност, иако су обим и врста упале променљиви<sup>17</sup>.

Новији радови потврђују да упала игра важну улогу у настанку и напредовању карцинома простате (КаП). Хистолошком анализом узорака након простатектомије код пацијената у раној фази малигнитета, откривена је жаришна упала<sup>17</sup>. Хронична упала се сматра „потенцијалном“ карактеристиком за настанак карцинома код људи<sup>102</sup>, па се зато расправља о упали као о прогностичком фактору код карцинома различитог хистолошког порекла. Одређене студије показују значајно виши ниво проинфламаторних цитокина у ткиву КП у односу на доброћудно ткиво у хиперплазији простате (БХП)<sup>103,104,105,106</sup>.

Хронична упала у микро окружењу често делује имуносупресивно, нарочито у ткивима карцинома<sup>107,108</sup>. У том контексту, антиинфламаторни цитокини могу да промовишу преживљавање и пролиферацију ћелија тумора и, парадоксално, смање адаптивни имунолошких одговор<sup>108</sup>. У већини случајева узрок упале простате није јасан. Постоје различити потенцијални извори, укључујући директну инфекцију, хемијску реакцију мокраћног рефлукса и физичке трауме, затим, дијетални фактори, естрогени или комбинација два или више ових фактора<sup>109</sup>. Дакле, било шта од наведеног могло би довести до прекида имуне толеранције и развој аутоимуне реакције на простати.

Хистолошки, већина лезија која садржи акутне или хроничне запаљенске инфилtrate у простати је повезана са жаришним атрофичним епителом<sup>110,111,112</sup>. Према томе, жаришта атрофичног епитела су честа код старења простате<sup>110,113</sup> и често обухватају велики део периферне зоне где се атрофија најчешће догађа<sup>113,114</sup>. У поређењу са нормалним епителом, у жаришним атрофијским подручјима постоји повећана пролиферација епителних ћелија<sup>112,115,116</sup> па је за оваква подручја уведен термин пролиферативна упална атрофија (*proliferative inflammatory atrophy* ПИА)<sup>112,117</sup>. Међутим не показују све фокалне атрофичне регије простате запаљенске процесе ћелија, па за њих користитимо термин пролиферативна атрофија<sup>109</sup>.

*Steiner et al* су испитали су имунофенотипска и биолошка својства хроничних упалних ћелија у БПХ и нормалном ткиву простате.<sup>118,119,120</sup> Показали су број повећаних *CD45* + ћелија (сви леукоцити изражавају *CD45*+, а остали крвни продукти не). Код ових упалних лезија је такође повећан број макрофага<sup>119</sup>.

Затим, *Schaid DJ*<sup>121</sup> је анализирао различитим приступом, укључујући породичне и близаначке студије, какву улогу има наследна компонента у ризику од карцинома простате. Ова студија је поставила основу за настојање идентификовања генске осетљивости на карцином простате. Од тада се испитује могућност да алелне варијанте гена који су укључени у урођени и стечени имунитет играју важну улогу у одређивању наслеђеног ризика за карцином простате. Ако је хронична упала заиста важан етиолошки фактор за карцином простате, нормално је да алелне варијанте гена који укључују упалне путеве су логични кандидати и генетске одреднице за ризик настанка карцинома простате<sup>109</sup>.

Многобројне студије указују да хронична имуно-стимулација може довести до толеранције имуног система. Превише стимулиране Т ћелије представљају „имунолошке контролне тачке“, односно, примећено је да су покренуте од посебних лиганда које обично индукује *IFN-γ*. Овакав концепт пружа основу за употребу специфичних биолошких лекова у лечењу карцинома и представља важну везу између потенцијалне имуногености микрооколине тумора и неутрализације имуним одговором<sup>122</sup>.

*IFN-γ* и *TNF-α* обликују стални имуни одговор против инфективних и туморских изазова. Међутим, *TNF-α* је предложен као маркер КаП<sup>123</sup>. Добро је познато је да *TNF-α* може да има про- или антиапоптотске ефекте, зависно о типу ћелија или ткива и експерименталним условима<sup>124,125</sup>. Високи нивои *TNF-α* доводе до некрозе и апоптозе туморских ћелија<sup>126</sup> затим, посредује имунолошку цитотоксичност и производњу инфламаторних цитокина<sup>127</sup>. Супротно томе, ниске дозе паракриног *TNF-α* произведена у туморским областима може подржати хроничну упалу и прогресију карцинома<sup>128</sup>. *I.Banzola et all*<sup>129</sup> су у својој студији поредили експресију гена који кодирају *IFN-γ*, *TNF-α*, односно њихове рецепторе у КаП и у ткивима БПХ. Штавише, истраживали су способност ових цитокина у ћелијама КаП да индукују производњу фактора који поспешују прогресију тумора инхибицијом адаптације имуног одговора<sup>130</sup> и / или активирање алтернативних путева за андрогени рецептор<sup>131</sup>. Заправо испитивали су прогностички значај индукованих *IFN-γ* и *TNF-α* и њихову потенцијалну предиктивну снагу када се открију у урину код пацијената који имају КаП. Класификовасли су оперисане пацијенте према клиничким и патохистолошким параметрима ( ПСА, стадијум тумора и *Gleason* скор), а пацијенте са БПХ након ТУРПа као контролну групу. *Ex vivo* анализа је показала да су гени *IFN-γ* и *TNF-α* изражени са сличном учесталošћу у КаП и БПХ<sup>129</sup>. Овакви резултати су половично слични нашим. Наиме приметили смо да су највише просечне вредности *TNF-α* биле у урину КаП пацијената што може ићи у прилог некрозе и апоптозе туморских ћелија. Док са друге стране смо имали значајно снижене вредности *IFN-γ* у серуму КаП пацијената у односу на БХП и контролну групу, затим највеће вредности *IFN-γ* у урину смо регистровали код БХП пацијената. Такође је

занимљиво да у урину након масаже простате вредности *IFN- $\gamma$*  у групи КаП биле су значајно снижене и у односу на К групу. Тако да би могли рећи да имуна реакција покренута од лиганда контролисаних од *IFN- $\gamma$*  као одговор на хроничну стимулацију и упална жаришта у простати изостаје након појаве карцинома.

Обзиром да сваки цитокин формира цитокинску мрежу која на свој начин синхронизује различите биолошке догађаје, укључујући имунитет, диференцијацију ћелија, пролиферацију и раст карцинома код људи. Због тога су *E.Tazaki, et all*<sup>96</sup> анализирали десет цитокина из серума пацијената у разним фазама болести како би боље разумели патофизиологију КаП, укључујући кахексију као компликацију. Десет цитокина су разврстали у четири групе: противупални цитокини (*IL -1 $\beta$* , *IL -6* и *TNF- $\alpha$* ), хемокини који изазивају регрутовање неутрофила (*IL -8*);, *Th1* цитокини (*IFN- $\gamma$* , *IL -12*, и *IL -2*) и *Th2* цитокини (*IL-5*, *IL -10* и *IL -4*). Поменути цитокини су профилисани код пацијената са локалном болешћу, локално унапредовалом и унапредовалом болешћу са кахексијом, као и контролна група здравих људи. Открили су значајно повећање цитокина у серуму код пацијената са КаП и са кахексијом у поређењу са пацијентима са локалном болешћу и контролним групама. Иако су информативни, ови резултати морају се узимати са резервом узрок малог броја испитаних пацијената.

Ток болести зависи од нивоа цитокина у самом тумору. Одређене студије показују да присуство *CD4+Th1* лимфоцита и цитотоксичких *CD8+ T* лимфоцита у тумору представља добар прогностички знак, а напротив, присуство *Treg* и *Th2/Th17* лимфоцита би снизило укупно преживљавање пацијената са карциномом мокраћне бешике и колоне<sup>132,133</sup>. Са друге стране, доминација проинфламаторних *Th1* цитокина (*IFN- $\gamma$*  / *TNF- $\alpha$* ), повећава активност цитотоксичких ћелија, затим, олакшава урођени анти-туморски ефекат и позитивно корелира са дужим преживљавањем пацијената са истом врстом тумора<sup>134,135,136</sup>. У другом случају, повећање *Th2* имуног одговора, односно продукција *IL-10*, *IL-4*, и *IL-13* омогућава развој локалног имуног одговора и врши супресију *Th1* имуне реакције<sup>133</sup>. Из предходно изнетог, можемо рећи да пацијенти са карциномом мокраћне бешике и колоне у периферној циркулацији имају смањење *Th1* цитокина (*IL-2* и *IFN- $\gamma$* ), а самим тим имају виши проценат *Th2* цитокина (*IL-10* и *IL-4*)<sup>137,138</sup>.

Подаци који повезују *IL -10* у КаП су контроверзни, указују и за и против туморске активности. Са једне стране, обзиром на своју против-упалну функцију, *IL -10* је моћан локални и системски негативни регулатор имуног одговора посредованог Т лимфоцитима, омогућавајући туморским ћелијама могућност да избегну имунолошки надзора домаћина. С друге стране, постоје *in vitro* и *ex vivo* подаци који показују да *IL-10* делује против туморских активности смањујући могућност стварања метастатске болести. *Vignozzi et al*<sup>139</sup> су истраживали цитокински профил произведен из примарних ћелија простате, добијених од пацијената са БПХ. Сви пацијенти су показали упалу унутар простате

одређеног степена, открили су јасну индиректну повезаност између упале и нивоа тестостерона. *In vitro*, стромалне ћелије простате су спонтано произвеле значајну количину *IFN-γ*, *IL-12*, *IL-6*, *IL-8*, *MCP-1*. Симулирајући инфекцију, са егзогено додатим *TNF-α*, производња поменутих цитокина се повећала неколико пута. Поред тога, простатске стромалне ћелије су показале функцију представљања антигена, јер је њихова ко-култура са *CD4 + T* ћелијским клоновима индуковала значајно повећање инфламаторних медијатора (*TNF-α*, *IL-1β*, *MIP-1 α*, *MCP-1*) и, што је важно, инхибирало производњу *IL -10*. Затим, третман *Di – hydrotestosterone* стромалних ћелија простате значајно је смањило одговор на *TNF-α* и значајно смањило пролиферацију *CD4 + T* ћелија клонова и производњу против упалних медијатора, али је повећана производњу *IL -10*. Аутори су закључили да активирање ћелија простате путем андрогених рецептора ублажава упалу и повећава производњу *IL -10*, смањујући аутоимуне и упалне процесе. Међу нашим пацијентима у узорцима урина група БХП је демонстрирала највећу просечну концентрацију *IL-10*, значајно већу у односу на пацијенте са КаП или контролну групу па је привлачно је нагађати да локално произведени високи *IL -10* који се налази у урину може бити физиолошки, одговор на контролу упале простате.

Многе студије сугеришу да секретујући цитокини *IL-10* и *IL-6* у ћелијама КаП повећају *Th2* имуни одговор што резултира смањен анти-туморски ефекат. *Cardillo*<sup>140</sup> у својој *in vivo* студији заснованој на истраживању улоге цитокина *IL-6* и *IL-10* у прогресији КаП, налазе поменуте протеине у епителу и строми неопластичних ткива. Ови протеини су били снажније изражени у КаП него у нормалном ткиву простате. Аутор је пронашао повишену експресију нива ових цитокина код ТНМ виших стадијума КаП. Студија из 2003.године је објавила да активирани Т ћелије код БХП врше експресију *IL -17* који подстиче и регулише производња *IL -6* ћелија простате (119). Стога прогресивно повећање нивоа *IL -6* које је нађено у епителу стромални ћелија КаП указује да овај овај цитокин може имати улогу која поспјешује раст током ране фазе карциногенезе простате<sup>140,141</sup>. У нашој студији изненађујуће је да су у узорцима серума највеће просечне вредности *IL-6* биле су у групи К, значајно веће од групе пацијената са КаП и БХП зато не можемо направити корелацију *IL-6* са карциногенезом простате.

Још давне 1995.године *IL -17* је описан као противупални цитокин. *Yao et all.*<sup>142</sup> показао је да активација *CTLA-8* индукована од производње од *CD4+* и *T*-ћелија стимулисане на овакав начин индукују производњу *IL-6* и *IL-8* у фибробластима. У студији *Zhang et all.* у свом истраживачком раду на моделу животиња, показују да *IL -17* потстиче експресију *MMP7 (matrix metalloproteinase 7)* ремети комплекс *E-cadherin/β-catenin* и на тај начин ослобођен *β-catenin* појачава *EMT (epithelial mesenchymal transition)* а самим тим и инвазију туморских ћелија. Аутори на тај начин означавају везу *IL -17 – MMP7 – EMT* као потенцијални циљ за развијање нових стратегија у превенцији и лечењу карцином простате. На тај начин оправдава даље студије ради процене прогностичког потенцијала *IL -17* и *MMP7* код човека<sup>143</sup>. *Steiner et all.*<sup>119</sup> у својој студији се посебно фокусирају на



упалним цитокинима. У *in vitro* експерименту су показали да *IL -17* снажно повећава експресију других противупалних цитокина (*IL -6* и *IL -8*) у КаП. Наши резултати говоре да је највиша концентрација *IL -17* у серуму код КаП пацијента а најнижа у контролној групи. Затим у узорцима урина детектовали смо значајан пораст вредности *IL-17* у БХП групи у односу на КаП и К групу. Нађени резултати *IL-6* и *IL -8* су контрадикторни. Наиме највише вредности *IL-6* налазимо у серуму контролне групе а најмање у групи пацијената са КП, док концентрације *IL -8* у све три групе пацијената и узорака биле су највеће код пацијената са КаП. Затим, констатујемо да нивои *IL -6* и *IL -8* прате концентрације *IL -17* у односу на *Gleason* и ПСА. Можемо са правом закључити да наши подаци концентрације *IL-17* сугеришу да *IL -17* не стимулише директно раст и развој КаП, али *IL -17* можда и даље игра важну улогу у хомеостазии у регулацији упале простате преко *IL -6* и *IL -8*.

Интерлеукин-18 припада породици *IL -1*, производе га углавном макрофаги и дендритичне ћелије<sup>144</sup>. Интерлеукин-18 је противупални цитокин игра важну улогу у антитуморском имунитету са двоструким ефектима на развој и прогресију тумора. *IL -18* активира цитотоксичне ефекте *NK* ћелија и појачава *Th1* имуни одговор стимулишући експресију *IFN-γ* и *TNF-α*, што резултира елиминацијом туморских ћелија *in vivo*<sup>145</sup>. Механизам како *IL -18* доприноси развоју или напредовању рака простате није добро документован. Његову важну улогу у карциногенези простате показали су резултати рада *Dwivedi et al.*<sup>146</sup> где осим повишеног нивоа *IL -18*, примећеног код рака простате, нађено је и да се нивои постепено повећавају с напредовањем болести. *Jurcekova J. et al.* у својој студији такође испитује ову повезаност код Словака и констатује да је полиморфизам *IL -18* значајно повезан са већим ризиком од развоја рака простате. Није откривена повезаност полиморфизма *IL -18* са ризиком од развоја БХП-а, што указује на чињеницу да полиморфизам *IL -18* може повољно да допринесе развоју КаП<sup>147</sup>. Резултати поменутих студија су делимично усаглашени са нашим који показују да су у узорцима серума вредности *IL-18* биле су приближно једнаке у групама К и КаП, снижене у групи БХП у односу на ове две групе, али без значајних међусобних разлика. Међутим значајно више у групи 4+3 у односу на *Gleason* *градус* и групу пацијената са ПСА > 10 *ng/ml*. Једно објашњење за повећани ниво *IL -18* у серуму код пацијената са КаП може бити производња *IL -18* од стране туморских ћелија или је производња *IL -18* индукована као одговор на туморске ћелије или неки други фактор везан за развој тумора.

2005. године је повезано да *IL -33* такође припада породици *IL -1*<sup>148</sup>. Он се обично налази у језгру ћелије где се и врши његова експресија. Међутим, након оштећења ткива, некрозе или повреде, брзо се ослобађа у ванћелијски простор где се веже за *ST2* рецептор (*receptor suppression of tumorigenicity 2*) који се налази на мембрани циљне ћелије и потенцијално може да активира *Th2* имуни одговор. Иако је његова улога у имунитету и поремећајима повезаним са имуношћу детаљно проучена, његова улога у туморигенези тек почиње да се разјашњава и открива<sup>149</sup>. О повезаности *IL -33* и *ST2* међу првима су извештавали *Jovanović I. et all.* 2011. године<sup>150,151</sup> у студији карцинома дојке код мишева. Губитак *ST2*

рецептора код женских мишева инхибирао је раст *T1* ћелија рака дојке и значајно смањиле појаву метастаза у поређењу са мишевима дивљег типа. Такође поменути аутори *Jovanović I. et all*<sup>150,151</sup> закључују да су нивои *IL -17*, *IFN-γ* и *TNF-α* су повишени, праћени порастом интра-туморског накупљања активираних природних ћелија убица (*NK*) и *CD8<sup>+</sup>* Т ћелија, што сугерише губитак *IL -33* и сигнал да кроз *ST2* рецептор се може промовисати потребан *Th1* или *Th17* имуни одговор. У нашој студији вредности *IL-33* у испитиваним групама показивале су исти профил у све три врсте узорака. Наиме, највеће просечне вредности детектоване су у узорцима групе КаП, потом у БХП групи а најниже су биле у К групи, што сугерише да *IL -33* промовише пролиферацију и ангиогенезу туморских ћелија .

Из резултата нашег истраживања можемо закључити сви имуносупресивни *Th2* цитокини (*IL-8*, *IL-10* као репрезентативни *Th2* цитокин и узимајући у обзир *IL-17*) су значајно повишени у групи пацијената са карциномом простате. Стога са правом можемо рећи да су ови цитокини можда допринели даљем развоју КаП. Наши резултати потврђују повишене вредности *Th2* одговора код пацијената са КаП, затим наши студијски резултати су показали смањење *Th1* имунског одговора код КаП пацијената. Заправо *Th1* цитокини (*IL-12*, *IFN- γ*, *IL-2*, *TNF-α* *IL-12*, и узимајући у обзир *IL-1β*) могу сузбити развој рака и метастазе<sup>152</sup>. Поменути цитокини могу бити произведени од фагоцитних ћелија (моноцита, макрофага и неутрофила) и дендритских ћелија (*DC*), и активирају природне ћелије убице (*NK*), репрезентативне ћелије имунолошког система, што доводи до антиканцерогених ефеката. *IL-2* и *IL-12* извлаче *IFN- γ* из *NK* ћелија, ћелије позитивне на *CD4+* и ћелије *CD8* и, према томе, играју кључне антиканцерогене ефекте *in vivo*<sup>153</sup>.

На основу свега предходно изнесено, остаје отворено питање да ли је карцином простате покренут упалом и ако јесте потребно је развити нову стратегију како би се спречила болест.

## 5.2. Карактеристике цитокинског профила према *Gleason* степену.

*Gleason* -ов степен је примарни патохистолошки параметар који се користи за процењивање степена малигног обољења простате, а показало се да има значајну прогностичку вредност. Досадашња примена ГГС показала је његов вишеструки значај: прогностички - који се односи на очекујућу прогресију КП независно од терапијског поступка, и предиктивни показатељ доброг одговара или резистенције КП на антиандрогену терапију<sup>67,68</sup>.

Основа *Gleason* оцене се заснива пре свега на патохистолошкој архитектури ћелија у простати, односно распореду малигнух ћелија и њиховом степену диференцијације. Пошто је простата жлезда, што је микроскопски мање жлезданог ткива, то је виша оцена *Gleason*, која се креће од 1 до максимално 5. *Gleason* -ов скор је увек збир од два броја. Ова два броја представљају *Gleason* -ов степен превладавајућег узорка коме је додата оцена следећег најчешћег обрасца. Ако је присутна само једна слика *Gleason*, онда се оцена удвостручује. Ако постоји трећи образац вишег степена, овај број би заменио број узорка секундарне класе. *Gleason* -ов резултат испод 6 обично указује на индолентни карцином. Резултати од 8 или више су углавном повезани са слабо диференцираним туморима са лошијом прогнозом<sup>154,155</sup>.

*Gleason* -ов систем бодовања за оцењивање агресивности КаП показао се као веома значајан предиктор за пацијенте са локализованим карциномом. ГГС од 8 до 10 представља агресивнији облик болести и користи се за класификацију пацијената у групу са великим ризиком<sup>156</sup>. Пацијенти класификовани у групу високог степена имају повећан ризик да развију биохемијски релапс болести. Студија из 2004.године *Michalaki* и сарадника је показала да су нивои *IL-6* у серуму значајно виши код пацијената са метастатском болешћу и ГГС > 6<sup>157</sup>. Друга клиничка студија је такође објавила да је повишен ниво *IL-6* повезан са ГГС  $\geq 7$  код пацијената са развијеном болешћу у локорегионалним лимфним чворовима<sup>158</sup>. Нашим испитивањем, пре али и након спроведеног лечења, бележимо највеће просечне вредности *IL-6* у све три врсте узорака у групи 4+3. Поређење вредности *IL-6* у узорцима истог пацијента пре и после терапије показало је значајано повећање вредности у узорцима серума и урина групе 4+4. Овакви резултати показују значајну повезаност нивоа експресије *IL-6* и ГГС, односно можемо направити корелацију високих серумских концентрација *IL-6* са лошијим исходом код пацијената који болују од КаП. . Због тога, нивои експресије *IL-6* могу бити предиктивни биомаркер у комбинацији са ГС-ом и пре изабране терапије у популацији пацијената са КаП.

Поред тога, проценат имунореактивности трансмембранског епителног антигена простате 1 (*STEAP1*) такође је повезан са ГГС. *STEAP1* је примарно локализован у плазма мембрани, углавном на ћелијским спојевима, али можемо га наћи и распршеног у цитоплазми<sup>159,160</sup>. *STEAP1* се понаша као јонски канал у транспорту протеина па на тај начин учествује у међућелијској комуникацији. Другим речима модулира пролиферацију и инвазију ћелија карцинома, и доводи до повећања ниво реактивног кисеоника<sup>160,161,162</sup>. Важно је истаћи да обустава *STEAP1* резултира смањеном индукцијом проинфламаторних цитокина посебно *IL-1*, односно позитивно регулише индукцију проинфламаторних цитокина<sup>163</sup>. Ову чињеницу поткрепљује *Gomes* -ва студија, наиме пацијенти са вишим ГГС 7–9 изразили су већу имунореактивност *STEAP1*, док су пацијенти са нижим ГГС 5–6 показали умерену имунореактивност<sup>164</sup>.

Велики број студија се бави испитивањем повезаности дисбаланса производње цитокина са патофизиологијом КаП, као и чињеницом да су цитокински профили код пацијената са КаП били различити у односу на стадијум и проширеност болести<sup>96,165,166,167,168,169</sup>. Резултати поменутих студија су показали, између осталог, да су нивои *IL-1*, *IL-6*, *IL-8* и *TNF-α* виши код испитаника са узнапредовалим КаП.

Резултати наше студије су прилично усаглашени са поменутих. Наиме, резултати наше студије када смо утврђивали динамику профила испитиваних цитокина у односу на *Gleason* скор пре изабране терапије, показују највеће просечне концентрације испитиваних цитокина детектованих у све три врсте узорака групе 4+3. После терапије, у узорцима серума групе 4+3 детектовали смо највеће концентрације *Th1* цитокина (*IL-2*, *IFN-γ*, *IL-18*), као и *Th 2* (*IL-17* и *IL-6*), док смо у узорцима групе 4+4 детектовали највеће вредности инфламаторних цитокина (*IL-1b*, *TNF-α*, *IL-33* и *IL-8*). Затим у узорцима урина групе 4+3 такође смо детектовали највеће вредности *Th1* цитокина (*IL-2*, *IFN-γ*, *IL-12*, *IL-18*). Занимљиво да су вредности *TNF-α* биле изразито повећане у узорцима урина и у узорцима урина након масаже простате групе 3+3 па можемо да извесимо да пораст *TNF-α* у раном карциному простате инхибира неоваскуларизацију, индукује апоптозу ћелија КаП и подстиче антитуморски имунитет. *Balkwill*<sup>170</sup> својим студијским резултатима види *TNF-α* као промотор тумора, док *Beutler*<sup>171</sup> још 1999.године закључује да је ендогена производња *TNF-α* повезана са туморском инвазијом и развојем метастатске болести. Затим раније поменути *Michalaki* и сарадници<sup>157</sup> констатују да повишен ниво *TNF-α* у серуму код пацијената са КаП је повезан са локалним туморским развојем и појаве метастатске болести. Сагледавањем ових резултата закључујемо да је функционална дуалност *TNF-α* у туморским ткивима одређена унутарћелијским знацима који су допринели његовом доласку на ћелијску површину и везивању за мембранске рецепторе (*TNF Receptor I and TNF Receptor II*) и активирању различитих путева трансдукције. Подаци такође показују да *TNF-α* такође има потенцијал као биомаркер за КаП.

Већина података који се тичу *IL-10* и КаП потичу из генетских студија, заснованих на значају генетског утицаја у КаП и хипотези да варијације гена који регулишу упалу могу различито утицати на ризик који је наслеђен за ову врсту тумора. Први је *Turner*<sup>172</sup> показао да здраве особе које носе *GG* алеле за *IL-10* на положају 1082 имају капацитет за производњу знатно више *IL-10* од оних који су носиоци алела *AA15*. Неколико студија<sup>173,174,175,176</sup> су потврдиле повезаност полиморфизма цитокина, конкретно *IL -10* са КП, корелацији алела гена *GG-1082* са туморима простате ниског степена и одсуство коштаних метастаза. Подаци поменутих студија показују да генетски детерминисани ниски произвођачи *IL -10* међу пацијентима са КаП најчешће показују туморе високог степена, виши *Gleason* -ов резултат односно агресивнији ток болести. Код наших пацијената, (4+3) *Gleason* група је показала највећу просечну вредност *IL -10*, било у узорку серума или урина, док је код болесника са КаП-ом разврстаних према *Gleason* -овом резултату, најмањи просечни *IL-10* био је у групама са најмањим (3 + 3) или највишим (4 + 4) *Gleason* степеном, у свим врстама узорака пре терапије. Интересантно је да када смо анализирали узорке пацијента пре и после терапије, само пацијенти са највишим *Gleason* (4 + 4) показали су значајно повећање било у узорцима серума и урина. Ако предпостављамо да је туморско ткиво смањено терапијом, локална производња *IL-10* у узорцима урина вероватно потиче из другог ћелијског типа, највероватније *TAM*, *AAM* и лимфоцита. Слично закључују у студији *Hu* и сарадника<sup>177</sup>. Поменути аутори су истраживали присуство макрофага повезаних са туморима (*TAM*) и алтернативно активираних макрофага (*AAM*) са патолошким и клиничким параметрима у ткиву пацијената са КаП . Открили су да је *CD68 + TAM* значајно више присутан у ткиву пацијената са метастатски проширеним КаП, да је *AAM* значајно више присутан у туморима пацијената са вишим степеном, вишим *Gleason* степеном и нивоом ПСА у серуму. Према овој истраживачкој групи, макрофаги су били доминантни ћелијски извор *IL -10*, што указује да пацијенти са највишим *Gleason* степеном имају највећу вредност *IL- 10*. Најједноставнија интерпретација наших резултата је да можемо само нагађати да пораст *IL -10* у групи пацијената са *Gleason* скором (4+4) након спроведене терапије може бити или последица Т лимфоцитне активности као израз контроле ширења тумора или одраз *TAM / AAM* активности, као про туморско деловање на појаву локалног рецидива или метастатске болести.

Закључно, можемо рећи да се наша студија међу првима фокусира на имуноекспресију низа цитокина код пацијената са КаП-ом и њихову повезаност са клиничким променљивим као што су претерапијски нивои ПСА у серуму, *Gleason* градирање, ТВ као и анализе пре и после адекватног лечења.

### 5.3. Карактеристике цитокинског профила према серумским вредностима ПСА

Простата специфични антиген (ПСА) је серинска протеаза продукована из луминалних епителних ћелија простате<sup>178</sup>. Иако је први пут описан као продукт хумане простате још 1970 године (<sup>179</sup>), у фокусу клиничке и лабораторијске медицине долази тек крајем прошлога века, као важан напредак у детекцији раних стадијума карцинома простате<sup>180</sup>. Иако новија истраживања показују да је ПСА значајнији као показатељ прогресије бенигне хиперплазије простате<sup>181</sup> него као показатељ малигног процеса, и даље је овај тумор маркер један од нашире коришћених у дијагностици и праћењу пацијената са КаП. Додатно, показано је да промене у серумској ПСА концентрацији одражавају упалу или трауму нормалнога ткива простате<sup>182</sup>. Сматра се да је серумско повећање ПСА у болесника са КаП последица губитка базалног слоја ћелија, базне мембране и поремећаја нормалне грађе лумена простате. У болесника са БХП, повећање концентрације серумског ПСА сматра се последицом повећања броја и функције епителних ћелија<sup>183</sup>.

Упркос томе, *Catalona* и сарадници<sup>184</sup> поставили су стандарде који су и данас најчешће у употреби, који дефинишу серумске вредности ПСА до 4 *ng/ml* као нормалне, вредности од 4-10 *ng/ml* као вероватне, а вредности преко 10 *ng/ml* као високо сумњиве за КаП. Тренутно, у центру бројних истраживања је потрага за новим биомаркерима који су значајни за предикцију и/или праћење терапије канцера простате<sup>109, 185</sup>. Међу овим маркерима посебно место заузимају проинфламаторни цитокини, чија се локална продукција повезује са секрецијом ПСА и прогресијом карцинома простате<sup>183,186,187,188</sup>.

Објашњење повећаних вредности ПСА у серуму могло би да се примени и на вредности цитокина детектованих у болесника са КаП. Наиме, у болесника са КаП високе вредности ПСА и проинфламаторних цитокина би одражавале губитак луминалних ћелија, прекида базне мембране и поремећене грађе канала. То свакако није искључиви узрок. Наиме, подаци неколико студија показали су да *IL-6* активира рецептор за андрогене хормоне и директно повећава експресију ПСА<sup>189,190</sup>. Утицај *IL-6* на ћелије КаП је контрадикторан, постоје подаци који указују про-туморски и анти туморски утицај овога цитокина<sup>186,191, 192</sup>. *In vitro*, третман ћелијских линија КаП са *IL-6* индукује трансактивацију андрогеног рецептора, испољеног у већини примарних КаП, који се сматра важним регулатором промоције тумора<sup>189,190</sup>. *Yosra* и сарадници<sup>193</sup> су нашли повећану експресију *IL-6* и *IL-6R* у узорцима КаП и БХП. Ова експресија је у већини случајева била повезана са повећаном експресијом *IL-1α* и повећањем серумских вредности ПСА > 20 *ng/ml*.

*Donald Buri* и сарадници су испитивали повезаност високих вредности ПСА у серуму и вредности *IL-6* и *TNF-α* у урину болесника са КаП<sup>194</sup>. Иако је студија обухватила свега 14 испитаника, резултати су показали да пораст ПСА у серуму прати пораст *IL-6* и *TNF-α* у узорцима урина ових болесника.

*Tazaki* и сарадници су испитивали разлике у профилима цитокина између група болесника са различитим клиничким степеном узнапредованог КаП<sup>96</sup>. Група болесника са узнапредовалим карциномом, метастатским променама и насталом кахексијом показала је

повећање практично свих испитиваних цитокина у серуму (*TNF- $\alpha$* , *IL-4*, *IL-1 $\beta$* , *IL-5*, *IL-2*, *IL-10*, *IL-8*, *IL-6*, *IFN- $\gamma$*  и *IL-12*) у односу на групу са узнапредовалом формом и групу са локалним обликом КаП. У групи са узнапредовалим обликом КаП детектовано је повећање *IL-1 $\beta$* , *IL-2*, *IL-8*, *IL-12*, *TNF- $\alpha$*  и *IFN- $\gamma$*  у односу на контролну групу, док је у групи са локалним обликом КаП детектован само значајан пораст *IL-1 $\beta$*  и *IL-12* у односу на контролну. У овој студији, пораст серумске вредности ПСА пратио је пораст концентрације у серуму свих испитиваних цитокина, најизраженији у групи болесника КаП са кахексијом.

*Penna* и сарадници су испитивали вредности цитокина и хемокина у узорцима плазме семене течности 83 болесника са КаП<sup>195</sup>. Иако је њиховом студијом био обухваћен велики број параметара (*IL-1 $\alpha$* , *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, *IL-10*, *IL-12n70*, *CCL1*, *CCL3*, *CCL4*, *CCL17*, *CCL22*, *CHCL8/IL-8*) анализа је показала да су искључиво вредности *IL-8* биле повећане у односу на контролну групу. Додатно, код дела испитаника у исечцима ткива простате, имунохистохемијска испитивања су показала присуство инфламаторних инфилтрата и *IL-8* продукуюћих ћелија у 80% узорака. Вредности *IL-8* у узорцима плазме семене течности позитивно су корелирале са клиничким скором и вредностима ПСА. Једино ограничење ове студије представља селекција болесника, јер су сви испитаници са КаП имали физиолошке вредности ПСА (испод 4 *ng/ml*).

*Lin* и сарадници су испитивали прогностички значај полиморфизама гена за *IL-6*, *IL-8* и *IL-10* у 116 пацијената са локализованом формом КаП након радикалне простактectoмије<sup>196</sup>. Кључан параметар процене активности болести и /или успешности терапије био је поновна детекција повећаних вредности ПСА. Полиморфизам *IL-6* (*rs2066992*), генотипови *T/T* и *G/G* детектовани су у великом проценту пацијената са преоперативним вредностима ПСА већим од 10 *ng/ml*. Као најзначајнији резултат студије, аутори су нагласили повезаност полиморфизма гена за *IL-10*. Наиме, *A/A* генотип (експериментално повезан са смањеном експресијом *IL-10*) био је значајно чешћи у пацијената са високим степеном рекуренције ПСА након операције и у особа са значајно краћим ПСА-free преживљавањем (у односу на *A/G* и *G/G* генотипове). Аутори су закључили да је полиморфизам гена за *IL-10* прогностички фактор за ПСА рекуренцију након радикалне простактectoмије.

У скорашњој студији *Hawley* и сар. испитивана је повезаност серумских вредности цитокина са прогресијом болести у 37 КаП пацијената након терапије депривације андрогена<sup>197</sup>. Иако је забележен пораст концентрације свих испитиваних цитокина (*IL-23*, *IL-6*, *IL-7*, *IL-8*, *CHCL 10*, *VEGF*, *MDC*, *TNF- $\alpha$* , *IFN- $\gamma$*  и *MIP-1 $\beta$* ), пораст вредности ПСА након 6 месеци значајно је корелирао са порастом концентрације *IL-6* и *IL-8*.

Баш као и резултати наведених студија, у узорцима серума групе болесника са вредностима ПСА изнад 10 *ng/ml*, ми смо детектовали значајан пораст концентрације *IFN- $\gamma$* <sup>96,197</sup>, *IL-10*<sup>196</sup>, *IL-8*<sup>96,195,197</sup> и *IL-18*, у односу на групу ПСА<10 *ng/ml*. Овај профил односи се на узорке узете пре терапије КаП. Ово је и генерални закључак свих ових студија, где постоји позитивна корелација раста концентрације наведених цитокина и ПСА, у серуму.

Међутим, испитивања цитокина у локалној средини показују потпуно другачији профил, указујући да постоји значајна дисоцијација између системског и локалног одговора. Тако, у узорцима урина групе КаП са већим вредностима ПСА ( $>10\text{ng/ml}$ ), значајно су повећане вредности *MCP-1* и *IL-18* у односу на другу групу. Са друге стране, у урину КаП болесника са мањим вредностима ПСА ( $<10\text{ng/ml}$ ) детектује се значајан пораст концентрације *IL-33* и *IL-8* у односу на групу са већим вредностима ПСА. У секрету простате, у узорцима групе са мањим ПСА, уз значајан пораст *IL-33* и *IL-8* детектује се и пораст *TNF- $\alpha$* , указујући на изразито упални карактер локалних дешавања.

Подаци после терапије (60 дана), показали су опет на различите карактере имунског одговора у ове две групе болесника са КаП. Наиме, у серуму болесника са већим вредностима ПСА, детектовали смо значајан пораст праткично свих испитиваних цитокина. У узорцима урина ове групе, доминирао је зналајан пораст *Th1* цитокина (*IFN- $\gamma$* , *IL-12*), заједно са *IL-10*, и инфламаторним *IL-1 $\beta$*  и *IL-6*. У узорцима секрета простате групе са мањом концентрацијом ПСА детектовао се значајан пораст једино *TNF- $\alpha$* .

Дакле, оно што би истакли као ново сазнање, потпуно насупрот постојећим подацима, је да се у узорцима урина и секрета простате пацијената са мањим вредностима ПСА ( $<10\text{ng/ml}$ ) детектује значајан инфламаторни цитокински профил, одражен у повећању вредности *IL-8*, *IL-33* и *TNF- $\alpha$* . Даље, када смо у узорцима истог болесника поредили динамику промене сваког испитиваног цитокина (60/0 дан, односно, после/пре терапије), терапија је у групи са мањим вредностима ПСА узроковала значајан пад вредности практично свих цитокина. У групи са већим вредностим ПСА, након терапије, порасле су вредности *IL-12* у серуму, као и вредности *IFN- $\gamma$* , *IL-8* и *IL-18* у урину, указујући на значајан текући имунски и инфламаторни одговор. У одсуству сличних испитивања, тумачења су шпекулативна. Наиме, у групи болесника са мањом вредности ПСА, пораст инфламаторних цитокина би одражавао локалну упалу и могао да претходи (можда и годинама) оштећењу структура и/или функције ткива простате узроковане растом – прогресијом тумора. Код тумора који су узнапредовали, група пацијената са већом вредности ПСА, значајан системски одговор, као и значајна промена динамике *Th1* цитокина, указује на установљени локални специфични (цитотоксични) имунски одговор. Резултати наших испитивања показали су да постоје потпуно другачији профили цитокина у узорцима група болесника са КаП који су имали мање или веће вредности ПСА од  $10\text{ng/ml}$ . Такође, испитивање у различитим врстама узорака, показало је потпуно различите профиле цитокина у серуму, урину и секрету простате, како између испитиваних, тако и унутар ове две групе.



#### 5.4. Вредности цитокина у узорцима КаП болесника у односу на волумен тумора

Волумен односно запремина тумора карцинома простате и његов клинички значај у узорцима добијеним након радикалне простатектомије је контроверзан (<sup>198</sup>). Прогностички значај анализе ТВ је уско је повезана са *Gleason* градусом, ТНМ стадијумом тумора као и са статусом хируршких ивица узорака након РПП. Због наведене блиске повезаности, није изненађујуће да је анализа ТВ изгубила значај као прогностички фактор, као и потешкоћа у прецизној интерпретацији и мерењу ТВ-а, многи патолози се не изјашњавају о ТВ-у<sup>199</sup>.

Ипак у Бостону, САД, 2009. године је одржана међународна конференција друштва уролошке патологије (*International Society of Urological Pathology-ISUP*) где је постигнут консензус да квантитативно мерење ТВ мора да постоји у патохистолошком извештају, међутим присутни патолози се нису усагласили којом методом треба сагледати ТВ<sup>200</sup>. Постоји много документованих метода за израчунавање ТВ у КаП. Тренутно рачунарски систем за анализу слика (*computer-assisted image analysis systems- CAIA*) се сматра најтачнијим средством одређивање ТВ-а<sup>201</sup>. Међутим, ова метода изискује дуготрајан и интензиван ангажман више патолога па се уобичајено не примењује рутински у пракси. Неколико алтернативних метода за процену ТВ-а након РПП, као што су квадратне, кубоидне или елипсоидне процене које се и најчешће користе у клиничкој пракси, ослањају се на израчунавање основних димензија (дужина, ширина и дебљина) тумора<sup>202</sup>.

Мерење максималног пречника тумора је поуздан параметар за процену волумена тумора солидних органа, који углавном имају грубо сферни облик. Међутим, постоји сумња да се то се можда неће лако применити на карцином простате, за који се зна да показује неправилни образац раста<sup>203</sup>. Ми смо ТВ у КаП након РПП процењивали на сличан начин. Наиме, упоређујући мерени попречан пресек тумора и попречан пресек оперисане жлезде, ТВ смо приказали у процентима.

Имунолошку повезаност код пацијената са сквамозним карциномом главе и врата са агресивним понашањем и лошом прогнозом испитивали су *Chen Zhong* и његове колеге још 1999. године<sup>204</sup>. У поменутој студији испитали су хипотезу да ћелије сквамозног карцинома главе и врата производе цитокине који поспешују упалну реакцију и учествују у ангиогенези тумора. Наиме, истражили су експресију 14 цитокина као важан фактор у регулацији имунолошких процеса пацијената са сквамозним карциномом главе и врата. Одређивање волумена, односно запремине тумора израчунавано је помоћу компјутеризовано томографских слика користећи систем за планирање радиотерапије. Аутори су детектовали повишен ниво *IL-8* и *IL-6* у серуму код пацијената са карциномом сквамозних ћелија главе и врата. Затим, испитивањем односа експресије цитокина у серуму и волумена тумора поменути аутори нису нашли значајнију зависност већ

констатују разлику у нивоу цитокина која позитивно корелира са степеном диференцијације ћелија сквамозног карцинома главе и врата. Аутори закључују да поменути цитокини, селективно произведени од стране сквамозних ћелија карцинома главе и врата, поседују противупалне и проангиогене активности које су у складу са патолошким променама код пацијената са овом врстом тумора, као и да ови цитокини могу да играју важну улогу у промоцији туморогенезе.

Друга група аутора је истраживала механизме смањења раста тумора дојке код мишева испитујући низ цитокина у серуму<sup>205</sup>. Резултати студије доказују да нежно свакодневно истезање у трајању од 10 минута може умањити локалну упалу везивног ткива и фиброзу. Будући да деловање механичким фактором може утицати на микро окружење тумора, аутори закључују да истезање смањује раст карцинома дојке код модела мишева. Крајњи резултат је тај да је ТВ за 52% мањи у групи мишева са истезањем, у односу на групу без истезања у одсуству било ког другог третмана. Аутори нису нашли значајну разлику у нивоима испитиваних цитокина (*IL -2*, *IL -6*, *IL -10*, *TNF- $\alpha$*  и *IFN- $\gamma$* ) између група. Ови резултати сугеришу везу између упале и раста тумора. *Shalamzari* и сарадници такође су се бавили ефекатом вежбања и васкуларно - ендотелног раста код мишева који имају карцином дојке<sup>206</sup>. *IL -6* може повећати раст тумора поспешујући ангиогенезу и анти-апоптоичке протеине у ћелијама тумора. Аутори су запазили значајно смањен ниво *IL -6* у туморском ткиву групе мишева која изводи вежбе у поређењу са другим групама. Редовно вежбање смањује ниво противупалних цитокина као што је *IL -6* у тумору ткива па резултат ове студије где је ТВ смањен у групи мишева који су вежбали, говори о снажној вези између волумена тумора и *IL -6*.

Коначно, *Fujita* и сарадници су се бавили односом профила цитокина из простатске течности КаР пацијената, са ТВ и упалом простате<sup>207</sup>. Простатска течност је узимана из свежих узорака ресековане простате а резултати разматрани у односу на две групе минималног ТВ и великог ТВ по добијању патохистолошког налаза. Поред тога, степен упале простате су процењивали присуством неутрофила, макрофага и лимфоцита и испитивана је повезаност са нивоом цитокина. Међу испитиваним цитокинима са највећом разликом у нивоу издвојили су *IL -12*, *IL -17*, *IL -18Bpa*. Сваки од ових цитокина је повишен у групи са малим ТВ. У анализи заснованој на *Gleason* резултату, примећене су снажне корелације између више цитокина. Аутори закључују да боље познавање мреже присутних цитокина у течности простате може помоћи у разумевању упале простате, карциногенези и прогресији КаП и могу довести до нових стратегија раног откривања ове врсте рака.

У нашем истраживању, пре терапије, у групи КаП болесника са мањим ТВ детектовали смо значајано повећање концентрације цитокина упале, и то *IL-1b* и *IL-23* у серуму, *TNF- $\alpha$* , *IL-33* и *IL-8* у узорцима урина и *TNF- $\alpha$* , у узорцима урина након масаже простате. Док у групи КаП са већим ТВ, детектовали смо значајано повећање концентрације *IFN- $\gamma$* , *IL-10*,

*IL-17* и *IL-6* у узорцима серума. После терапије, у групи КаП болесника са мањим ТВ детектовали смо само значајано повећање вредности *IL-33* у узорцима урина након масаже простате. Међутим у групи КаП са већом вредности ПСА, детектовали смо значајано повећање концентрације *IFN- $\gamma$* , *IL-17*, *TNF- $\alpha$* , *IL-10*, *MCP-1*, *IL-6* и *IL-8* у узорцима серума. Поређење вредности цитокина пре и после терапије у узорцима истог пацијента, показало је да у групи са мањим волуменом тумора детектује пораст вредности *IL-17* у серуму, пораст вредности цитокина *Th1* групе у урину. Подсећам да смо регистровани значајно повећање након изабране терапије такође *Th1* групу цитокина. Закључујемо да наши резултати, као и предходно изнети, показују да цитокини укључени у *Th 1* имунолошки одговор чине важни фактор у прогресији, инвазији и развоју метастатског КаП. Односно, одговорни су за диференцијацију *T1* ћелија помагача који имају водећу улогу у упалном процесу и имунолошком одговору па са правом можемо рећи да имају антинеопластична својства.

Ипак, морамо бити крајње искрени везано за постојање контраверзи о корисности ТВ у прогнози пацијената са КаП, као и на чињеницу да не постоји консензус о начину приказа ТВ свих солидних тумора а не само простате.

Сагледавањем наших резултата, можемо рећи да информације о ТВ могу бити корисне у прогнози пацијената са КаП само и уколико узмемо у разматрање осталих параметара, преоперативни и послеоперативни ПСА и ГГС. Али ипак претпостављамо да цитокински профил који смо описали прави важне разлике између раних односно малих и касних то јест, проширених КаП као и да су у блиској вези са упалним процесима простате.

### 5.5. Вредности цитокина у узорцима серума и урина КаП болесника у групама подељеним према врсти терапије

Лечење пацијената са вишим стадијумом КаП, односно оних пацијената код којих није индиковано активно праћење, подразумева операцију, радиотерапију, хормонску терапију и хемотерапију.

Оперативно лечење је индиковано код пацијената са клинички локалном болести и очекиваним трајањем живота дужим од 5 . година. Оно подразумева одстрањење простате заједно са семеним кесицама и околним ткивом како би се осигурао туморски негативан ресекцијски руб. Иако су *Walsh* и *Donker* још 1982. године писали о оперативним приступу лечења пацијената са КаП и данас се најчешће користи ретропубични оперативни пут јер је анатомски најприхватљивији што је врло битно како би пацијент задржао еректилну функцију и континенцију урина<sup>208,209</sup>.

Радиотерапија у лечењу пацијената са КаП се најчешће примењује код старијих пацијената и пацијената са вишим стадијумом болести, затим код пацијената са придруженим болестима па самим тим имају већи ризик оперативног лечења(209). 3Д конформална радиотерапија (*3D-CRT*), представља стандард у радиотерапијском лечењу пацијената са КаП. Конформална радиотерапија је волуметријска визуелна симулација заснована на серији *CT(computed tomography)* слика у сврху дефинисања тумора и ризичних органа код сваког пацијента. Резултати бројних студија указују на значајно смањење појаве акутних нуспојава када се конформална радиотерапија примењује код пацијената са карциномом простате. Употреба високих доза зрачења постиже одличне резултате лечења у раним фазама рака простате и побољшава резултате лечења код пацијената са локално узнапредовалом болешћу<sup>210</sup>.

Радиотерапија и радикална простатектомија су равноправни модалитети радикалног лечења пацијената са КаП. Нема доказа који би фаворизовали један од ових поступака. Избор лечења треба да се заснива на коморбидитету пацијента и одлуку донети након разговара са пацијентом који је предходно обавештен о предностима и недостацима оба третмана.

Радиотерапија утиче на ћелије индукујући оштећење *DNK* а самим тим и губитак клоногеног потенцијала<sup>211</sup>. Као крајњи циљ радиотерапијског лечења је тумор. Међутим, тумор није само скуп малигних ћелија, већ и међусобно повезаних и туморски инфилтрисаних фибробласта, затим васкуларни и лимфни систем и на крају имуне ћелије које су такође под утицајем зрачења. Очигледно је да микро-окружење тумора игра важну улогу у одговору на лечење<sup>212</sup>. Заиста делује да зрачна терапија тумора неће само довести до убијања ћелија рака, већ ће изазвати каскаду ћелијских процеса, покретање ангиогенезе

и регрутовање упалних ћелија, ремоделирање изван ћелијских матрикса, као и изазивање процеса који утичу на метаболизам тумора<sup>213,214</sup>.

Као што сам већ напоменуо цитокини су растворљиви полипептиди који учествују у комуникацији између ћелија и то између суседа на паракрини начин или на удаљене ћелије помоћу аутокриних механизма<sup>86,87</sup>. Цитокини су важне компоненте у промоцији неопластичног раста, али је такође познато да делују као биолошки модулатори после лечења рака<sup>215</sup>. Радиотерапија ће изазвати непосредан одговор у озраченом ткиву уз појачану експресију групе цитокина који играју значајну улогу у стварању слободних радикала и оксидативног стреса, као и групе цитокинима који теже враћању хомеостазе<sup>216</sup>. Можемо претпоставити да цитокини имају потенцијал да утичу на радиосензитивност ћелија односно да нивоом цитокина у циркулацији можемо пратити биолошке промене изазване радиотерапијом.

Давно је прошло време када се сматрало да локална РТ има само имуносупресиван ефекат. Међутим, недавна истраживања показују да је интеракција са имунолошким системом много сложенија<sup>217</sup>. Оно што очекујемо од РТ третмана на молекуларном нивоу је да X-зрак директно оштети *DNK*, а индиректно помоћу индукованих слободних радикала. РТ-индуковано оштећење ћелија доводи до излагања и / или ослобађања оштећених молекула попут *CRT(Calreticulin)* који је изложен на плазма мембрани и део је Голџијевог апарата, па се на тај начин радиотерапијом индукује ћелијска смрт<sup>218</sup>. Затим ови молекули активирају дендритичке ћелије да фагоцитишу умируће туморске ћелије и на тај начин презентују ослобођене туморске антигене Т ћелијама. Такав комплекс активиран дендритичним ћелијама прелази у околне лимфне чворове који су захваћени тумором где покрећу *CD8 + T* ћелије да иницирају цитотоксични Т ћелијски одговор. Потом, цитотоксичне *CD8 + T* ћелије мигрирају у озрачену туморску регију и елиминишу заостале ћелије карцинома<sup>217</sup>. Поред тога што индукује имуногену ћелијску смрт, РТ олакшава приступ хемотерапијских средстава и леукоцита у туморску регију. Са друге стране, РТ може да омета развој туморског имунитета промовишући имуносупресивно микро окружење. Документовано је неколико механизма којима су поједини цитокини, хемокини или фактори раста индуковани радиотерапијом у туморском окружењу. Значење, мења равнотежу између имуноактивативног и имуносупресивног сигнала у туморском микроокружењу и изгледа да успех РТ лечења зависи од имуногености тумора, дозе зрачења и режима фракционисања<sup>217</sup>.

Многа истраживања се фокусирају на проналажење клинички корисних биомаркера токсичности изазване РТ. Истраживачи верују да способност идентификације пацијентовог профила осетљивости на зрачење може довести до погоднијих опција лечења и побољшане локо-регионалне контроле болести<sup>219,220,221</sup>. Штавише, тумор би такође могао да произведе веће вредности цитокина током РТ. Према томе, ниво цитокина

у плазми може се смањити или повећати у зависности од одговора тумора на РТ<sup>222,223</sup>. Уопште, вероватноћа токсичности изазване РТ расте како се доза РТ повећава<sup>224</sup>.

*Hanne A.* и сарадници<sup>225</sup> водећи се чињеницом да радиотерапија доводи до ћелијске смрти, али и до процеса повећаног прилива макрофага и других имуних ћелија у озраченој регији, што резултира повећањем или смањењем накупљања *FDG* (*Fluorodeoxyglucose 18F*) у озраченом ткиву па се региструје на *PET CT*-у (*Positron emission tomography-computed tomography*), аутори покушавају да повежу ткивну радиосензитивност са везивањем *FDG*, и закључују да цитокини могу разјаснити механизме и ефекте лечења, а тиме и прогностичке, односно предиктивне вредности метаболизма самог тумора код пацијената са *NSCLC* (*Non-Small Cell Lung Carcinoma*). Резултат студије поменутих аутора показује да се концентрација *IL-2* смањивала у серуму током и 6-8 недеља након радиотерапије на сличан начин је дошло и до смањења нивоа *IL-6*. И ми смо детектовали смањене вредности *IL-2* и *IL-6* у серуму и урину пацијената 60 дана од завршетка радиотерапије у односу на вредности пре терапије што је позитивно повезано са мањом запремином озраченог ткива. Затим, разлог смањена може бити смањена индукција од стране туморских ћелија, ћелија микрооколине тумора или здравих ћелија. Овакве промене након радиотерапије сугеришу смањено накупљање неутрофила и евентуално смањену упалу.

Након спроведене РТ, многи истраживачи верују да нормално оштећење ткива и промене експресије гена на нивоу *mRNA* (*messenger RNA*) доводе до повећане производње цитокина унутар озраченог подручја, који потом улазе у циркулацију<sup>222,223</sup>. *Rubin* и његове колеге били су међу првима који су описали улогу цитокина у посредовању РТ-изазване токсичности. Они закључују да су нивои *IL-1*, *TGF-β* и *TNF-α* повећани одмах након изложености зрачењу и да су повишени нивои *TGF-β* повезани са повећаним ризиком од фиброзе плућа.<sup>226</sup> *Christensen* и сарадници извештавају да су *IFN-γ* и *IL-6* значајно порасли током РТ простате, ову чињеницу повезују са порастом акутне гастроинтестиналне и генитоуринарне токсичности<sup>227</sup>.

Цитокини се ослобађају као одговор на јонизујуће зрачење и могу играти кључну улогу у праћењу токсичности изазване РТ<sup>228,229</sup>. Неке претходне студије су известиле о повећаном нивоу цитокина током и после РТ и предложиле их као предиктивне биомаркере за токсичност изазвану РТ<sup>230,231,232</sup>. *Dirksen* и сарадници такође су открили значајну корелацију између нивоа *TNF-α* и *IL-4* са иритацијом уринарног тракта и проблемима са дигестивним путевима пацијената са КаП лечених радиотерапијом<sup>233</sup>. У горњим студијама научници верују да би инфламаторни цитокини могли бити предиктивни биомаркери радиотерапијом изазване токсичности.

У тренутној медицинској пракси, прогностички маркери у лечењу пацијената са КаП је простата специфични антиген (ПСА), *Gleason* скор (ГГС) и клинички стадијум тумора<sup>73,74</sup>. Стратификација пацијената у групе са ниским, средњим и високим ризиком може се

искористити за помоћ у одабиру опција лечења<sup>73,74</sup>. Међутим, постојећи фактори пре третмана не могу се користити за предвиђање акутне РТ-индуковане токсичности. Због тога, нови биомаркери протеина могу бити корисни у радијацијској онкологији за побољшање доношења одлука, лечења и праћења терапије за пацијенте са КаП.

Можемо закључити да зрачна терапија активира производњу инфламаторних цитокина као одговор дизајниран за контролу штете и промоцију поправке зраченог ткива. Другим речима, повећани ниво цитокина током радиотерапијског лечења може имати благотворно дејство на опоравак ткива, слично као и ефекти примећени у студијама акутног зарастања рана<sup>234</sup>.

Траума изазвана хируршким лечењем узрокује локалну активацију различитих ћелија, који ослобађају цитокине и друге посреднике. Неколицина студија извештава о променама и разликама у пре и после оперативним нивоима маркера у серуму као акутни одговор код пацијената са КаП који су подвргнути РПП. Оправдано је мишљење да нивои инфламаторних циткина у серуму могу бити потенцијални маркери за хируршки стрес, али се доста лицитира који је то цитокин најбољи маркер за процену хируршког одговора код пацијената са КаП, који пролазе хируршко лечење<sup>235,236</sup>.

*Quatan* и сарадници<sup>236</sup> су испитивали ћелијски имунитет код пацијената са локално ограниченом болести КАП који су лечени РПП. Серум за имунолошку анализу узета је 1 недељу пре и 6 недеља након оперативне процедуре. За упоредни, контролни узорак, узет је серум у истим интервалима код пацијената који су подвргнути оперативном захвату а који нису имали КаП, притом су сви испитаници имали исти анестетик, обзиром да општи анестетици имају имуноосупресивно дејство<sup>237,238</sup>. Чини се да оболели од КаП имају значајно виши ниво испитиваних *Th 1* цитокина (*IL-2* и *TNF -α*) као и *Th 2* цитокина (*IL-4*, *IL-5*, *IL-10*) у односу на контролну групу, штавише, дошло је до врло малих промена после операције, са трендом додатног пораста *TNF -α*. Затим *Narita* са колегама<sup>235</sup> такође испитује нивое шест инфламаторних цитокина *IL-10*, *IL-6*, *TNF -α*, *IL-1b*, *IL- 8* и *IL-12*, у серуму пацијента са КаП лечених РПП и ЛРП (*laparoscopic radical prostatectomy*). Серум је узет дан пре операције одмах по окончању оперативног лечења и трећи узорак дан после одабране оперативне процедуре. Нивои шест испитиваних цитокина одмах након операције је значајно већи у односу на нивое у серуму пре операције, док су нивои *IL-10* и *IL-6* у серуму следећег дана наставили да расту. Такође, постоперативни тренд пораста мерених цитокина је мањи код пацијената лечених ЛРП што указује на мањи ниво хируршког стреса.

У нашој студији испитивали смо нивое цитокина у серуму, урину и у узорку урина након масаже простате код пацијената са КаП седам дана пре терапије као и 60 дан по завршетку оперативног лечења, што је донекле ограничавајући фактор јер немамо податке одмах по завршетку операције које би поредили. После терапије, у групи РПП детектовали смо само значајано повећање вредности *IL-18* у узорцима серума, повећање вредности *IL-33* у

узорцима урина, као и повећање вредности *TNF- $\alpha$*  и *IL-33* у узорцима урина након масаже простате у односу на контролну групу. Међутим поређење вредности цитокина пре/после терапије у узорцима истог пацијента, показало је да се у групи након РПП детектује значајан пораст вредности *IL-2*, *IL-12* и *IL-17* у серуму, док смо у узорцима урина РПП групе детектовали пораст вредности *IL-2*, *IFN- $\gamma$*  и *MCP-1*. Затим у узорцима урина након масаже простате РПП групе детектовали смо пораст вредности *IFN- $\gamma$* .

Резултати наших испитиваних цитокина пре и после оперативног лечења се не разликују од поменутих<sup>234,235,236</sup> и углавном су производ запаљенских процеса који укључују и хируршку трауму као главни стимулатор производње протеина у акутној фази. Различитост у поређењу резултата је образац производње јер специфични цитокини варирају и разликују се због другачијег запаљенског стања.

Занимљиво је повећане *IL-33* оперисаних пацијената у урину и третираном урину у односу на контролну групу, зато што овај цитокин продукују туморске ћелије, стромалне ћелије и ендотелне ћелије крвних судова простате. Можемо спекулисати да оваква продукција стимулише инатне лимфоците другог реда (*ILC 2*) који индукују поларизацију локалног имунског одговора у *Th 2* правцу а као резултат је протуморски ефекат, односно појава локалног рецидива након оперативног лечења.



## 6. ЗАКЉУЧЦИ

1. Анализа концентрација интерлеукина у узорцима серума, урина и урина након масаже простате пацијената са карциномом простате, бенигне хиперплазије простате и здравих контролних особа је показала:

- У односу на контроле (К), КаП болесници су имали : значајно веће вредности *IL-17* и значајно ниже вредности *IFN- $\gamma$*  и *IL-6* у серуму, значајно повећање *TNF- $\alpha$*  и *IL-33* вредности у урину, као и значајно повећање вредности *TNF- $\alpha$*  и *IL-33* вредности у урину (м), са значајним снижењем вредности *IFN- $\gamma$* .

- У односу на БХП, КаП болесници су имали : значајно ниже вредности *IL-2* и *IL-18* у серуму, значајно смањење *IL-2* , *IFN- $\gamma$*  , *IL-10* , *IL-17* и *IL-23* вредности у урину, као и значајно смањење *IFN- $\gamma$*  вредности у урину (м).

- У односу на контролне особе (К), БХП испитаници су имали: значајно ниже вредности *IFN- $\gamma$*  и *IL-6* у серуму, значајно повећање *IL-10* и *IL-17* вредности у урину.

2. Анализа концентрације интерлеукина код пацијената са карциномом простате у односу на *Gleason* скор је показала:

- Пре терапије, поређење између група пацијената са различитим *Gleason* скором показало је да су највеће просечне концентрације испитиваних цитокина детектоване у све три врсте узорака групе 4+3.

- После терапије, у узорцима серума групе 4+3 детектовали смо највеће концентрације *Th1* цитокина (*IFN- $\gamma$*  , *IL-2* , ) , *IL-18* , *IL-6* и *IL-17* , док смо у узорцима групе 4+4 детектовали највеће вредности инфламаторних цитокина (*IL-1b* , *TNF- $\alpha$*  , *IL-33* и *IL-8*). У узорцима урина групе 4+3 такође смо детектовали највеће вредности *Tx1* цитокина (*IL-2* , *IFN- $\gamma$*  , *IL-12* ) , *IL-18* и *MCP-1* , док су вредности *TNF- $\alpha$*  и *IL-33* биле изразито повећане у узорцима 3+3 групе. У узорцима урина (м) групе 3+3 такође су биле повећане вредности *TNF- $\alpha$*  и *IL-33* , у групи 4+3 повећана вредност *IL-17* , а у групи 4+4 вредности *IL-2* , *IFN- $\gamma$*  и *IL-8*.

- Поређење вредности цитокина после/пре терапије у узорцима истог пацијента, показало је да се једино у групи са највећим скором (4+4) детектује значајно повећање концентрације низа цитокина, у све три врсте узорака. У овом значајном повећању након терапије доминира пораст *Th1* групе цитокина. Додатна карактеристика ове групе је и значајно смањење концентрације инфламаторних цитокина, такође у све три врсте узорака.

- Након терапије, дошло је до значајног снижења концентрације цитокина у групама са интермедијарним скором, али и изненађујућег пораста концентрације цитокина у узорцима урина групе 3+3.

3. Анализа концентрације интерлеукина анализираних у односу на ниво ПСА је показала:

- Пре терапије, у групи КаП болесника са мањом вредности ПСА, детектовали смо значајано повећање концентрације *IL-33* и *IL-8* узорцима урина, као и значајно повећање вредности *TNF- α*, *IL-33* и *IL-8* у узорцима урина (м). У групи КаП са већом вредности ПСА, детектовали смо значајано повећање концентрације *IFN- γ*, *IL-10*, *IL-8* и *IL-18* у узорцима серума, као и повећање вредности *MCP-1* и *IL-18* у узорцима урина.

- После терапије, у групи КаП болесника са мањом вредности ПСА, детектовали смо само значајано повећање вредности *TNF- α* у узорцима урина (м). У групи КаП са већом вредности ПСА, детектовали смо значајано повећање концентрације *IL-17*, *IFN- γ*, *IL-1b*, *IL-10*, *IL-33*, *TNF- α*, и *IL-18* у узорцима серума, као и повећање вредности *IFN- γ*, *IL-12*, *IL-10*, *IL-1b* и *IL-6* у узорцима урина.

- Поређење вредности цитокина после/пре терапије у узорцима истог пацијента, показало је да у групи са мањом вредности ПСА детектује снижење цитокина у свим узорцима.

- У групи са већом вредности ПСА, у узорцима серума детектује се значајно повећање вредности *IL-12*, а у узорцима урина значајно повећање вредности *IFN- γ*, *IL-8* и *IL-18*.

4. Анализа концентрације интерлеукина анализираних у односу на волумен тумора је показала:

- Пре терапије, у групи КаП болесника са мањим волуменом тумора детектовали смо значајано повећање концентрације цитокина упале, *IL-1b* и *IL-23* у серуму, *TNF- α*, *IL-33* и *IL-8* у узорцима урина и *TNF- α* у узорцима урина (м). У групи КаП са већим волуменом тумора, детектовали смо значајано повећање концентрације *IFN- γ*, *IL-10*, *IL-17* и *IL-6* у узорцима серума, као и повећање вредности *IL-12* и *IL-23* у узорцима урина.

- После терапије, у групи КаП болесника са мањим волуменом тумора детектовали смо само значајано повећање вредности *IL-33* у узорцима урина (м), као и повећање вредности *TNF- α* и *IL-33* у узорцима урина (м). У групи КаП са већом вредности ПСА, детектовали смо значајано повећање концентрације *TNF- α*, *IL-10*, *IFN- γ*, *IL-17*, *MCP-1*,

*IL-8* и *IL-6* у узорцима серума, као и повећање вредности *IL-8* у узорцима урина и у узорцима урина (м).

- Поређење вредности цитокина после/пре терапије у узорцима истог пацијента, показало је да у групи са мањим волуменом тумора детектује пораст вредности *IL-17* у серуму, пораст вредности *Th1* групе у урину (*IL-12*, *IL-2*, *IFN- $\gamma$* ), *IL-1b*, *IL-18*, *IL-6* и *IL-23*, као и снижење вредности цитокина у урину (м).

- У групи са већим волуменом тумора, у узорцима серума детектује се значајно повећање вредности *IL-2*, *IL-12*, *IL-10* и *IL-8*, али и снижење вредности цитокина у узорцима урина и урина (м).

5. Анализа концентрације интерлеукина у односу на врсту примењене терапије је показала:

- После терапије, у групи РРП детектовали смо само значајано повећање вредности *IL-18* у узорцима серума, повећање вредности *IL-33* у узорцима урина, као и повећање вредности *TNF- $\alpha$*  и *IL-33* у узорцима урина (м).

- У групи РТ, детектовали смо значајано повећање концентрације *IL-17*, *IL-33* и *IL-8* у узорцима серума, повећање вредности *IL-1b* и *IL-23* у узорцима урина и повећање вредности *IL-2* у узорцима урина (м).

- Поређење вредности цитокина после/пре терапије у узорцима истог пацијента, показало је да у групи са РРП детектује пораст вредности *IL-2*, *IL-12* и *IL-17* у серуму, пораст вредности *IL-2*, *IFN- $\gamma$*  и *MCP-1* у урину, као и пораст вредности *IFN- $\gamma$*  у урину (м).

- У групи РТ, детектовано је значајно снижење вредности спрктично свих испитиваних цитокина у узорцима урина (м).

## 7. РЕФЕРЕНЦЕ

1. Mottet N, Bellmunt J, Briers E, Michel B, Marcus G.C. Maria D. S. et al. EAU Guideline on prostate cancer., Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent—Update 2017. *European Urology*.2017;71:618-629.
2. Otis W. Brawley. Prostate cancer epidemiology in the United States. *World Journal of Urology*. 2012;30:195–200.
3. Steven J, Alberto B, PaoloG. Stratification of High-risk Prostate Cancer into Prognostic Categories: A European Multi-institutional Study. *European Urology*.2015;67:157-164.
4. Roderick C.N. van den Bergh, Hashim U. A. Novel Tools to Improve Patient Selection and Monitoring on Active Surveillance for Low-risk Prostate Cancer: A Systematic Review. *European Urology*, 2014;65:1023-1031.
5. Axel H, Patrick J.B, Joaquim B. EAU Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent—Update 2013. *European Urology*2014;67:124-137.
6. Stacy L, Marc A.B, Joseph N, Overdiagnosis and Overtreatment of Prostate Cancer. *European Urology* 2014;65:1046-1055.
7. Jack C, Mangesh A T, Gerald A, Prevention and early detection of prostate cancer. *The Lancet Oncology*.2014;15:484-492.
8. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer.*J Clin Invest*. 2007; 117:1175–1183.
9. de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6:24–37.
10. Chung BI, Sommer G, Brooks JD. Anatomy of the Lower Urinary Tract and Male Genitalia. In: Kavoussi LR Partin AW, Novick AC, Peters CA, editor. *Campbell-Walsh Urology*. 10th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p. 33-70.
11. Šljivić B.M. Sistematska i topografska anatomija. Abdomen i karlica, 6 izdanje, Naučna knjiga Beograd, 1989. 192-195.
12. Rosai J. Rosai and Ackerman's surgical pathology, 9e. Elsevier Inc 2004, 9th ed, 1361-1395.
13. Sternberg SS. Histology for pathologists, 2e. Lippincott-Raven Publishers 1997, 2nd ed, 997-1017.
14. McNeal J. Pathology of benign prostatic hyperplasia. Insight into etiology. *Urol Clin North Am. UNITED STATES*; 1990 Aug;17(3):477–86.

15. Bostwick DG, Quian J. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol* 2004;17:360-379.
16. Montironi R, Mazzucchelli R, Scarpelli M. Precancerous lesions and conditions of the prostate: from morphological and biological characterization to chemoprevention. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;963:169-184.
17. De Marzo AM, Nakai Y, Nelson WG. Inflammation, atrophy, and prostate carcinogenesis. *Urol Oncol.* 2007;25(5):398-400. doi:10.1016/j.urolonc.2007. 05.007
18. Tannenbaum M. The Prostate Gland. Principles and practice of surgical pathology and cytopathology. 2295-2334.
19. Atanacković M. i saradnici. Patologija. Poglavlje 19: Genitalni sistem. Libri medicorum, Beograd, 2003;1 izdanje:644-648.
20. Rubin E, Farber JL. Pathology, 3rd ed. Lippincott 1999. 952-961.
21. Ross M.H. Pawlina W. Histology: a text and atlas, 5th ed. Lippincott 2006. 952-961.
22. Mirone V, Fusco F, Verze P, Schulman C, Debruyne F, Imbimbo C. Androgens and benign prostatic hyperplasia. *Eur Urol Suppl.* 2006;5:410-4
23. Thorpe A, Neal D. Benign prostatic hyperplasia. *Lancet.* 2003;361(9366):1359-67. Epub 2003/04/25.
24. Mokos I. Benigna hiperplazija prostate i smetnje donjeg urinarnog trakta. *MEDICUS.* 2012;21(1):67-71.
25. Irwin DE, Milsom I, Kopp Z, Abrams P, Artibani W, Herschorn S. Prevalence, severity, and symptom bother of lower urinary tract symptoms among men in the EPIC study: impact of overactive bladder. *Eur Urol. Switzerland;* 2009 Jul;56(1):14–20
26. Abrams P, Manson J KM. Incidence and Epidemiology of Storage Lower Urinary Tract Symptoms. *Eur Urol Rev.* 2012 Oct;7(1):50–4.
27. The Institute of Public Health of Serbia “Dr Milan Jovanovic Batut”, Health Statistical Yearbook 2012; 2013. p. 123 [Internet]. Available from: ND 93[page]
28. D. M. Parkin, F. Bray, J. Ferlay i P. Pisani. Global cancer statistics, 2002. *CA-Cancer J. Clin.* 55 (2005) 74-108.
29. A. Buhmeida, S. Pyrhonen, M. Laato i Y. Collan, Prognostic factors in prostate cancer, *Diagn. Pathol.* 1 (2006) 4-19.
30. L. Cheng, S. Y. Song, T. G. Pretlow, F. W. Abdul-Karim, H. J. Kung, D. V. Dawson, W. S. Park, Y. W. Moon, M. L. Tsai, W. M. Linehan, M. R. Emmert-Buck, L. A. Liotta i Z. Zhuang, Evidence of independent origin of multiple tumors from patients with prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 90 (1998) 233-237.

31. C. A. Macintosh, M. Stower, N. Reid i N. J. Maitland, Precise microdissection of human prostate cancers reveals genotypic heterogeneity. *Cancer Res.* 58 (1998) 23-28.
32. W. Isaacs, A. De Marzo i W. G. Nelson, Focus on prostate cancer. *Cancer Cell* 2 (2002) 113-116.
33. W. G. Nelson, A. M. De Marzo i W. B. Isaacs, Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* 349 (2003) 366-81.
34. P. A. Abrahamsson, Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Prostate* 39 (1999) 135–148.
35. G. D. Steinber, B. S. Carter T. H. Beaty, B. Childs i P. C. Walsh, Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate* 17 (1990) 337-347.
36. GLOBOCAN 2012 (IARC), Section of Cancer Information, [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
37. J. Carpten, N. Nupponen, S. Isaacs, R. Sood, C. Robbins, J. Xu, M. Faruque, T. Moses, C. Ewing, E. Gillanders, P. Hu, P. Bujnoszky, I. Makalowska, A. Baffoe-Bonnie, D. Faith i J. Smith, Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. *Nat. Genet.* 30 (2002) 181–184.
38. H. G. van der Poel, Molecular markers in the diagnosis of prostate cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hemat.* 61 (2007) 104-139.
39. S. Koochekpour, Androgen receptor signaling and mutations in prostate cancer *Asian J. Androl.* 12 (2010) 639–657.
40. Šamija M. Klinički pregled i dijagnostika raka prostate. *Medix.* 2005;11:83-5.
41. Loeb S, Carter HB. Early Detection, Diagnosis, and Staging of Prostate Cancer. In: Kavoussi LR Partin AW, Novick AC, Peters CA, editor. *Campbell-Walsh Urology.* 10 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p. 2763-70.
42. Knezevic M, Galic J, Tucak A, Ebling Z. The results after transrectal prostate biopsy with 12 biopsy cores taken. *Collegium antropologicum.* 2004;28 Suppl 2:243-50. Epub 2004/12/02.
43. Gillat D, Klotz I, Lawton C, Miller K, Payne H, localised and locally advanced prostate cancer: Who to treat and how? *Eur Urol* 2007;6:334-343
44. Stamey TA. Preoperative serum prostate-specific antigen (PSA) below 10ng/l predicts neither the presence of prostate cancer nor the rate of postoperative PSA failure. *Clinical Chemistry* 2001;47:631-634.

45. Aus G, Abbou CC, bolla m, Heidenreich A, Schmid HP, van popel h et all. EAU Guidelines on prostate cancer. Eur Urol 2005;48:546-551.
46. Humphrey PA. gleason grading and prognostic factor in carcinoma of the prostate. Mod pathol 2004;17(3):292-306.
47. Armbruster DA. Prostate specific antigen: biochemistry, analytical methods and clinical application. Clin Chem 1993;39:181-195.
48. Oesterling JE. Prostate-specific antigen. Cancer 1995;75(7):1795-1804
49. Stamey TA, Caldwell M, mc Neal JE, Nolley R, Himenez M, Downs J. the prostate specific antigen era in United States is over for prostate cancer: what happend in the last 20 years? J Urol 2004;171:1297-1301.
50. Bensalah K, Lotan Y, Karam JA, shariat SF. New circulating biomarkers for prostate cancer. Prostate Cancer and Prostatic Diseases 2008;11:112-120.
51. Lilja H. Biology of prostate-Specific Antigen. urology 2003;62(suppl 5A):27-33.
52. Stephan C, Jung K, Diamandis EP, Rittenhouse HG, Lein M, loening SA. Prostate-specific antigen, its molecular forms and other kallikrein markers for detektion of prostate cancer. Urology 2002;59:2-8.
53. Pruth RS. The dynamics of prostate-specific antigen in benign and malihnate diseases of the prostate. BJU 2000;86:652-658
54. Makarov DV, Karter HB. The discovery of prostate Specific Antigen as a biomarker for the early detection of adenocarcinoma of the prostate. J urol 2006;176:2383-2385.
55. Rao AR, Motiwala HG, Karim OMA. The discovery of prostate-specific antigen. BJU International 2008;101:5-10.
56. Schroder FH, van der Crujsen-Koeter I, de Koning HJ, Vis AN, Headmaeker RF, Kranse R. Prostate cancer detection at low prostate specific antigen. J Urol 2000;163(3):806-12
57. Stamey TA. Preoperativ serum prostate-specific atigen (PSA) below 10 ng/l predicts neither the presence of prostate cancer nor the rate of posoperative PSA failure. Clinical Chemistry 2001;47:631-634.
58. Catalona WJ, Ramos CG, Carvalhal GF, Yan Y. Lowering PSA cutoffs to enhance detection of curable prostate cancer. Urology 2000;55:791-795.
59. Thomson JM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Scot lucia M et all. Prevalence of prostate cancer among man with a prostate-specific antigen level=4ng per millimeter. N Eng J Med 2004;350(22):2239-2246.
60. Partin AW, Carter HB, Chan Dw, Epstein JL, Oesterling JE, Rock RC, et all. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. J Urol 1990;143:747-752.

61. Bostwick DG. Staging prostate cancer -1997: Current methods and limitations. *Eur Urol* 1997;32(Suppl13):2-14.
62. Baffa R, Moreno JG, Monne M, Veronese MI, Gomella LG. A comparative analysis of prostate-specific antigen gene sequence in benign and malignant prostate tissue. *Urology* 1996;47(6):795-800.
63. Cerović S, Tatić V, Dimitrijević J, Ilić S, Milović N, Aleksić P, Brajušković G. Advanced prostatic carcinoma with low levels of serum prostatic-specific antigen. *Vojnosanit pregl.* 2002;59(2):137-40.
64. Epstein JI, Allsbrook WC, Amin MB, Egevad LL. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on Gleason grading of prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005;29(9):1228-1242.
65. Gleason DF, Mellinger GT: Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol* 1974;11:58-64.
66. S. Cerović, G. Brajušković, V. Vukotić, *Premaligne lezije i karcinom prostate*, Beograd 2009. IP Beograd d.o.o, 8-16.
67. Mikuz G, (ed). *Clinical Pathology of Urologic Tumors*. Informa UK Ltd 2007, p106
68. Bocking A, Kiehn J, Heinzl-Wach M. Combined Histologic grading of prostatic carcinoma. *Cancer* 1982;50:288-294
69. Gleason DF. Classification of prostatic carcinoma. *Cancer Chemother Rep* 1966;50:125-128
70. Sakr WA, Grignon Dj. Prostate cancer: indicators of aggressiveness. *Eur Urol* 1997;32:15-23.
71. Ghani KR, Grigor K, Tulloch DN, Bollina PR, McNeill SA. Trends in Reporting Gleason Score 1991 to 2001: Changes in the Pathologist's Practice. *Eur Urol* 2005;47(2):196-201.
72. Gleason DF. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Path* 1992;23:273-279.
73. UICC International Union Against Cancer, *TNM klasifikacija malignih tumora* J. Brierley, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind, 8-edition, 2016, available at: <https://www.uicc.org/news/8th-edition-uicc-tnm-classification-malignant-tumors-published>
74. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Prostate cancer. (Version 4.2019. – avgust 19.2019). [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/prostate.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf)
75. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. *Basic pathology*, 5e. *Osnove patologije* 1994. WB Saunders company 1992, 5th ed, 596-600.
76. Janjić MA. *Osnovi patologije muškog genitalnog sistema*. 'Grafampromet' Ruma 2004, 78-127.



77. Oh WK. The evolving role of estrogen therapy in prostate cancer. *Clin Prostate Cancer* 2002; 1(2): 81–9.
78. McLeod DG. Hormonal therapy: historical perspective to future directions. *Urology* 2003; 61(Suppl 2A): 3–7.
79. Seidenfeld J, et al. Single-therapy androgen suppression in men with advanced prostate cancer: a systematic review and metaanalysis. *Ann Intern Med* 2000; 132(7): 566–77.
80. Tyrrell CJ, et al. A randomized comparison of 'Casodex' (bicalutamide) 150 mg monotherapy versus castration in the treatment of metastatic and locally advanced prostate cancer. *Eur Urol* 1998; 33(5): 447–56.
81. Risbridger GP, Ellem SJ, McPherson SJ. Estrogen action on the prostate gland: a critical mix of endocrine and paracrine signaling. *J Mol Endocrinol.* 2007;39:183-188.
82. Marcelli M, Cunningham GR. Hormonal signaling in prostatic hyperplasia and neoplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(10):3463-3468.
83. Montironi R, Mazzucchelli R, Algaba F, Lopez-Beltran A. Morphological identification of the patterns of prostatic intraepithelial neoplasia and thier importance. *J Clin Pathol* 2000;53:655-665.
84. Vojinov S, Levakov I, Jeremić D, Živojinov S, Marušić G. Hormonski status bolesnika sa uznapređovalim karcinomom prostate lečenih androgenim blokadama. *Vojnosanitetski pregled.* 2011; 68(4):321-326.
85. Eisenberger MA, et al. Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 1998; 339(15): 1036–42.
86. Ikram Nadeem HK, Tufail Samina. Cytokines. *International Journal of Pathology.* 2004;2(1):47-58.
87. Howell WM, Rose-Zerilli MJ. Cytokine gene polymorphisms, cancer susceptibility, and prognosis. *The Journal of nutrition.* 2007;137(1 Suppl):194S-9S. Epub 2006/12/22.
88. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet.* 2001;357(9255):539-45. Epub 2001/03/07.
89. Thomas-Tikhonenko A, Hunter CA. Infection and cancer: the common vein. *Cytokine & growth factor reviews.* 2003;14(1):67-77.
90. Ono M. Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. *Cancer science.* 2008;99(8):1501-6. Epub 2008/08/30.
91. Borozdenkova S, Mant TG, Allen E, Pu K, Hoshino S, Jurcevic S. Effects of a cytokine inhibitor, JTE-607, on the response to endotoxin in healthy human volunteers. *International immunopharmacology.* 2011;11(11):1837-43.
92. Santos-Rosa Manuel BJ, Whicher J, Tietz NW. Cytokines. In: Burtis CA, Ashwood ER, Tietz NW, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry.* 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1999. p. 541-616.

93. Sfar S, Saad H, Mosbah F, Chouchane L. Combined effects of the angiogenic genes polymorphisms on prostate cancer susceptibility and aggressiveness. *Molecular biology reports*. 2009;36(1):37-45. Epub 2007/10/06.
94. Jin P, Panelli MC, Marincola FM, Wang E. Cytokine polymorphism and its possible impact on cancer. *Immunologic research*. 2004;30(2):181-90. Epub 2004/10/13.
95. Evropsko udruženje urologa(EAU), Udruženje urologa Srbije (UUS),vodič za 2012 <http://www.uas.org.rs/PDF/PocketGuidelines2012.pdf>
96. Tazaki E, et all. (2011). Serum cytokine profiles in patients with prostate carcinoma. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2 (5): 887-891. doi: 10.3892/etm.2011.286
97. Armbruster DA. Prostate specific antigen:biochemistry,analytical methods and clinical application. *Clin Chem* 1993;39:181-195.
98. Kim HJ, Cantor H. CD4 T-cell subset and tumor immunity: the helpful and the not-so-helpful. *Cancer Immunol Res* 2014; 2: 91-98.
99. Kurebayashi Y, Nagai S, Ikejiri A, Koyasu S. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells. *Genes Cells* 2013; 18(4): 247-265.
100. Becker Y. Molecular immunological approaches to biotherapy of human cancers- a review, hypothesis and implications. *Anticancer Res* 2006; 26: 1113-1114.
101. Bostwick DG, de la Roza G, Dundore P, Corica FA, Iczkowski KA. Intraepithelial and stromal lymphocytes in the normal human prostate. *Prostate*. 2003; 55:187–193. [PubMed: 12692784]
102. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* (2011) 144:646–74. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
- 102.Sfanos KS, Hempel HA, De Marzo AM. The role of inflammation in prostate cancer. *Adv Exp Med Biol* (2014) 816:153–81. doi:10.1007/978-3-0348-0837-8\_7
- 103.Feder-Mengus C, Wyler S, Hudolin T, Ruzsat R, Bubendorf L, Chiarugi A, et al. High expression of indoleamine 2,3-dioxygenase gene in prostate cancer. *Eur J Cancer* (2008) 44:2266–75. doi:10.1016/j.ejca.2008.05.023
105. Mengus C, Le Magnen C, Trella E, Yousef K, Bubendorf L, Provenzano M, et al. Elevated levels of circulating IL-7 and IL-15 in patients with early stage prostate cancer. *J Transl Med* (2011) 9:162. doi:10.1186/1479-5876-9-162
- 106.Culig Z. Cytokine disbalance in common human cancers. *Biochim Biophys Acta* (2011) 1813:308–14. doi:10.1016/j.bbamcr.2010.12.010

107. Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol* (2009) 9:162–74. doi:10.1038/nri2506
108. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* (2008) 454:436–44. doi:10.1038/nature07205
109. De Marzo A. et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2007 April ; 7(4): 256–269. doi:10.1038/nrc2090.
110. Franks LM. Atrophy and hyperplasia in the prostate proper. *J. Pathol. Bacteriol.* 1954; 68:617–621.[PubMed: 14354565]
111. McNeal JE. Sternberg SS. *Histology for Pathologists*. 1997 Philadelphia Lippincott-Raven:997–1017. This book chapter describes in detail the now well established zonal anatomy of the prostate.
112. De Marzo AM, Marchi VL, Epstein JI, Nelson WG. Proliferative inflammatory atrophy of the prostate: implications for prostatic carcinogenesis. *Am. J. Pathol.* 1999; 155:1985–1992. [PubMed:10595928]
113. Rich AR. On the frequency of occurrence of occult carcinoma of the prostate. *J. Urol.* 1934;33:215–223.
114. McNeal JE. Normal histology of the prostate. *Am. J. Surg. Pathol.* 1988; 12:619–633. [PubMed:2456702]
115. Feneley MR, Young MP, Chinyama C, Kirby RS, Parkinson MC. Ki-67 expression in early prostate cancer and associated pathological lesions. *J. Clin. Pathol.* 1996; 49:741–748. [PubMed:9038759]
116. Ruska KM, Sauvageot J, Epstein JI. Histology and cellular kinetics of prostatic atrophy. *Am. J. Surg. Pathol.* 1998; 22:1073–1077. [PubMed: 9737239]
117. van Leenders GJ, et al. Intermediate cells in human prostate epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy. *Am. J. Pathol.* 2003; 162:1529–1537. [PubMed: 12707036]
118. Steiner GE, et al. The picture of the prostatic lymphokine network is becoming increasingly complex. *Rev. Urol.* 2002; 4:171–177. [PubMed: 16985676]
119. Steiner GE, et al. Expression and function of pro-inflammatory interleukin IL-17 and IL-17 receptor in normal, benign hyperplastic, and malignant prostate. *Prostate.* 2003; 56:171–182.[PubMed: 12772186]

120. Steiner GE, et al. Cytokine expression pattern in benign prostatic hyperplasia infiltrating T cells and impact of lymphocytic infiltration on cytokine mRNA profile in prostatic tissue. *Lab. Invest.* 2003; 83:1131–1146. [PubMed: 12920242]
121. Schaid DJ. The complex genetic epidemiology of prostate cancer. *Hum. Mol. Genet.* 2004;13(Spec No 1):R103–R121. [PubMed: 14749351]
122. Shalpour S, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer: an eternal fight between good and evil. *J Clin Invest* (2015) 125:3347–55. doi:10.1172/JCI80007
123. Larkin SE, Johnston HE, Jackson TR, Jamieson DG, Roumeliotis TI, Mockridge CI, et al. Detection of candidate biomarkers of prostate cancer progression in serum: a depletion-free 3D LC/MS quantitative proteomics pilot study. *Br J Cancer* (2016) 115:1078–86. doi:10.1038/bjc.2016.291
124. Cabal-Hierro L, Lazo PS. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cell Signal* (2012) 24:1297–305. doi:10.1016/j.cellsig.2012.02.006
125. Siegmund D, Kums J, Ehrenschwender M, Wajant H. Activation of TNFR2 sensitizes macrophages for TNFR1-mediated necroptosis. *Cell Death Dis* (2016) 7:e2375. doi:10.1038/cddis.2016.285
126. Stolting MN, Ferrari S, Handschin C, Becskei A, Provenzano M, Sulser T, et al. Myoblasts inhibit prostate cancer growth by paracrine secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J Urol* (2013) 189:1952–9. doi:10.1016/j.juro.2012.10.071
127. Chu WM. Tumor necrosis factor. *Cancer Lett* (2013) 328:222–5. doi:10.1016/j.canlet.2012.10.014
128. Szlosarek P, Charles KA, Balkwill FR. Tumour necrosis factor- $\alpha$  as a tumour promoter. *Eur J Cancer* (2006) 42:745–50. doi:10.1016/j.ejca.2006.01.012
129. I.Banzola et al. Expression of indoleamine 2,3-Dioxygenase induced by iFn- $\gamma$  and TnF- $\alpha$  as Potential Biomarker of Prostate cancer Progression. *Frontiers in immunology* (29 May 2018). doi: 10.3389/fimmu.2018.01051
130. Uyttenhove C, Pilotte L, Theate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med* (2003) 9:1269–74. doi:10.1038/nm934
131. Nguyen DP, Li J, Tewari AK. Inflammation and prostate cancer: the role of interleukin 6 (IL-6). *BJU Int* (2014) 113:986–92. doi:10.1111/bju.12452
132. Formica V, Cereda V, Nardecchia A, et al.: Immune reaction and colorectal cancer: friends or foes? *World J Gastroenterol* 2014;20:12407-19.

133. Johansson M, Denardo DG, Coussens LM.: Polarized immune responses differentially regulate cancer development. *Immunol Rev* 2008;222:145-54.
134. Klampfer L.: Cytokines, inflammation and colon cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2011;11:451-64.
135. Pernot S, Terme M, Voron T, et al.: Colorectal cancer and immunity: what we know and perspectives. *World J Gastroenterol* 2014;20:3738-50.
136. Kitajima M, Ito T, Tumes DJ, et al: Memory type 2 helper T cells induce long-lasting antitumor immunity by activating natural killer cells. *Cancer Res* 2011;71:4790-8.
137. Kanazawa M, Yoshihara K, Abe H, et al.: Effects of PSK on T and dendritic cells differentiation in gastric or colorectal cancer patients. *Anticancer Res* 2005;25:443-9.
138. Agarwal A, Verma S, Burra U, et al.: Flow cytometric analysis of Th1 and Th2 cytokines in PBMCs as a parameter of immunological dysfunction in patients of superficial transitional cell carcinoma of bladder. *Cancer Immunol Immunother* 2006;55:734-43.
139. Vignozzi L, Cellai I, Santi R, Lombardelli L, Morelli A, Comeglio P et al. Antiinflammatory effect of androgen receptor activation in human benign prostatic hyperplasia cells. *Journal of Endocrinology* (2012) 214, 31–43. DOI: 10.1530/JOE-12-0142
140. Cardillo M.R., Ippoliti F. IL-6, IL-10 and HSP-90 Expression in Tissue Microarrays from Human Prostate Cancer Assessed by Computer-assisted Image Analysis. *NCBI.Anticancer Res.* 2006 Sep-Oct;26(5A):3409-16;
141. Pu Y-S, et all: Interleukin-6 is responsible for drug resistance and antiapoptotic effects in prostatic cancer cells. *Prostate* 60: 120-129,2004.
142. Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK, Armitage RJ. Human IL-17: A novel cytokine derived from T-cells. *J Immunol* 1995;155:5483–5486.
143. Zhang Q. Et all: Interleukin-17 promotes prostate cancer via MMP7-induced epithelial-to-mesenchymal transition. *Oncogene advance online publication*, 4 July 2016; doi:10.1038/onc.2016.240
144. Gracie JA, Robertson SE, McInnes IB. Interleukin-18. *J Leukoc Biol*, 2003, 73: 213–224.
145. Dinarello CA IL-18: A TH-1 inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 11–24. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(99\)70518-X](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(99)70518-X)

146. Shailendra Dwivedi, Apul Goel, Shanker M Natu, Anil Mandhani, Sanjay Khattri, Kamlesh K Pant. Diagnostic and Prognostic Significance of Prostate Specific Antigen and Serum Interleukin 18 and 10 in Patients with Locally Advanced Prostate Cancer: A Prospective Study. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 2011, 12:1843-1848.
147. Jurcekova J.et all: Association between interleukin-18 variants and prostate cancer in Slovak population. *pubmed.ncbi*. PMID: 27881017: doi: 10.4149/neo\_2017\_119
148. Schmitz, J.; Owyang, A.; Oldham, E.; Song, Y.; Murphy, E.; McClanahan, T.K.; Zurawski, G.; Moshrefi, M.; Qin, J.; Li, X.; et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005, 23, 479–490. [CrossRef] [PubMed]
149. Larsen K.M. et all. The Role of IL-33/ST2 Pathway in Tumorigenesis: *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 2676; doi:10.3390/ijms19092676
150. Jovanovic, I.; et all.ST2 deletion enhances innate and acquired immunity to murine mammary carcinoma.*Eur. J. Immunol.* 2011, 41, 1902–1912. [CrossRef] [PubMed]
151. Jovanovic, I.P.; Pejnovic, N.N.; Radosavljevic, G.D.; Arsenijevic, N.N.; Lukic, M.L. IL-33/ST2 axis in innate and acquired immunity to tumors. *Oncoimmunology* 2012, 1, 229–231. [CrossRef] [PubMed]
152. Del Vecchio M, Bajetta E, Canova S, Lotze MT, Wesa A, Parmiani G and Anichini A: Interleukin-12: Biological properties and clinical application. *Clin Cancer Res* 13: 4677-4685, 2007.
153. Sangro B, Melero I, Qian C and Prieto J: Gene therapy of cancer based on interleukin 12. *Curr Gene Ther* 5: 573-581, 2005.
154. Gordetsky J, Epstein J. Grading of prostatic adenocarcinoma: current state and prognostic implications. *Diagn Pathol.* 2016 Mar 09;11:25. [PMC free article] [PubMed]
155. Pierorazio PM, Walsh PC, Partin AW, Epstein JI. Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. *BJU Int.* 2013 May;111(5):753-60. [PMC free article] [PubMed]
156. Stock, RG, Cesaretti, JA, Hall, SJ & Stone, NN 2009, 'Outcomes for patients with high-grade prostate cancer treated with a combination of brachytherapy, external beam radiotherapy and hormonal therapy', *BJU Int*, vol. 104, no. 11, pp. 1631-6.

157. Michalaki V., K Syrigos K., Charles P., J Waxman J., Serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  correlate with clinicopathological features and patient survival in patients with prostate cancer. *Br J Cancer*. 2004 Jun 14; 90(12): 2312–2316. doi: 10.1038/sj.bjc.6601814
158. Shariat, SF, et al 2004, 'Association of pre- and postoperative plasma levels of transforming growth factor beta(1) and interleukin 6 and its soluble receptor with prostate cancer progression', *Clin Cancer Res*, vol. 10, no. 6, pp. 1992-9.
159. Hubert RS, Vivanco I, Chen E, et al. STEAP: a prostate-specific cell-surface antigen highly expressed in human prostate tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 14523–8.
160. Maia CJB, Socorro S, Schmitt F, Santos CR. STEAP1 is over-expressed in breast cancer and down-regulated by 17 $\beta$ -estradiol in MCF-7 cell and in the rat mammary gland. *Endocrine* 2008; 34: 108–16.
161. Challita-Eid PM, Morrison K, Etesami S, et al. Monoclonal antibodies to six-transmembrane epithelial antigen of the prostate-1 inhibit intercellular communication in vitro and growth of human tumor xenografts in vivo. *Cancer Res* 2007; 67: 5798–805.
162. Pan Y, Li Y, Guo L, Zhao Y, Zhao X. Influence of expression of six transmembrane epithelial antigen of the prostate-1 on intracellular reactive oxygen species level and cell growth: an in vitro experiment. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2008; 88: 641–4.
163. Liang Y, et al. Six-transmembrane epithelial antigens of the prostate comprise a novel inflammatory nexus in patients with pustular skin disorders. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 21 Nov 2016, 139(4): 1217–1227. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.10.021
164. Gomes I.M. et al. STEAP1 is overexpressed in prostate cancer and prostatic intraepithelial neoplasia lesions, and it is positively associated with Gleason score. *Urol Onco*. 2014 Jan; 32(1): e23–9. doi: 10.1016/j.urolonc.2013.08.028. Epub 2013 Nov 13.
165. Kuroda, K., et al. (2007). Interleukin 6 is associated with cachexia in patients with prostate cancer. *Urology*. 2007 Jan; 69(1): 113–7. doi: 10.1016/j.urology.2006.09.039.
166. Pfitzenmaier, J., et al (2003). Elevation of cytokine levels in cachectic patients with prostate carcinoma. *Cancer*. 2003 Mar 1; 97(5): 1211–6. doi: 10.1002/cncr.11178.
167. Jose Ramon C.A. et al. Prostatic specific antigen (PSA), pro-inflammatory cytokines, and prostatic pathology (benign prostatic hyperplasia and cancer). Relationship with malignancy. *Oncologic Urology. Arch. Esp. Urol*. 2009; 62 (5): 359–366.

168. Tindall E.A. et al. Interleukin-6 promoter variants, prostate cancer risk, and survival. Australian Prostate Cancer BioResource. 10 July 2012.//doi.org/10.1002/pros.22557
169. Yosra B. et al. The Profile of Prostate Epithelial Cytokines and its Impact on Sera Prostate Specific Antigen Levels. *Inflammation*, Vol. 32, No. 3, June 2009. DOI: 10.1007/s10753-009-9121-7
170. Balkwill F. Tumor Necrosis Factor or Tumor Promoting Factor? *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002 Apr;13(2):135-41. doi: 10.1016/s1359-6101(01)00020-x.
171. Beutler B.A. The Role of Tumor Necrosis Factor in Health and Disease. *J Rheumatol Suppl.* 1999 May;57:16-21. PMID: 10328138
172. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet.* 1997 Feb;24(1):1-8.
173. Faupel-Badger JM, Kidd LC, Albanes D, Virtamo J, Woodson K, Tangrea JA. Association of IL-10 polymorphisms with prostate cancer risk and grade of disease. *Cancer Causes Control.* 2008, 19: 119-24. 10.1007/s10552-007-9077-6.
174. Zabaleta J, Su LJ, Lin HY, et al. Cytokine genetic polymorphisms and prostate cancer aggressiveness. *Carcinogenesis* 2009;30:1358–62.
175. Dluzniewski P.J. et.al . Variation in IL10 and Other Genes Involved in the Immune Response and in Oxidation and Prostate Cancer Recurrence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 21(10) October 2012. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0458
176. Mark E. Stearns, John Rhim, and Min Wang. Interleukin 10 (IL-10) Inhibition of Primary Human Prostate Cell induced Angiogenesis: IL-10 Stimulation of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and Inhibition of Matrix Metalloproteinase (MMP)-2/MMP-9 Secretion. *Clinical Cancer Research* Vol. 5, 189–196, January 1999.
177. Hu W. et.al. Alternatively activated macrophages are associated with metastasis and poor prognosis in prostate adenocarcinoma. *Oncology Letters* 10: 1390-1396, 2015. doi: 10.3892/ol.2015.3400
178. Carter HB, Parting AW. Diagnosis and staging in prostate cancer. In: Campbell MF, Walsh PC, eds. *Campbell's urology*. 7th ed., Philadelphia: Sanders, 1998: 2519–33.



179. Ablin RJ, Soanes WA, Bronson P, Witebsky E. Precipitating antigens of the normal human prostate. *J Reprod Fertil* 1970;22:573–4.
180. Hernandez MD, Ian M, Thompson MD. Prostate-specific antigen: a review of the validation of the most commonly used cancer biomarker. *Cancer* 2004; 101:894–904.
181. Stamey TA. Preoperative serum prostate-specific antigen (PSA) below 10 microg/l predicts neither the presence of prostate cancer nor the rate of postoperative PSA failure. *Clin Chem* 2001; 47:631–4.
182. Roscigno M, Scattoni V, Bertini R, Pasta A, Montorsi F, Rigatti P. Diagnosis of prostate cancer. State of the art. *Minerva Urol Nefrol* 2004; 56:123–45.
183. Schalken JA. Molecular and cellular prostate biology: origin of prostate-specific antigen expression and implications for benign prostatic hyperplasia. *BJU Int* 2004;93:5–9.
184. Catalona WJ, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991; 324:1156–61.
185. Nelson WG, De Marzo AM, DeWeese TL, Isaacs WB. The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *J Urol* 2004; 172:S6–11.
186. Spitto MT, Chang TD. STAT3 mediates IL-6-induced growth inhibition in the human prostate cancer line LNCaP. *Prostate* 2000; 42:88–98.
187. Lee SO, Lou W, Hou M, Onate SA, Gao AC. Interleukin-4 enhances prostate specific antigen expression by activation of androgen receptor and Akt pathway. *Oncogene* 2003;6037–44.
188. Lin DL, Whitney MC, Yao Z, Keller ET. Interleukin-6 induced androgen responsiveness in prostate cancer cells through upregulation of androgen receptor expression. *Clin Cancer Res* 2001; 7:1773–81.
189. Hobisch A, Eder IE, Putz T, Horninger W, Bartsch G, Klocker H, et al. Interleukin-6 regulates prostate-specific antigen protein expression in prostate carcinoma cells by activation of the androgen receptor. *Cancer Res* 1998; 58:4640–5.
190. Debes JD, Schmidt LJ, Huang H, Tindall DJ. p300 mediates interleukin-6-dependant transactivation of the androgen receptor. *Cancer Res* 2002; 62:5632–6.

191. Mora LB, et al. Constitutive activation of Stat3 in human prostate tumors and cell lines: direct inhibition of Stat3 signaling induces apoptosis of prostate cancer cells. *Cancer Res* 2002; 62:6659–66.
192. Liu XH, et al. Prostaglandin E(2) stimulates prostatic intraepithelial neoplasia cell growth through activation of the interleukin-6/GP130/STAT-3 signaling pathways. *Biochim Biophys Res Commun* 2002; 290:249–55.
193. Yosra B. et al. Pro-inflammatory cytokines and prostate-specific antigen in hyperplasia and human prostate cancer. *Cancer Detection and Prevention* 32 (2008) 23–32. doi:10.1016/j.cdp.2008.02.007
194. B. Donald-Buri. et al. Evaluating engrailed-2 and cytokines in urine with serum PSA as potential biomarkers in patients with prostatism at MOI TEACHING AND REFERRAL HOSPITAL, ELDORET, KENYA. *East African Medical Journal* Vol. 93 No. 12 December 2016
195. Giuseppe Penna. Seminal Plasma Cytokines and Chemokines in Prostate Inflammation: Interleukin 8 as a Predictive Biomarker in Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome and Benign Prostatic Hyperplasia. *European Urology* 51 (2007) 524–533.
196. Han-Ching Lin. et al. Influence of Cytokine Gene Polymorphisms on Prostate-Specific Antigen Recurrence in Prostate Cancer after Radical Prostatectomy. *Urol Int* 2009;83:463–470
197. Jessica E. Hawley. et al. Association between immunosuppressive cytokines and PSA progression in biochemically recurrent prostate cancer treated with intermittent hormonal therapy. *The Prostate*. 2019;1 –9.
198. Wolters T, et al. Should pathologists routinely report prostate tumour volume? The prognostic value of tumour volume in prostate cancer. *Eur Urol* 2010; 57: 821–9. doi: 10.1016/j.eururo.2009.07.027.
199. Kench J, Clouston D, Delprados W, Eade T, Ellis D, Horvath L. Prognostic factors in prostate cancer. Key elements in structured histopathology reporting of radical prostatectomy specimens. *Pathology* 2011 Aug;43(5):410-9. doi: 10.1097/PAT.0b013e328348a6b3.
200. Van der Kwast TH, et al. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy

Specimens. Working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume. *Mod Pathol.* 2011 Jan;24(1):16-25. doi: 10.1038/modpathol.2010.156. Epub 2010 Sep 3.

201. Sherwin JC, Mirmilstein G, Pedersen J, Lawrentschuk N, Bolton D, Mills J. Tumor volume in radical prostatectomy specimens assessed by digital image analysis software correlates with other prognostic factors. *J Urol* 2010; 183: 1808–14

202. Perera M, Lawrentschuk N, Bolton D, Clouston D: Comparison contemporary methods of estimating prostate tumor volume in pathological specimens. *BJU Int.* 2014 Mar;113 Suppl 2:29-34. doi: 10.1111/bju.12458.

203. Epstein JI. Prognostic significance of tumor volume in radical prostatectomy and needle biopsy specimens. *J Urol.* 2011 Sep;186(3):790-7. doi: 10.1016/j.juro.2011.02.2695.

204. Chen Z, et al. Expression of proinflammatory and proangiogenic cytokines in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5:1369– 1379

205. Berrueta L. et al. Stretching Reduces Tumor Growth in a Mouse Breast Cancer Model. *Scientific Reports*, 16 Nov 2018, 8(1):17226. DOI: 10.1038/s41598-018-35364-w

206. Shalamzari S.A. et al. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. *Iran J Basic Med Sci*, Vol. 17, No. 4, Apr 2014. doi; 10.22038/IJBMS.2014.2579

207. Fujita K. et al. Cytokine profiling of prostatic fluid from cancerous prostate glands identifies cytokines associated with extent of tumor and inflammation. *Prostate* 2008;68:872–82. DOI: 10.1002/pros.20755

208. Walsh PC., Donker PJ (1982) Impotence following radical prostatectomy: insight into etiology and prevention. *J Urol* (128):492-497.

209. Heidenreich A. et al. EAU Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent—Update 2013. *EurUrol* 2014;65:124-37

210. Brundage M. Et al. The Use of Conformal Radiotherapy and the Selection of Radiation Dose in T1 or T2 Low or Intermediate Risk Prostate Cancer - A Systematic Review. *Radiother Oncol.* 2002 Sep;64(3):239-50. doi: 10.1016/s0167-8140(02)00184-6.

211. Eriksson D, Stigbrand T. Radiation-induced cell death mechanisms. *Tumor Biol.* 2010;31:363–372.

212. Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance. *J. Cell Sci.* 2012;125:5591–5596.

213. Barker HE, Paget JTE, Khan A a., et al. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. *Nat. Rev. Cancer.* 2015;15:409–425.
214. Leroi N, Lallemand F, Coucke P, et al. Impacts of ionizing radiation on the different compartments of the tumor microenvironment. *Front. Pharmacol.* 2016;7:1–9.
215. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell.* 2010;140:883–899.
216. Schaeue D, Kachikwu E, McBride W. Cytokines in Radiobiological Responses: A Review. *Radiat. Res.* 2012;178:505–523.
217. Rodríguez-Ruiz ME, Vanpouille-Box C, Melero I, Formenti SC, Demaria S. Immunological mechanisms responsible for radiation-induced abscopal effect. *Trends Immunol.* (2018) 39:644–55. doi: 10.1016/j.it.2018.06.001
218. Krysko DV, Garg AD, Kaczmarek A, Krysko O, Agostinis P, Vandenabeele P. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. *Nat Rev Cancer.*(2012) 12:860–75. doi: 10.1038/nrc3380
219. Johnke RM, Edwards JM, Evans MJ, et al. Circulating cytokine levels in prostate cancer patients undergoing radiation therapy: influence of neoadjuvant total androgen suppression. *In Vivo* 2009;23:827-33.
220. Kovacs CJ, Daly BM, Evans MJ, et al. Cytokine profiles in patients receiving wide-field + prostate boost radiotherapy (xRT) for adenocarcinoma of the prostate. *Cytokine* 2003;23:151-63.
221. Fleckenstein K, Gauter-Fleckenstein B, Jackson IL, et al. Using biological markers to predict risk of radiation injury. *Semin Radiat Oncol* 2007;17:89-98.
222. Rube CE, Palm J, Erren M, et al. Cytokine plasma levels: reliable predictors for radiation pneumonitis? *PLoS One* 2008;3:e2898.
223. Siva S, MacManus M, Kron T, et al. A pattern of early radiation-induced inflammatory cytokine expression is associated with lung toxicity in patients with non-small cell lung cancer. *PLoS One* 2014;9:e109560.
224. Stankovic V, et al. Acute and Late Genitourinary Toxicity after 72 Gy of Conventionally Fractionated Conformal Radiotherapy for Localised Prostate Cancer: Impact of Individual and Clinical Parameters. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2016;28:577-86.
225. Hanne A. et al. Serum cytokine profiles and metabolic tumour burden in patients with non-small cell lung cancer undergoing palliative thoracic radiotherapy. *Advances in Radiation Oncology.* doi.org/10.1016/j.adro.2017.12.007

226. Rubin P, Johnston CJ, Williams JP, et al. A perpetual cascade of cytokines postirradiation leads to pulmonary fibrosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;33:99-109.
227. Christensen E, Pintilie M, Evans KR, et al. Longitudinal cytokine expression during IMRT for prostate cancer and acute treatment toxicity. *Clin Cancer Res* 2009;15:5576-83.
228. Provatopoulou X, Athanasiou E, Gounaris A. Predictive markers of radiation pneumonitis. *Anticancer Res* 2008;28:2421-32.
229. Ding NH, Li JJ, Sun LQ. Molecular mechanisms and treatment of radiation-induced lung fibrosis. *Curr Drug Targets* 2013;14:1347-56.
230. Arpin D, et al. Early variations of circulating interleukin-6 and interleukin-10 levels during thoracic radiotherapy are predictive for radiation pneumonitis. *J Clin Oncol* 2005;23:8748-56.
231. Citrin DE, et al. Determination of cytokine protein levels in oral secretions in patients undergoing radiotherapy for head and neck malignancies. *Radiat Oncol* 2012;7:64.
232. Zhao L, et al. Elevation of plasma TGF-beta1 during radiation therapy predicts radiation-induced lung toxicity in patients with non-small-cell lung cancer: a combined analysis from Beijing and Michigan. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009;74:1385-90.
233. Dirksen SR, Kirschner KF, Belyea MJ. Association of symptoms and cytokines in prostate cancer patients receiving radiation treatment. *Biol Res Nurs* 2014;16:250-7.
234. Kiecolt-Glaser, J.K., et al. 2005. Hostile marital interactions, proinflammatory cytokine production, and wound healing. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 1377–1384.
235. Narita S. et al. Comparison of Surgical Stress in Patients Undergoing Open Versus Laparoscopic Radical Prostatectomy by Measuring Perioperative Serum Cytokine Levels. *Journal of laparoendoscopic & advanced surgical techniques*. Volume 23, Number 1, 2013. DOI: 10.1089/lap.2012.0348
236. Quatan N, Meyer B, Bailey M, Pandha H. Persistently high levels of immunosuppressive cytokines in patients after radical prostatectomy. *Nature Publishing Group. Prostate Cancer and Prostatic Diseases* (2006) 9, 420–425. doi:10.1038/sj.pcan.4500899
237. Holmberg L, et al. A randomized trial comparing radical prostatectomy with watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 781–789.
238. Ward JF, Slezak JM, Blute ML, Bergstralh EJ, Zincke H. Radical prostatectomy for clinically advanced (cT3) prostate cancer since the advent of prostate-specific antigen testing: 15-year outcome. *BJU Int* 2005; 95: 751–756.

## БИОГРАФИЈА

Потпуковник др Дејан Јовановић рођен је 03.09.1973. год.у Приштини. Основну и средњу школу завршио је у Рашки. Дипломирао је на Медицинском факултету Универзитета у Приштини 2001.год. Од 1999.год. је војни стипендиста. Обавезан лекарски стаж у трајању од годину дана обавио је на Војномедицинској академији у Београду. Специјалистички испит из Радиологије положио је 2010.год. са одличним успехом на Институту за радиологију Војномедицинске академије. Школске 2012/2013. уписао је другу годину Докторских академских студија, изборно подручје Онкологија на Факултету медицинских наука, Унивезитета у Крагујевцу. Завршни докторски испит положио је са највећом оценом у фебруарском року 2014.год. Службу, потпуковник др Дејан Јовановић почео је као начелник ИА Бањица ЦВМУ Београд (2002-2004), потом као начелник Одељења опште медицине ВМЦ Славија (2004-2006). 2006.год. уписао је специјализацију из радиологије на Институту за радиологију ВМА, да би после положеног специјалистичког испита са одличном оценом, постао начелник Одсека за Ортоволтажну и брахитерапију, Одељења радиотерапије, Института за радиологију ВМА. Начелник Одељења Радиотерапије постао је 2014. године. Члан је Српског лекарског друштва, Секције за радиолошку дијагностику, Асоцијације Радијационих Онколога Србије, Лекарске коморе Србије, *ESR EU*.

## БИБЛИОГРАФИЈА

1. **D. Jovanović**, V.Bančević, G.Šupić, Dž.Abazović, I.Stanojević, D.Vojvodić et al. High serum IL-10 after therapy is characteristic for carcinoma prostate patients with high Gleason score, high tumor volume and present peri-tumor infiltration. *Vojnosanitetski pregled* (2019); Online First.October,2019. doi: 10.2298/VSP190820117J. **M23**
2. B Vekic, V Dragojevic-Simic, M Jakovljevic, M Kalezic, Z.Zagorac, **D.Jovanovic** et al. A Correlation Study of the Colorectal Cancer Statistics and Economic Indicators in Selected Balkan Countries. *Frontiers in Public Health*(18.feb.2020). doi: 10.3389/fpubh.2020.00029. **M22**
3. **D. Jovanović**, B. Vukomanović, V.Jovanović, N. Rančić. The occurrence of local recidive in patients with planocellular carcinoma of the larynx. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*, doi:10.2478/sjecr-2020-0037, april 2020. **M51**
4. V. Jovanović, J. Marić, **D. Jovanović**. Following the principles of ergonomics and musculoskeletal disorders in ultrasonographers. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*, doi:10.2478/sjecr-2020-0036. april 2020. **M51**

**ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Дејан М. Јовановић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:


Испитивање степена повезаности концентрације цитокина у урину и серуму са патохистолошким и клиничким 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 \_\_\_\_\_, 31.8.2020. године,



потпис аутора



**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Ја, Дејан М. Јовановић,

дозвољавам

не дозвољавам

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

Испитивање степена повезаности концентрације цитокина у урину и  
серуму са патохистолошким и клиничким 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 дозвољавам<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 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 прерада<sup>2</sup>

У Крагујевцу \_\_\_\_\_, 31.8.2020. године,



\_\_\_\_\_

потпис аутора

---

<sup>2</sup> 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/>