I.O.S.U.D. - Universitatea de Vest ”Vasile Goldiş” din Arad
ŞCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ

Arad 2018

REZUMAT TEZA DE DOCTORAT

Evaluarea aplicabilității clinice ale biomarkerilor standard și ADN în tratamentul pacienților cu hipertrofie benignă de prostată

Doctorand: **Imola Miklos**

Conducător de doctorat: **Prof. univ. dr. Ioan Ioiart**

PhD THESIS SUMMARY

Assessment of clinical aplicability of standard and DNA biomarkers in treatment of patients with benign prostate hypertrophy

PhD Student: **Imola Miklos**

Scientific supervisor: **Prof.univ.dr. Ioan Ioiart**

Motto:

Medicine is a science of uncertainty and an art of probability.
William Osler

Primum non nocere.
Autor necunoscut

Mulțumiri:

Mulțumesc familiei mele pentru susținerea permanentă,
domnului profesor Ioiart Ioan pentru
coordonarea profesionistă, etică și morală
de care a dat dovadă în anii mei de studiu,
doamnei conferențiar Cristina Popescu pentru îndrumarea
consecventă în momentele mele de impas pe calea geneticii și
domnului doctor Mureșanu Horia pentru sfaturile pertinente și
încrederea prezentată

Teza doctorat a fost realizată
în cadrul proiectului TE 2854 nr. contract 358/01.10.2015,
cod proiect PN-II-RU-TE-2014-4-2854 finanțat de UEFISCDI prin
programul Tinere Echipe - PN-II-RU-TE-2014-4
(adresa web proiect: www.proepimarks.com)

CUPRINS

INTRODUCERE **1**

CAPITOLUL I: CE CUNOAȘTEM DESPRE HIPERTROFIA BENIGNĂ DE PROSTATĂ? (CERCETARE DE LITERATURĂ) **2**

1.1 PREVALENȚA ȘI INCIDENȚA HBP **2**

1.2 ASPECTE CLINICE ȘI PARACLINICE ÎN DIAGNOSTICUL HBP **4**

1.2.1 Caracterizarea clinică a suferinței în HBP **4**

1.2.2 Diagnosticul clinic al HBP **4**

1.2.2.1 Anamneza **4**

1.2.2.2 Examinarea clinică **5**

1.2.3 Diagnosticul paraclinic al HBP **5**

1.2.3.1 Metode imagistice utilizate în diagnosticul HBP **5**

1.2.3.2 Examene de laborator **7**

1.2.3.3 Utilitatea uroflowmetriei în diagnosticul HBP **7**

1.2.3.4 Utilitatea uretrocistoscopiei în diagnosticul HBP **7**

1.3 MECANISME MOLECULARE ÎN PATOGENEZA HBP **8**

1.3.1 Rolul inflamației în apariția HBP **9**

1.3.2 Rolul stresului oxidativ în patogeneza HBP **11**

1.4 BIOMARKERII STANDARD ȘI ADN ÎN DIAGNOSTICUL HBP **12**

1.4.1 Biomarkerii standard în diagnosticul HBP **12**

1.4.1.1 Antigenul specific prostatic **12**

1.4.1.2 Antigen specific prostatic asociat HBP (BPSA) **15**

1.4.2 Biomarkeri ADN în diagnosticul HBP **16**

1.4.2.1 Metode de imunotestare în diagnosticul HBP **16**

1.4.2.2 Biomarkerii genetici implicați în patogeneza HBP **17**

1.4.2.3 Biomarkerii epigenetici cu rol în dezvoltarea HBP **19**

1.4.2.3.1 5-metil-citozina (5mC) **22**

1.4.2.3.2 5-hidroximetil-citozina (5hmC) **22**

1.4.3 Biomarkeri cu relevanță clinică în diagnosticul HBP **23**

1.5 TRATAMENTUL ÎN HBP **24**

1.5.1 Tratamentul conservator **24**

1.5.2 Tratamentul medicamentos **24**

1.5.3 Terapia combinată **26**

1.5.4 Tratamentul chirurgical **26**

1.5.5 Alte tratamente **28**

CAPITOLUL II: MATERIALE ȘI METODE UTILIZATE ÎN CERCETĂRILE PERSONALE **30**

2.1 SELECȚIA GRUPULUI DE STUDIU **30**

2.1.1 Criterii de includere și caracteristici specifice **30**

2.1.2 Schema de derulare a studiului 31
2.1.3 Metode de lucru utilizate în evaluarea pacienților 34
2.1.4 Metode de evaluare a biomarkerilor AND 35
2.1.4.1 Extracția ADN-lui din sânge periferic 35
2.1.4.2 Evaluarea 5mC și 5hmC prin tehnica ELISA 35
2.1.5 Analiză biostatistică 38
CAPITOLUL III: REZULTATELE CERCETĂRILOR PERSONALE 40
3.1. Caracterizarea grupului de studiu 40
3.1.1. Mediul de proveniență 40
3.1.2. Stratificarea pacienților în funcție de vârstă 43
3.1.3. Corelarea datelor clinice și paraclinice cu scorul IPSS 45
3.1.4. Relevanța diagnostică a Vp la pacienții incluși în studiu 48
3.1.5. Conduita terapeutică recomandată pacienților cu HBP 51
3.2. Evaluarea aplicabilității clinice a biomarkerilor standard și ADN la pacienții diagnosticați cu HBP 54
3.2.1. Rolul PSA în diagnosticul HBP 54
3.2.2. Evaluarea influenței gradului inflamației asupra variațiilor parametrilor clinici și paraclinici urmăriți la pacienții cu HBP 60
3.2.3. Dinamica modificărilor biomarkerilor epigenetici 5mC și 5hmC la diagnostic 69
3.2.3.1. Dinamica modificărilor biomarkerilor epigenetici 69
3.2.3.2. Relevanța clinică a PSA-lui în asociere cu 5mC și 5hmC 72
3.2.3.3. Analiza influenței vârstei asupra valorilor 5mC și 5hmC 74
3.2.3.4. Dinamica markerilor epigenetici 5mC/5hmC asociată factorilor de risc cunoscuți în hipertrofia benignă de prostată 77
3.3 Dinamica modificărilor biomarkerilor standard și ADN în evoluția pacienților cu HBP aflați sub tratament 80
3.3.1. Analiza influenței tratamentului asupra scorului IPSS 81
3.3.2. Dinamica biomarkerilor ADN, 5mC și 5hmC, în evoluția pacienților cu HBP aflați sub tratament 85
CAPITOLUL IV: DISCUȚII 100
4.1 Prevalența HBP și complianța pacienților la studiu 100
4.2 Importanța evaluării clinice și paraclinice în diagnosticul HBP 102
4.3 Managementul terapeutic recomandat înHBP 103
4.4 Relevanța clinică a biomarkerilor ADN, respectiv 5mC și 5hmC, în diagnosticul și evoluția HBP 104
CONCLUZII 108
BIBLIOGRAFIE 109

INTRODUCERE

Hiperplazia benignă de prostată (HBP) este o tumoră benignă a prostatei, fiind diagnosticată frecvent la pacienții de peste 60 de ani. Este consideratã cea mai frecventã boalã la bărbat dupã cataractã, metodele de diagnostic și tratament sunt stabilite conform ghidurilor, însă patogeneza sa a rămas neelucidată.

Studiile au demonstrat, că prevalența hipertrofiei benigne de prostată este de 8%, 50% și 80% în decadele de vârstă 4, 6 și 9. În America 15-60% din populația masculină de peste 40 de ani prezintă simptome de tract urinar inferior (LUTS), sugestive pentru HBP. Studii ample, care au utilizat chestionarul de scor internațional al simptomelor prostatice (IPSS) pentru evaluarea pacienților, au arătat, că rata de apariție a HBP în cadrul bărbaților între 40 și 79 de ani a fost de 14% în Franța, 18% în Scoția, 24% în Suedia, 38% în SUA și 56% în Japonia. În România există aproximativ trei milioane de bărbați cu vârsta peste 50 de ani, dintre aceștia au fost diagnosticați cu HBP și sunt sub tratament 200.000 de pacienți. Estimările noastre arată, că în jur de 900.000 de bărbați pot prezenta semne și simptome sugestive pentru HBP.

Datorită educației sanitare precare a populației și ignoranței, 78% dintre bărbați de peste 50 de ani, care prezintă simptome sugestive pentru HBP nu sunt investigați și tratați, cu toate că boala în unele cazuri poate determina complicații severe prin obstrucție subvezicală (retenție acută de urină (RAU), insuficiență renală acută (IRA) sau boală cronică de rinichi (BCR). Este cunoscut faptul că HBP nu se malignizează, însă diagnosticul diferențial cu cancerul de prostată (CaP) este uneori dificil.

În România nu există bază de date completă pentru pacienții cu HBP, iar diagnosticul se pune pe baza examenului clinic, ecografic și rezultatul PSA, care uneori sunt insuficiente. În evaluarea pacienților cu HBP este nevoie de metode de diagnostic și supraveghere moderne, care să aducă în prim plan noi biomarkeri în ajutorul clinicianului.

Studiul nostru s-a încadrat în acest context, având scopul de a determina aplicabilitatea clinică a unor noi biomarkeri epigenetici în evaluarea inițială a pacienților cu HBP și în monitorizarea ulterioară a acestora.

MOTIVAȚIA STUDIULUI: Diagnosticul diferențial al HBP cu CaP este uneori dificil, deoarece CaP devine detectabil clinic doar în stadii avansate, iar testul PSA prezintă variații în funcție de Vp. În evoluție HBP poate determina numeroase complicații. Infecția urinară în unele cazuri este recidivantă, cu simptomatologie trenantă, care impune tratamente medicamentoase costisitoare, uneori ineficiente. Alte complicații, cum ar fi litiaza vezicală, hematuria, retenție de urină impun intervenția chirurgicală. Dezvoltarea unor biomarkeri noi, care să ajute clinicianul în diagnosticul și evaluarea HBP este importantă în contextul trierii pacienților cu suspiciune de CaP. Datele existente sugerează că markerii epigenetici se pot dovedi mult mai sensibili pentru a monitoriza evoluția bolii în cazul pacienților netrataţi şi ai celor aflaţi sub tratament. Dacă fenomenul epigenetic se dovedește a fi reversibil prin diferite metode terapeutice, cum ar fi fitoterapia, se speră la oprirea în evoluție și inversarea evoluției bolnavilor, de asemenea se poate spera la identificarea factorilor inflamatori ca inductori de epigeneză, care vor permite un tratament preventiv al bolilor prostatei, dacă se instituie de la vârste tinere. Prin screeningul efectuat pe un grup larg de pacienţi se poate identifica ”time frame”-ul, unde modificările epigenetice ar putea indica o evoluție nefavorabilă a bolii. Astfel acești biomarkeri ar completa tabloul de diagnostic pentru încadrarea mai bună în grupurile de risc a pacienților.

SCOPUL STUDIULUI: Studiul de faţă îşi propune să evalueze aplicabilitatea clinică a unor biomarkeri ADN (epigenetici) din fluide biologice în comparaţie cu biomarkerii clinici standard în diagnosticul şi evoluția pacienților cu HBP.

OBIECTIVE:

- Evaluarea prevalenței și incidenței HBP;
- Caracteristicile clinice și paraclinice asociate ale pacienților cu HBP;
- Aplicabilitatea clinică a biomarkerilor epigenetici individual și în asociere cu PSA la diagnosticul HBP;
- Aplicabilitatea clinică a biomarkerilor epigenetici individual și în asociere cu PSA în evoluție a pacienților diagnosticaţi cu HBP şi aflaţi sub tratament specific.

CAPITOLUL II: MATERIALE ŞI METODE UTILIZATE ÎN CERCETĂRILE PERSONALE

1.1 SELECȚIA GRUPULUI DE STUDIU

Studiul a fost condus în conformitate cu principiile etice din Declaraţia Helsinki, respectând toate cerinţele impuse în cercetările cu subiecţi umani. Înaintea începerii cercetării am obţinut toate aprobările de la Comitetul de Etică al Spitalului Clinic Judeţean de Urgenţă Arad (Nr. 17/21.08.2016) şi al Universităţii de Vest "Vasile Goldiş" din Arad (Nr. 26/17.05.2017) pentru derularea studiului cu respectarea normelor de etică şi deontologie. Am întocmit fişa de evidenţă şi colectare a datelor şi am precizat criteriile de selecţie a pacienţilor. Am întocmit consimţământul informat de participare în studiu şi fişa de informare a pacienţilor despre derularea studiului.

1.1.1 Criterii de includere și caracteristici specifice grupului de studiu

Pe perioada studiului au fost consultaţi peste 400 de pacienţi cu vârsta peste 50 de ani. Dintre pacienţii consultaţi au fost selectaţi 200 de subiecţi, care au îndeplinit criteriile de includere şi excludere din studiu şi au fost prezenţi la fiecare control. Pacienţii au fost încadraţi în două grupe de studiu:

- pacienţi cu suspiciune de HBP: 181 de subiecţi şi
- grupul control: 19 subiecţi clinic sănătoşi.

Tabel 4 Criteriile de înrolare în studiu

Criterii de includere în studiu	Criterii de exludere din studiu
Pacienţi de sex masculin	Pacienţi cu antecedente personale patologice de orice boală neoplazică
Semnarea consimţământului informat	
Vârsta peste 50 de ani	Pacienţi diagnosticaţi cu ASAP/PIN sau CaP după înrolarea în studiu
Pacienţi noi diagnosticaţi cu HBP	

1.1.2 Schema de derulare a studiului

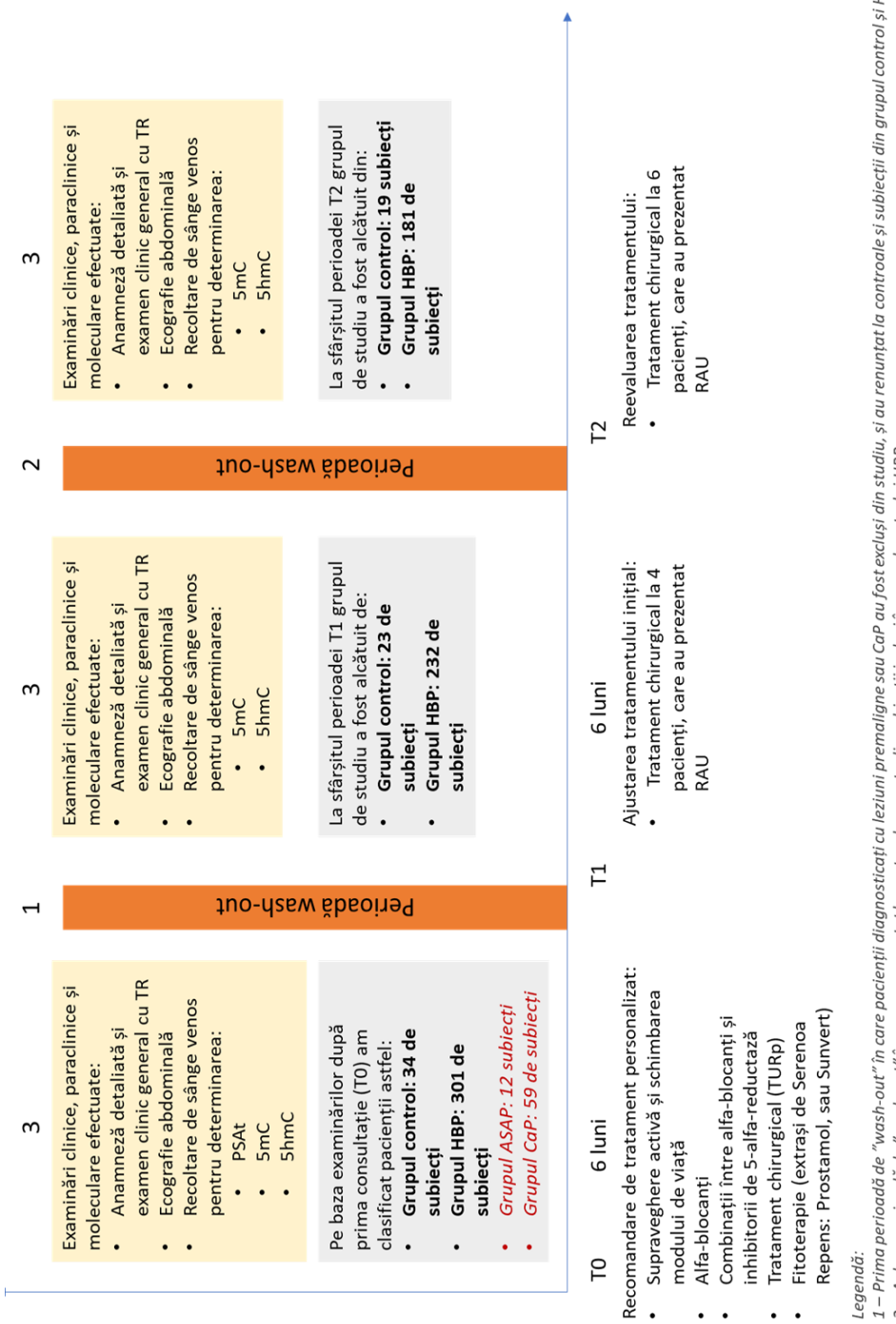

Figura 1.2 Schemă de urmărire în evoluție a pacienților incluși în studiu

1.1.3 Metode de lucru utilizate în evaluarea pacienților incluși în studiu

În timpul consultațiilor pacienților este foarte important să se aplice corect toate metodele de evaluare de care dispune clinicianul în vederea diagnosticului pozitiv corect și în recomandarea tratamentului specific. Metodele de lucru utilizate în evaluarea subiecților incluși în studiu au fost examinările clinice și paraclinice (imagistice și de recoltare de probe bioumorale).

Toți pacienții au fost evaluați prin următoarele metode de lucru:

- **Clinice:**
  - anamneza pacienților;
  - aplicarea chestionarului IPSS pentru evaluarea LUTS;
  - examen clinic general;
  - tușeu rectal;
- **Paraclinice:**
  - **Investigații imagistice**: ecografia transrectală și abdominală;
  - **Evaluarea biomarkerilor standard:** PSAt;
  - **Evaluarea biomarkerilor ADN:** recoltarea de probe biologice (sânge venos) pentru evidențierea markerilor de metilare globală (tehnici ELISA pentru determinarea 5mC, 5hmC)

1.1.4 Metode de evaluare a biomarkerilor ADN

1.1.4.1 Extracția ADN-lui din sânge periferic

Probele de sânge au fost supuse extracției de ADN utilizând kitul Qiagen DNAsy Blood and Tissue Kit din 100 µl probă de sânge prin separare pe coloane. Proba a fost resuspendată la finalul extracției in 100 µl buffer de eluție și stocată la -20°C.

1.1.4.2 Evaluarea 5mC și 5hmC din fluide biologice prin tehnica ELISA

Aceasta a vizat analiza globală a celor doi biomarkeri ADN. Proba de ADN este legată la suprafața plăcii de ELISA.

S-au utilizat kiturile 5mC™ ADN ELISA și Quest 5hmC ™ ADN ELISA Kit (ZymoResearch, SUA). Aceste kituri sunt cele mai publicate în

literatura de specialitate. Această abordare ne-a permis să cuantificăm rapid 5mC și 5hmC din probe de ADN (în mai puțin de trei ore)[97].

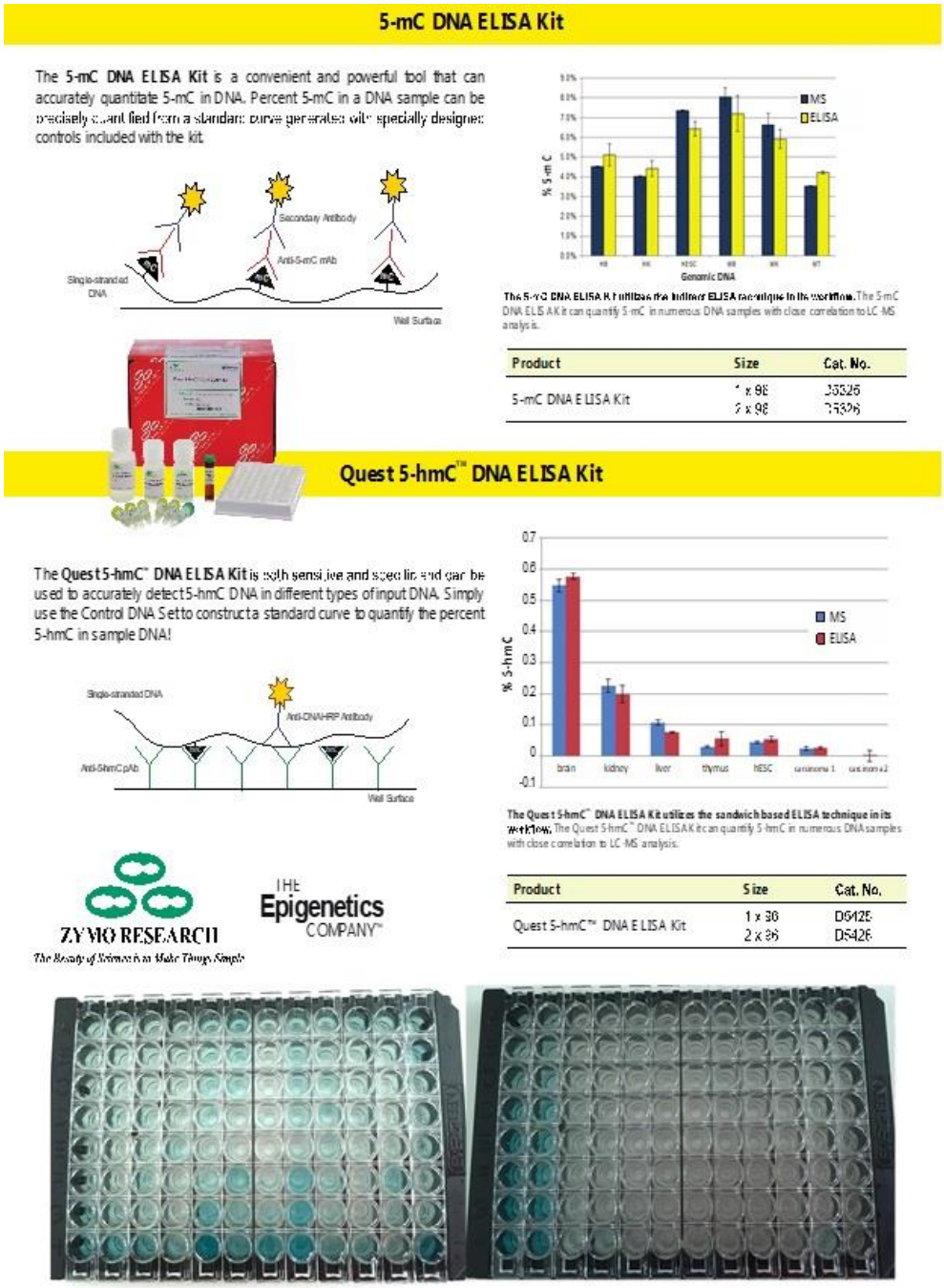

Figura 2.2. Kit ELISA pentru determinarea 5mC și 5hmC. *Metodă colorimetrică, ușor de realizat. Sunt necesare trei exemplare pentru a evita variabilitatea. (original)*

1.1.5 Analiză biostatistică

Analizele biostatistice urmăresc asociațiile între biomarkerii studiați și evoluția pacienților incluși în studiu precum și capacitatea lor de a discrimina între pacienți.

Am folosit următoarele metode biostatistice:

(1) Analiza descriptivă a grupurilor;

(2) Teste ANOVA pentru evoluția PSA, Vp și a scorului IPSS;

(3) Testul Chi-pătrat a fost folosit pentru evaluarea diferențelor existente în ceea ce privește distribuția pacienților aparținând unor categorii diferite;

(4) Testul Kruskal - Wallis a fost folosit pentru a studia diferențele dintre grupuri, testul Dunn fiind aplicat ca analiză posthoc pentru compararea a două grupuri în cazul existenței unor valori semnificative ale lui *p* pentru testul Kruskal – Wallis.

(5) Analiza variației nivelurilor de 5mC și 5hmC în ADN-ul leucocitar la pacienții cu și fără HBP a fost realizată cu testul F, în timp ce pentru aceiași parametrii, analiza ANOVA a fost folosită pentru analiza diferențelor existente între grupurile cu comorbidități diagnosticate.

(6) ANOVA cu măsurători repetate a fost folosită pentru analiza evoluției temporală a parametrilor urmăriți.

CAPITOLUL III: REZULTATELE CERCETĂRILOR PERSONALE

3.1. Caracterizarea grupului de studiu

Deşi HBP este boală destul de cunoscută, incidența crescută în rândul populației masculine din România conferă valențe noi factorilor, care pot concura la dezvoltarea sa. Din aceste motive am acordat atenție aparte caracterizării cât mai complete a pacienților din grupul de studiu.

3.1.1. Mediul de proveniență

Majoritatea subiecților au fost recrutați din mediul rural. Astfel, din grupul HBP 67,40% (n=122) din cazuri au fost de proveniență rurală, iar în grupul control 89,47% (n=17).

Pe harta județului Arad am marcat localitățile de proveniență a pacienților (Figura 1.3).

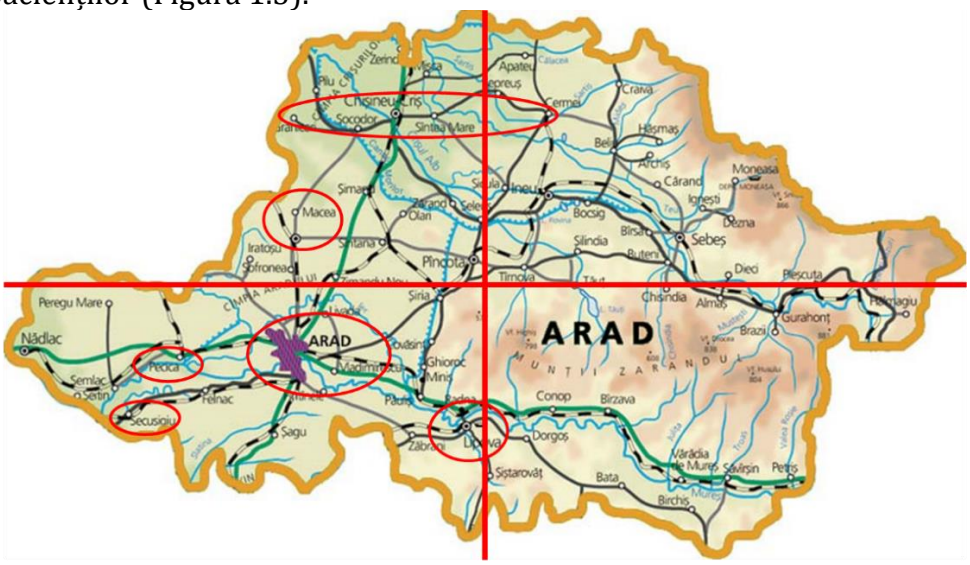

Figura 1.3. Distribuția pacienților în funcție de locul de proveniență

3.1.2. Corelarea datelor clinice și paraclinice cu scorul IPSS

În acest studiu am inclus 200 de bărbați cu vârste cuprinse între 50 și 85 de ani, care au fost investigați clinic și paraclinic pentru diagnosticarea HBP. Am definit HBP, ca și Vp măsurat ecografic >25g și/sau scor IPSS >8. PSA-ul a fost efectuat la fiecare bărbat de peste 50 de ani fiind indicat pentru screeningul CaP. Principalii factori urmăriți la pacienții incluși în studiu sunt prezentate în cadrul Tabelului 5.

Tabel 5. Factorii urmăriți la pacienții incluși în studiu pe categorii de vârstă

Caracteristici	**Total (n=200)**	**51-60 ani (n=13)**	**61-70 ani (n=125)**	**>70 ani (n=62)**	**p value**
Scorul IPSS	11.42±7.77	8.92±8.22	10.96±8.13	12.88±6.73	p=0.046
1-7 (ușor)	94 (47%)	9	65	20	
8-19 (moderat)	72 (36.5%)	3	40	29	
20-35 (sever)	34 (16.5%)	1	20	13	
Vp (g)	35.71±16.49	28.84±9.6	34.42±16.5	39.75±16.89	p=0.26
≤25	63	5	42	16	
>25	137	8	83	46	
PSA (ng/ml)	2.24±3.17	1.59±1.39	1.93±1.72	3.00±5.05	p=0.034
Încadrarea de grup					
HBP	181	9	110	62	
Control	19	4	15	0	

Legendă:
IPSS: scorul internațional de simptome prostatice;
PSA: antigen specific prostatic;
HBP: hipertrofie benignă de prostată;
Valorile sunt prezentate ca mediana și deviația standard
Valoare p s-a calculat aplicând testul ANOVA

Rezultatele noastre arată, că PSA-ul prezintă fiziologic valori ușor mai ridicate la vârstnici comparativ cu pacienții mai tineri, fiind mai grave și LUTS (scor IPSS), însă Vp nefiind influențat semnificativ de vârsta pacienților.

3.1.3. Relevanța diagnostică a volumului prostatic la pacienții incluși în studiu

La pacienții incluși în studiu, Vp a fost un indicator important pentru diagnosticul HBP. Distribuția pacienților aparținând unor categorii diferite de scor IPSS în cadrul fiecărei categorii de Vp este prezentată în Tabelul 7.

Tabel 7. Distribuția pacienților înainte de tratament în funcție de Vp și scorul IPSS

Vp	SCOR IPSS			Total pacienți
	Simptome ușoare	Simptome moderate	Simptome severe	
<25cm³	50.00%	36.36%	13.64%	22
25-30 cm³	57.14%	26.79%	16.07%	56
31-50 cm³	37.18%	46.15%	16.67%	78
>50 cm³	12.00%	56.00%	32.00%	25
Total pacienți	75	73	33	181

Legendă. Datele sunt prezentate pentru fiecare categorie de scor IPSS ca procent și valoare absolută pentru numărul de pacienți.

Rezultatele noastre relevă, că pacienții incluși în cele două categorii cu Vp<30cm³, preponderent au prezentat simptome ușoare. Pacienții cu Vp mediu (31-50 cm³) au prezentat majoritatea simptome moderate (46.15%), însă nu există diferențe semnificative între numărul pacienților cu simptome severe, raportat la cele două categorii de Vp<30cm³. Putem observa însă, că procentul pacienților din categoriile de simptome moderate respectiv severe au crescut odată cu creșterea Vp. Dintre pacienții cu Vp>50 cm³ (n=25) doar 12.00% au prezentat simptome ușoare, 56.00% au prezentat simptome moderate, iar 33.00% au fost cu simptome severe.

3.1.4. Conduita terapeutică recomandată pacienților cu HBP

Conduita terapeutică recomandată pacienților se axează pe alegerea metodei potrivite pentru fiecare pacient. Personalizarea tratamentului fiind aspect important în supravegherea evoluției pacienților cu BPH.

În studiul nostru din totalul de 181 de pacienți diagnosticați cu HBP, 47.51% (86 de pacienți) nu au necesitat tratament medicamentos (Figura 7.3).

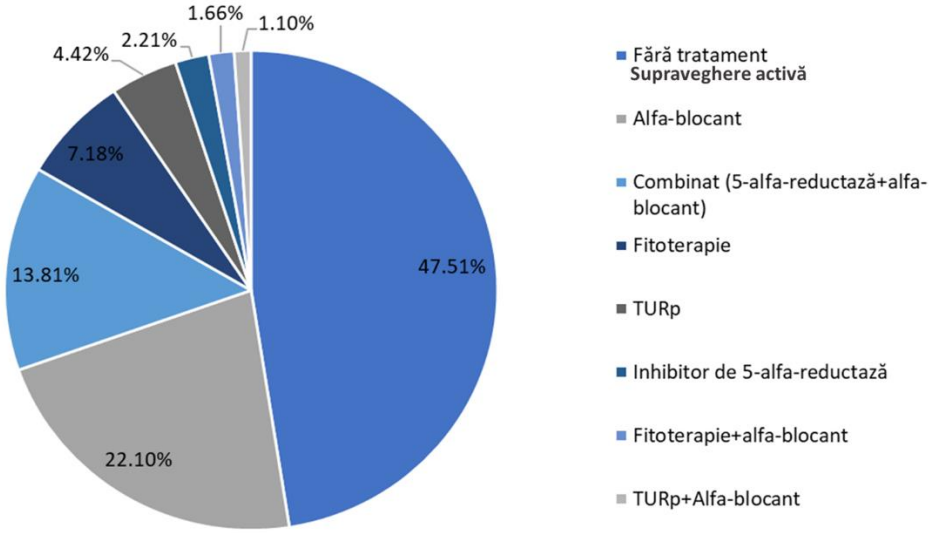

Figura 7.3 Tratamentele recomandate pacienților cu HBP

În concluzie putem spune, că am observat prevalență mai mare a HBP în mediul rural comparativ cu cel urban. Acest aspect se poate datora faptului că pacienții din mediul urban prezintă educație sanitară mai bună și acces mai ușor la serviciile medicale.

În diagnosticul HBP joacă rol important PSA-ul, Vp și scorul IPSS, care este un indicator important în evaluarea indirectă a QoL.

În practica clinică pe lângă evaluările standard recomandăm aplicarea scorului IPSS pentru trierea mai eficientă a pacienților cât și în recomandarea terapiei personalizate.

3.2. Evaluarea aplicabilității clinice a biomarkerilor standard și ADN la pacienții diagnosticați cu HBP

3.2.1. Rolul PSA în diagnosticul HBP

Antigenul specific prostatic este marker biochimic standard utilizat atât în diagnosticul CaP şi HBP cât şi în urmărirea evoluţiei pacienţilor cu afecţiuni prostatice. Încă de la descoperirea PSA-lui s-a demonstrat utilitatea sa în practica clinică, fiind introdus în ghidurile de specialitate ca şi marker obligatoriu de efectuat la toţi bărbaţii de peste 50 de ani, pentru depistarea CaP.

La pacienţii cu HBP, atât PSA cât şi Vp sunt indicatori importanţi în diagnosticul bolii şi în urmărirea eficienţei tratamentului, deoarece se cunoaşte faptul că, inhibitorii de 5-alfa-reductază reduc valoarea PSA şi Vp după şase luni de tratament. Mai jos avem ilustrate valorile PSA-lui pacienţilor incluşi în studiu (T0) în funcţie de grupul de studiu, vârsta pacienţilor şi Vp.

Studiul nostru nu arată variaţii semnificative între valorile PSA în funcţie de vârstă (test Kruskall-Wallis, H = 1,531, p = 0,431), totuşi putem observa creşterea numărului de outlieri şi a intervalului INO concomitent cu înaintarea în vârstă a pacienţilor. Acest aspect ne sugerează, că totuşi există variaţii mici ale PSA-lui în funcţie de vârsta pacienţilor.

Datele legate de distribuţia diferitelor categorii de PSA în funcţie de categoria de Vp, categoria de vârstă şi zona de provenienţă sunt prezentate în Tabelul 11. Pentru acurateţea analizei statistice, s-a optat pentru analiza datelor ca variabile continue (valori absolute) nu ca variabile categoriale.

Tabel 11. Distribuția pacienților cu HBP în funcție de PSA, Vp, vârstă și mediu de proveniență

	PSA normal (< 2,5 ng/mL)		PSA zona gri (2,5 -10 ng/mL)		PSA ridicat (> 10 ng/mL)	
Volum prostatic						
< 25 cm³	86,36%	(19)	13,64%	(3)	0,00%	(0)
25 30 cm³	91,07%	(51)	7,14%	(4)	1,79%	(1)
31-50 cm³	67,95%	(53)	30,77%	(24)	1,28%	(1)
>50 cm³	40,00%	(10)	60,00%	(15)	0,00%	(0)
Vârsta						
< 61 ani	77,78%	(7)	22,22%	(2)	0,00%	(0)
61-70 ani	74,55%	(82)	25,45%	(28)	0,00%	(0)
> 70 ani	70,97%	(44)	25,81%	(16)	3,23%	(2)
Mediu de proveniență						
Rural	72,13%	(88)	27,05%	(33)	0,82%	(1)
Urban	76,27%	(45)	22,04%	(13)	1,69%	(1)

Legendă. Datele sunt prezentate pentru fiecare categorie de PSA ca procent (partea stângă) și valoare absolută (partea dreaptă, în paranteză).

Includerea în această analiză statistică doar a pacienților cu HBP (Figura 10.3,11.3) a relevat existența unor diferențe foarte semnificative între valorile PSA între pacienții aparținând diferitelor categorii de Vp (test Kruskal - Wallis, H = 18,892, $p < 0,001$), dar nu și cele măsurate, când stratificarea a fost realizată pe baza categoriei de vârstă (test Kruskal - Wallis, H = 0,266, $p = 0,875$).

3.2.2. Evaluarea influenței gradului inflamației asupra variațiilor parametrilor clinici și paraclinici urmăriți la pacienții cu HBP

Studiile histopatologice au demonstrat prezența inflamației în țesutul hiperplazic și legătura directă dintre apariția și progresia HBP și infecțiile acute și cronice prostatice.

Din numărul total de pacienți cu HBP incluși în studiu (n=181) doar de la 10 subiecți am obținut probe histopatologice, ei fiind suspuși intervențiilor chirurgicale datorită complicațiilor HBP.

Pacienții operați au fost grupați astfel: 4 pacienți (reprezentând 2,20% din numărul total de cazuri investigate) au prezentat inflamație moderată (clasa 2), în timp ce 6 pacienți (reprezentând 3,32% din numărul total de cazuri investigate) au prezentat inflamație severă (clasa 3). În cadrul prezentului studiu nu au fost observați pacienți cu inflamație ușoară (clasa 1) (Figura 20.3).

Deşi valoarea mediană a Vp a pacienţilor cu HBP a prezentat tendinţa discretă de a creşte odată cu creşterea gradului de inflamaţie, analiza neparametrică a evidenţiat lipsa unor diferenţe semnificative între diferitele categorii de Vp (test Kruskal - Wallis, H = 2,550, p = 0,279; Figura 20.3). Similar cu Vp, nu au fost identificate diferenţe semnificative nici în ceea ce priveşte valoarea PSA-ului când pacienţii au fost stratificaţi pe baza gradului de inflamaţie (test Kruskal - Wallis, H = 2,047, p = 0,359; Figura 21.3).

Analiza *post hoc* a demonstrat creşterea valorii IPSS cu gradul inflamaţiei, diferenţele faţă de pacienţii din grupul martor (fără inflamaţie) fiind foarte semnificative în cazul pacienţilor cu inflamaţie moderată (test Dunn, p = 0.003; Figura 22.3), şi respectiv foarte semnificative în cazul pacienţilor cu inflamaţie severă (test Dunn, p < 0,001; Figura 22.3). Mai mult, analiza corelaţională neparametrică a relevat existenţa unei corelaţii moderate foarte semnificative între aceste două variabile (r_s = 0,377, p < 0,001).

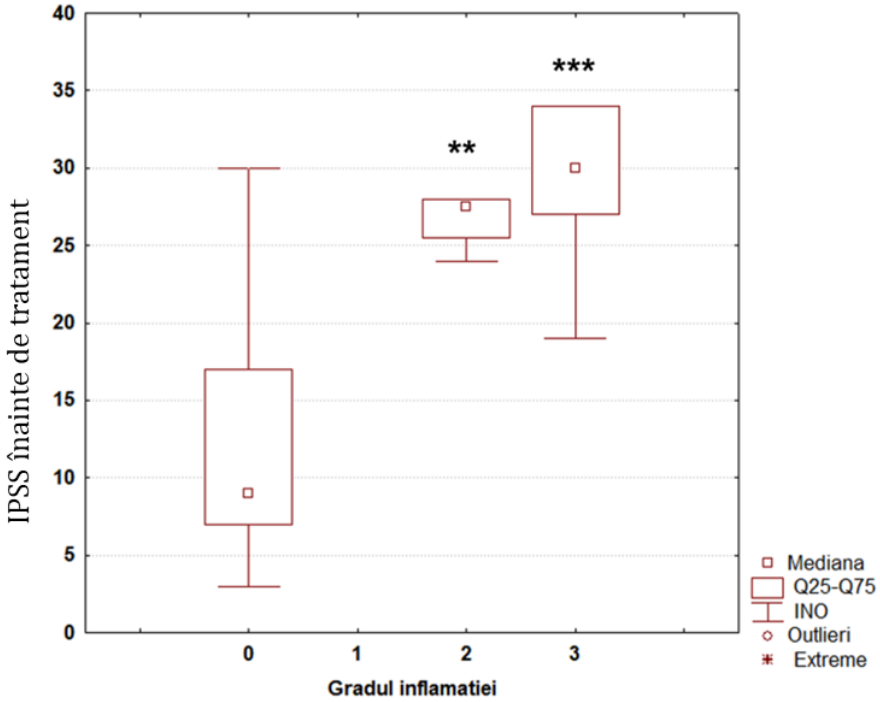

Figura 22.3 Valoarea IPSS înainte de tratament în funcţie de gradul de inflamaţie

Legendă. Q25-Q75, interval intercuartil (abaterea față de valoarea mediană); INO, interval de valori în afara outlierilor (valori în afara intervalului cuprins între valoarea mediană și deviația standard). 0, pacienţi care nu au prezentat inflamaţie; 0, pacienţi care nu au prezentat inflamaţie; 1, pacienţi care au prezentat inflamaţie ușoară; 2, pacienţi care au prezentat inflamaţie moderată; 3, pacienţi care au prezentat inflamaţie severă. Valorile marcate cu (*) indică diferenţe semnificative (p < 0,05), cele cu (**) diferenţe foarte semnificative (p < 0,01) și respectiv cele cu (***) diferenţe foarte semnificative (p ≤ 0,001) comparativ cu grupul martor (pacienţi care nu prezintă inflamaţie).

Rezultatele noastre sunt în concordanță cu datele din literatură, unde de asemenea se punctează legătura directă între scorul IPSS și severitatea inflamației.

3.2.3. Dinamica modificărilor biomarkerilor epigenetici 5mC și 5hmC la diagnostic

Studiile au demonstrat, că inflamaţia cronică induce modificări epigenetice, care determină creșterea în volum al prostatei atât în HBP cât și în CaP.

Rolul metilării și hidroximetilării ADN-lui nu este bine definit în patogeneza HBP. Cele mai multe studii raportează nivele crescute de metilare la pacienții cu CaP. Hidroximetilarea citozinei (5hmC) este marker relativ nou și foarte puține studii au explorat rolul acestuia. Cele mai multe date vin din studiile efectuate în CaP din probe de țesut, fluidele biologice (sânge și urină) fiind recent considerate spre analiză.

Nu se cunoaște încă dinamica acestor biomarkeri în instalarea bolilor prostatei și în evoluţia lor. Relevanţa clinică a unor astfel de studii este semnificativă având în vedere că 5mC și 5hmC sunt markeri ADN epigenetici reversibili. Astfel ni s-a părut interesant să urmărim dinamica evoluţiei acestor biomarkeri la pacienții cu HBP și grupul control.

3.2.3.1. Dinamica modificărilor biomarkerilor epigenetici

Studiile actuale pun accent pe modificările epigenetice în apariţia bolilor, iar variațiile 5mC și 5hmC sunt aduse în prim plan, fiind implicate direct în transcripţia ADN și reînnoirea celulelor.

Evaluarea în dinamică a modificărilor 5mc și 5hmC în patologia prostatică ar putea aduce date noi privind statusul bolii la momentul diagnosticului dar și în stabilirea prognosticului pe parcursul tratamentului.

Cercetările noastre indică, că pacienții din grupul HBP prezintă valori mai ridicate ale 5mC și 5hmC, comparativ cu grupul control (Figura 23.3, Figura 24.3).

În grupul HBP studiul nostru a evidenţiat valoarea mediană a 5hmC de 0.101±0.09, iar pentru 5mC valoarea mediană a fost 3.62±4.62. Valorile nete ale 5hmC au variat între 0.03 și 0.427, iar ale 5mC între 0 și 21.285.

În grupul control valoarea mediană a 5hmC a fost 0.05±0.83, iar pentru 5mC valoarea mediană a fost 1.19±0.81. Valorile nete pentru 5hmC au variat între 0.02 și 0.204, iar pentru 5mC între 0 și 2.288.

3.2.3.2. Relevanța clinică a PSA-lui în asociere cu 5mC și 5hmC

PSA-ul fiind încă markerul standard pentru screeningul CaP și în studiul nostru este un factor important în evaluarea pacienților.

Cercetările noastre arată, că nivelul mediu de metilare (5mC) în grupul HBP se menține la valori similare indiferent de valoarea PSA-lui. Acest lucru ne sugerează, că 5mC este biomarker independent de PSA în evaluarea pacienților cu HBP.

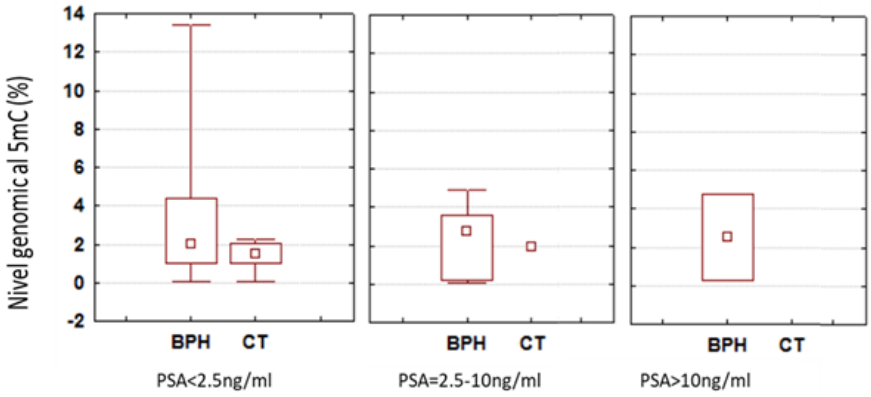

Figura 25.3. Nivelul total de 5mC din ADN leucocitar (%) pe categorii de PSA

Similar cu variațiile 5mC am analizat și valorile 5hmC pe categorii de PSA. Se poate observa, că pacienții din grupul HBP pe fiecare categorie de PSA prezintă nivel de hidroximetilare ușor mai ridicat față de grupul control, fiind și variațiile valorilor mai largi în grupul HBP (Figura 26.3).

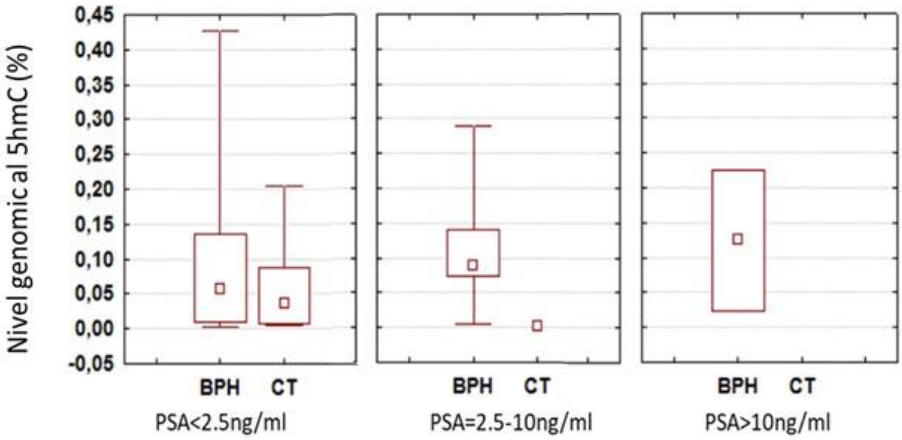

Figura 26.3. Nivelul total de 5hmC din ADN leucocitar (%) pe categorii de PSA

Am reuşit să detectăm valori măsurabile ale 5hmC din fluide, care tind să se coreleze cu valoarea PSA-lui. Putem observa, dacă utilizăm valoarea *cut off* al PSA de 2.5ng/mL, că nivelul 5hmC ajută la trierea pacienților în grupele de studii. Astfel cu creşterea PSA-lui, creşte şi nivelul de 5hmC.

Aceste date ar putea constitui punct de plecare pentru cercetări viitoare, care să aducă mai multe date privind asocierea pozitivă şi valoarea clinică semnificativă a 5hmC în concordanță cu PSA la momentul diagnosticului HBP.

3.2.3.3. Analiza influenței vârstei asupra valorilor 5mC şi 5hmC

Studiile arată, că în celulele normale insulele CpG sunt metilate în procent de 4%, în timp ce dinucleotidele CpG sunt observate sporadic în genom sub formă metilată. Cu înaintarea în vârstă are loc inversarea treptată a profilului de metilare, care conduce la metilarea insulelor CpG şi la scăderea globală a nivelului de metilare. Acest lucru înseamnă, că la vârstnici apare hipometilare globală cu hipermetilare locală.

Studiul nostru indică, reducerea valorilor mediane ale **5mC** cu îmbătrânirea (Figura 27.3).

În analiza variațiilor **5hmC**, putem observa, că pacienții mai în vârstă, diagnosticați cu HBP au prezentat valori mai mari, comparativ cu grupul control. Putem observa că subiecții vârstnici au prezentat dispersie mai crescută a valorilor 5hmC, față de grupul de vârstă <60 de ani (Figura 28.3).

3.2.3.4. Dinamica markerilor epigenetici 5mC/5hmC asociată factorilor de risc cunoscuți în hipertrofia benignă de prostată

Studiul nostru cuprinde grupul control, care a fost constituit din pacienți aparent clinic sănătoşi, cu alimentație echilibrată, care efectuează mişcare zilnic, fiind normoponderali şi grupul HBP, în cadrul căruia am analizat variațiile 5mC şi 5hmC în funcție de cele mai frecvente comorbidități şi factori de risc întâlniți la aceşti pacienți, astfel: boli cardiovascular, diabet zaharat tip 2, obezitate sau fumatul şi consumul de alcool (Tabel 12).

Tabel 12 Variația globală a 5mC și 5hmC la grupul cu HBP în funcție de factori de risc asociați

Factori următiți	5mC	5hmC	Număr pacienți
Grup HBP	**3.62±4.62**	**0.101±0.09**	**181**
Grup control	**1.19±0.81**	**0.05±0.067**	**19**
Co-morbidităţile pacienţilor cu HBP			
Boli cardiovasculare	2.128±2.329	0.231±0.142	79
Diabet zaharat tip 2	3.456±3.627	0.202±0.172	24
Indice de masă corporală (BMI) pacienţi cu HBP			
BMI<18.5	3.654±2.098	0.073±0.075	14
BMI=18.5-24.9	2.003±1.012	0.101±0.098	105
BMI=25-29.9	2.010±1.078	0.099±0.097	40
BMI>30	3.547±3.219	0.112±0.100	22
Consumul de toxice			
Fumători	3.245±2.786	0.092±0.056	45
Consum de alcool	2.567±0.723	0.072±0.067	23

Legendă
Valorile sunt prezentate ca valori medii cu deviaţie standard, sau valori absolute (număr pacienţi)

Rezultatele noastre arată, că pacienţii din grupurile de studiu diagnosticaţi cu DZ tip 2, obezitate cu BMI>30 şi fumătorii au prezentat valori semnificativ mai mari ale 5mC comparativ cu celelalte categorii. Acest aspect subliniază ipoteza, că sindromul metabolic, obezitatea şi fumatul cresc gradul de metilare globală în organism determinând dezechilibre majore în homeostazia mediului intern. Dacă ne raportăm la grupul restrâns de HBP, din care am exclus pacienţii cunoscuţi cu factorii de risc incluşi în Tabelul 12, putem observa, că şi cei din categoria de boli cardio-vasculare au prezentat valori mai crescute faţă de pacienţii cu HBP, fără alte comorbidităţi semnificative.

Pentru analiza datelor am folosit testul ANOVA, care arată diferenţe foarte semnificative statistic între grupele de studiu cu DZ tip 2 şi obezitate comparativ cu grupul control în variaţiile nivelurilor 5mC şi pentru 5hmC (p=0.00076 respectiv p=0.003).

În concluzie putem spune, că deși PSA rămâne marker important în urmărirea pacienților cu HBP, pentru valoarea inițială de cut off de 4 ng/ml a prezentat senzitivitate de 86% și specificitate de numai 33%, motiv pentru care s-a reconsiderat valoarea maximă normală a PSA. Conform ghidului european de urologie valoarea cut off al PSA este de 2.5 ng/ml.

Scorul IPSS este indicator fidel în evaluarea QoL pacienților la momentul diagnosticului HBP. De asemenea este marker al gradului de inflamație la nivelul țesutului prostatic.

Nivelul 5mC măsurat la pacienții din studiu la momentul diagnosticului se prezintă independent de valorile PSA-lui, însă am observat descreșterea lui odată cu înaintarea în vârstă.

Nivelul 5hmC s-a dovedit a fi marker mai fidel față de 5mC, utilizând valoarea *cut off* al PSA de 2.5ng/mL, nivelul 5hmC a ajutat la trierea pacienților în grupele de studii. Odată cu creșterea valorii PSA-lui, am observat și creșterea nivelului de 5hmC. În analiza valorilor 5hmC în comparație cu vârsta pacienților nu am observat diferențe semnificative între grupuri.

3.3 Dinamica modificărilor biomarkerilor standard și ADN în evoluția pacienților cu HBP aflați sub tratament

Actual PSA este cel mai accesibil indicator atât în supravegherea evoluției HBP cât și în diagnosticul precoce al CaP. Totuși prezintă anumite dezavantaje, care influențează orientarea diagnosticului. De aceea considerăm, că este necesară introducerea de noi biomarkeri în asociere cu PSA-ul în vederea îmbunătățirii ratei de diagnostic în stadiu incipient al bolilor prostatice. Pe lângă PSA, alt indicator important în evoluția HBP este Vp. Asemănător PSA-lui și Vp prostatic este influențat semnificativ doar de administrarea inhibitorilor de 5-alfa reductază, în sensul reducerii sale.

Din cauza timpului scăzut alocat consultațiilor, completarea chestionarului IPSS de către pacienți a pierdut din ce în ce mai mult teren, cu toate că este indicator important indirect al QoL pacienților. Considerăm, că este importantă reactivarea scorului IPSS în practica clinică, deoarece în concordanță cu anamneza detaliată și examen clinic și paraclinic complet ne poate oferi date și despre posibila etiologie extraprostatică a simptomelor resimțite de pacient.

3.3.1. Analiza influenței tratamentului asupra scorului IPSS

Analiza *post hoc* a indicat scăderea semnificativ mai mare a IPSS în cadrul pacienților cu HBP pe medicație comparativ cu cei care nu au primit nici o medicație (test HSD pentru mostre inegale, pentru toate tratamentele $p < 0,05$).

Pacienții aflați în supraveghere activă au prezentat evoluție relativ constantă, fără modificări semnificative între scorurile IPSS obținute la fiecare timp de urmărire (T0, T1, T2) (Figura 30.3). Putem observa de asemenea, că pacienții tratați prin TURp simplu sau în combinație la timpul T1 au prezentat încă valori mai mari ale scorului IPSS, comparativ cu celelalte grupe de studiu, respectiv și variații mai largi ale scorului IPSS. Pacienții au indicat simptomele iritative ca fiind cele mai grave resimțite. Aceste simptome s-au ameliorat sub tratament adjuvant cu antibiotice și antiinflamatorii, ca să observăm la timpul T2 îmbunătățirea semnificativă a QoL și în aceste categorii de studiu.

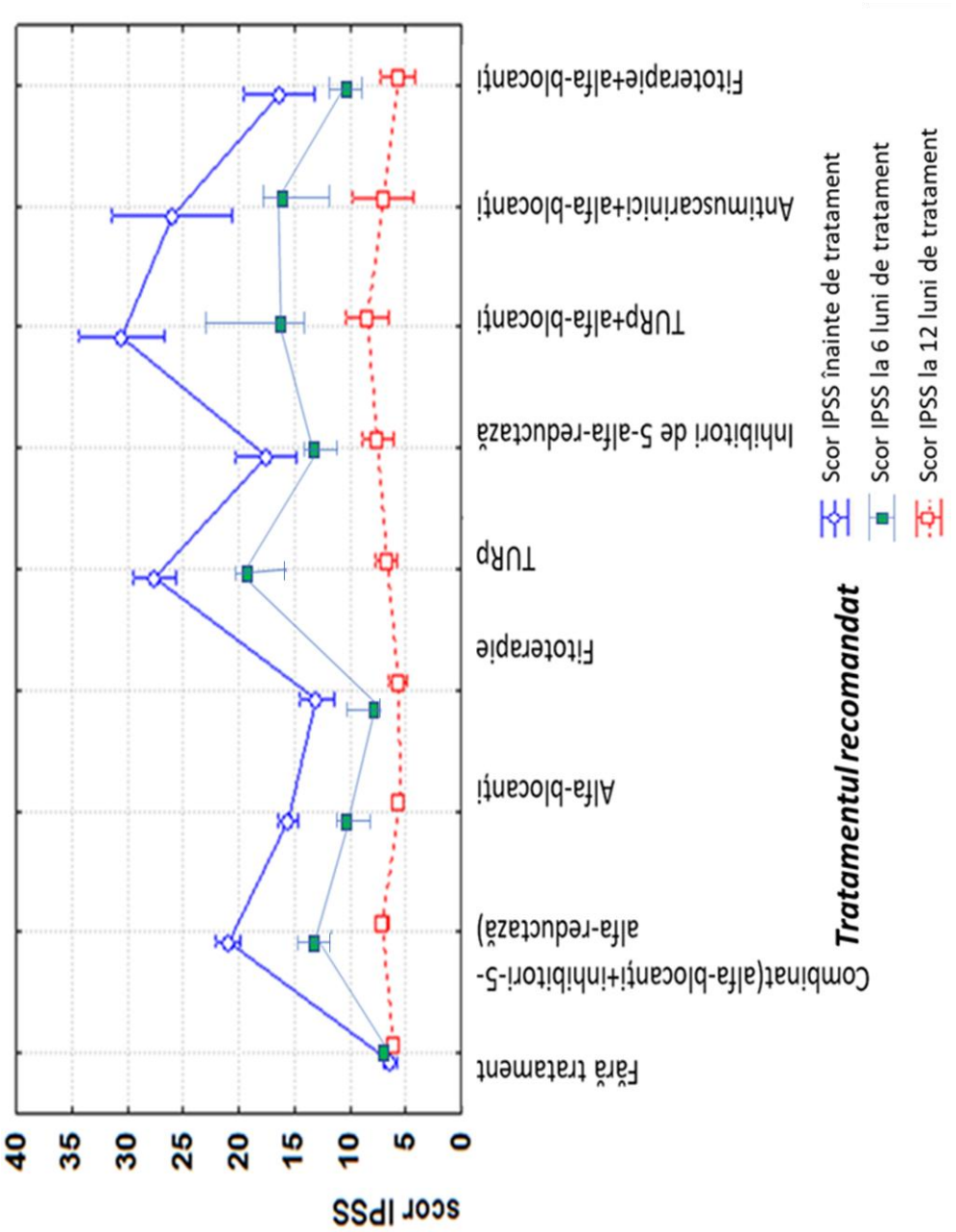

Figura 30.3 Dinamica temporală a scorului IPSS în funcție de tratament

Legendă: Datele sunt prezentate ca medie cu interval de confidenţă de 95% (bări de eroare).

3.3.2. Dinamica biomarkerilor ADN, 5mC și 5hmC, în evoluția pacienților cu HBP aflați sub tratament

Studiul nostru a avut ca scop analiza influenței tratamentului specific instituit pacienților cu HBP asupra valorilor 5mC și 5hmC. La 6 și 12 luni după inițierea tratamentului au fost recoltate din nou probele biologice (sânge) pentru evaluarea 5mC și 5hmC.

Rezultatele noastre indică, că pacienții atât în grupul control cât și cei din grupul HBP au prezentat valori mai reduse ale **metilării** și variații mai puțin largi la fiecare timp de urmărire (Figura 43.3).

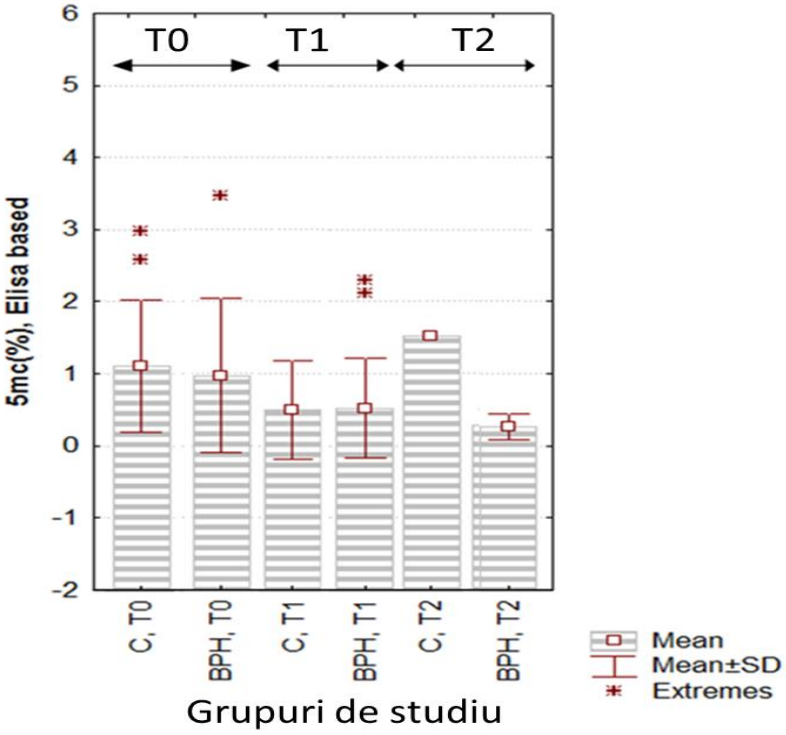

Figura 43.3 Variațiile nivelului 5mC pe timpi de urmărire și grupe de studiu. Valorile sunt prezentate ca și procente.

Legendă:
T0 – diagnostic (fără tratament administrat)
T1 – 6 luni după tratament
T2 – 12 luni după tratament

În timpul T2 am găsit variații similare între grupurile analizate (*Levene* test, p = 0.526, F = 0.714). Analiza statistică arată o tendință evidentă de descreștere a **5mC** la pacienții cu HBP comparativ cu grupul control (*Duncan test*, BHP patients: p = 0.078) (Figura 44.3).

Pe lângă variațiile 5mC, studiul nostru a urmărit și modificările **5hmC** la pacienții înrolați (Figura 43.3).

Rezultatele noastre arată, că nivelul **5hmC** (%) la pacienții cu HBP au crescut de la T0 la T1 și depășesc valorile măsurate în grupul control, iar raporturile rămân constante și la timpul T2 de urmărire.

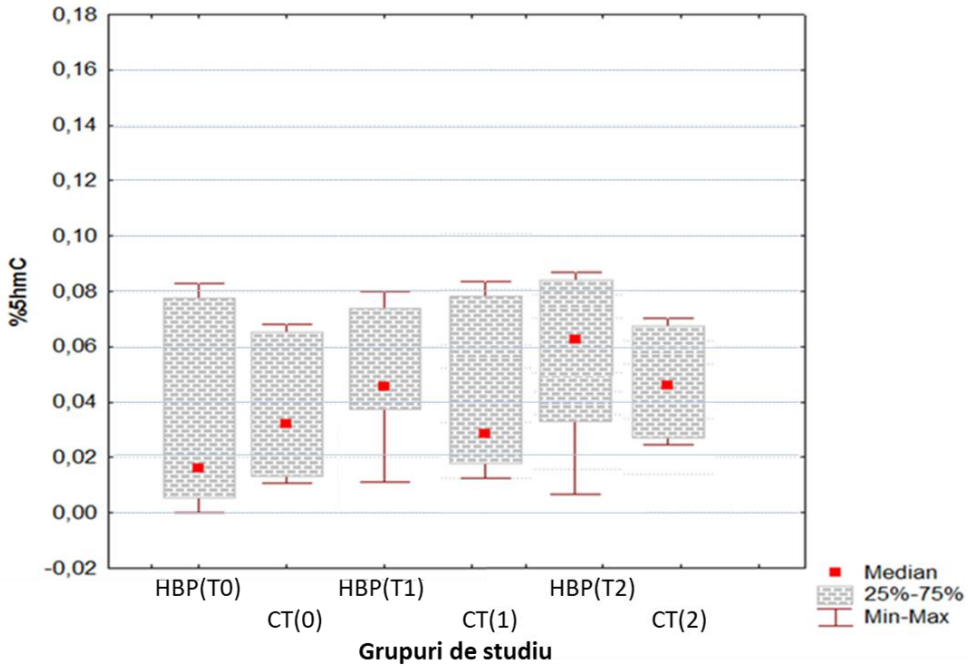

Figura 43.3 Variațiile nivelului 5hmC pe timpi de urmărire și grupe de studiu. Valorile sunt prezentate ca și procente.

Legendă:
T0 – diagnostic (fără tratament administrat)
T1 – 6 luni după tratament
T2 – 12 luni după tratament

La T0 analiza statistică arată procente similare ale **5hmC** în grupurile investigate (Kruskal-Wallis test, p = 0.983, H = 0.160). Totuși s-au observat diferențe statistice semnificative între grupe în T1 (Kruskal-Wallis test, p = 0.016, H = 8.208).

În concluzie putem puncta că urmărirea periodică riguroasă a pacienţilor cu HBP este esenţială în supravegherea evoluţiei bolii atât la cei din grupa de supraveghere activă, fără tratament medicamentos, cât și la cei din grupele de diverse tratamente farmaceutice.

Tratamentul medicamentos specific HBP corect iniţiat și administrat conform recomandărilor asigură evoluția pozitivă a pacienţilor. Doar cei necomplianţi sau cu simptomatologie iresponsivă la tratament au necesitat intervenţie chirurgicală (5.52% din totalul pacienţilor cu HBP).

Scorul IPSS este indicator fidel al eficienţei tratamentului și evoluţiei pacienţilor cu HBP. Scăderea treptată a scorului IPSS de la timpul T0 la T1 apoi la T2 indică creșterea QoL al pacienţilor sub tratamentul recomandat.

Biomarkerii ADN, respectiv 5mC și 5hmC s-au dovedit a fi indicatori importanţi în evoluția HBP. Valorile globale ale 5mC la pacienţii cu HBP au scăzut în timpii de urmărire atât față de pacienţii din grupul control, cât și în comparaţie cu valorile de la înrolarea în studiu. Tratamentul pe bază de inhibitori de 5-alfa-reductază a fost cel mai eficient în reducerea valorilor 5mC, urmat de TURp, cel mai probabil datorită reducerii Vp și prin desfiinţarea focarelor de inflamaţie.

În evoluţie valorile globale ale 5hmC au crescut la pacienţii din grupul HBP comparativ atât cu valorile de la includerea în studiu, cât și cu nivelul măsurat la martori, însă nu îl putem considera marker cu aplicabilitate clinică, deoarece se găsește foarte puţin la nivelul genomului și prin metoda ELISA e greu de identificat.

CAPITOLUL IV: DISCUȚII

Rezultatele noastre arată, că pacienții din grupul HBP prezintă valori mai ridicate ale 5mC, comparativ cu grupul control (Figura 23.3, Figura 24.3).

Datele din literatură arată scădere globală a valorilor 5mC cu înaintarea în vârstă.

Despre valorile 5hmC în funcție de vârstă încă nu sunt date suficiente, fiind un marker biologic nou, în curs de cercetare. Studiul nostru arată, că pacienții mai în vârstă, diagnosticați cu HBP au prezentat valori mai mari, comparativ cu grupul control. Putem observa că subiecții vârstnici au prezentat dispersie mai crescută a valorilor 5hmC, față de grupul de vârstă <60 de ani (Figura 28.3).

Studiile actuale subliniază importanța cunoașterii substraturilor genetice ale bolilor și riscul determinat de modificările moleculare pentru anumite afecțiuni. Studiul nostru arată, că pacienții din grupele de studiu diagnosticați și cu DZ tip 2 și obezitate cu BMI>30 au prezentat valori semnificativ mai mari ale 5mC comparativ cu celelalte categorii, pe când valorile de 5hmC au rămas relativ egale (Tabel 12).

Studiul nostru arată, că inhibitorii de 5-alfa-reductază intervin în scăderea metilării globale, însă cercetări ulterioare sunt necesare pentru elucidarea mecanismului de acțiune (Figura 32.3, Figura 34.3).

La pacienții tratați prin inhibitori de 5-alfa reductază, scăderea valorilor 5hmC concomitent cu valorile 5mC se poate explica prin faptul că, 5hmC este un metabolit al demetilării 5mC (Figura 38.3, Figura 40.3).

Tratamentul fitoterapeutic și-a demonstrat eficacitatea în reducerea gradului metilării și creșterea demetilării la pacienții incluși în acest grup de studiu (Figura 35.3, Figura 41.4).

Studiul nostru oferă date asupra hidroximetilării globale la pacienții cu HBP prin analiza ADN-lui leucocitar. Am observat, că la pacienții cu HBP conținutul genomic de 5hmC în ADN leucocitar este mai mare comparativ cu grupul control. În studiul mai larg asupra hidroximetilării am observat, că stadiul de diferențiere celulară este direct asociată cu nivelul de hidroximetilare globală, relevanța clinică a 5hmC fiind în aprecierea funcționării fiziologice a prostatei. Variațiile mari ale 5hmC din ADN leucocitar din sângele periferic pot indica funcția prostatică perturbată, acești pacienți având risc mai mare pentru a fi diagnosticați cu HBP [123].

Cercetări actuale asupra modificărilor biomarkerilor epigenetici la pacienții cu sindrom metabolic arată, că cei cu DZ tip 2 prezintă valori ale 5mC de 3-4 ori mai mari față de pacienții sănătoși, dar se observă și creșterea valorilor 5hmC în grupul cu DZ tip 2. Legătura dintre DZ tip 2 și HBP nu este încă elucidată, dar se consideră mecanism patogenic comun

mediat prin factorul de creştere insulin-like (IGF) [124, 125]. Hipertensiunea arterială esenţială se pare că are şi ea factor patogenic comun cu HBP neelucidat încă. Studiile arată, că severitatea simptomelor la pacienţii cu HBP, măsurat prin scorul IPSS creşte odată cu riscul cardio-vascular [126].

Studiile actuale au demonstrat, că alcoolul consumat zilnic în cantităţi de peste 80g/zi/20-30 de ani determină alterarea mecanismelor epigenetice la nivel cerebral ducând la deficienţa neurotransmiţătorilor inhibitori şi excitatori, cum ar fi: inhibarea genelor asociate cu neurotransmiţători GABAergici şi glutamatergici. În ceea ce priveşte dezvoltarea HBP studiile arată, că alcoolul are rol protector prin diminuarea nivelului de testosteron liber din sânge. Totuşi consumul de alcool determină şi creşterea acetaldehidei în circulaţie, iar aldehida apare crescută la pacienţii cu HBP [127].

Rezultatele despre efectele fumatului sunt la fel de contradictorii, ca şi datele despre consumul de alcool. Unele studii subliniază potenţialul protector al fumatului asupra dezvoltării HBP, alte studii au demonstrat, că fumatul determină creşterea testosteronului seric şi al DHT intraprostatic, astfel favorizând patogeneza HBP. De asemenea fumatul acţionează asupra vaselor sanguine intraprostatice, determinând tulburări circulatorii favorizând astfel dezvoltarea HBP [128].

Studiile anterioare au arătat că obezitatea este asociată pozitiv cu creşterea Vp. Majoritatea cercetărilor au demonstrat că obezitatea creşte riscul de HBP simptomatic diagnosticat cu ajutorul chestionarului IPSS. De asemenea, majoritatea studiilor au arătat că activitatea fizică scade semnificativ riscul hiperplaziei benigne de prostată [129].

CONCLUZII

1. Studiul nostru realizează actualizarea datelor clinice, paraclinice și epigenetice în ceea ce privește HBP și readuce în discuție importanța completării scorului IPSS, care cu toate că este recomandat de ghiduri, de cele mai multe ori este neglijat din cauza timpului scurt de consultații.
2. Studiul nostru prospectiv evaluează pacienții cu HBP cu ajutorul biomarkerilor epigenetici ADN (5mC și 5hmC), unde 5mC este indicatorul de metilare globală, iar 5hmC de demetilare globală. Cu toate că acești markeri nu sunt specifici pentru HBP, ei sunt indicatori ai stării de sănătate globală a organismului și variațiile lor pot influența apariția bolilor metacron sau sincron (prima oară se îmbolnăvește organismul și după aceea conform zestrei genetice personalizate apar bolile de organ).
3. Prin cercetarea noastră am căutat metode moderne de screening pentru diagnosticul HBP, complementare celor existente, care urmăresc modificările în dinamică a biomarkerilor epigenetici ADN, respectiv 5mC și 5hmC.
4. Biomarkerii epigenetici, 5mC și 5hmC, și-au dovedit utilitatea în studiul prospectiv, atât în diagnosticul HBP, cât și în urmărirea eficienței tratamentului și ne-au ajutat la trierea mai corectă a pacienților.
5. Utilizarea analizei metilării și hidroximetilării globale prin metode ELISA poate constitui o investigație biochimică neinvazivă, ce să vină în sprijinul clinicianului în evaluarea pacienților cu HBP.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Alan J Wein, Louis R. Kavoussi, Alan W. Partin, Craig A. Peters: Campbell-Walsh Urology, 11th Edition, Volume 3, Ed. Elsevier, Philadelphia, 2016, pg 2393-2542
2. Nickel JC. Inflammation and benign prostatic hyperplasia. Urol Clin North Am. 2008;35:109–115.
3. Nickel JC, Roehrborn CG, O'Leary MP, Bostwick DG, Somerville MC, Rittmaster RS. The relationship between prostate inflammation and lower urinary tract symptoms: examination of baseline data from the REDUCE trial. Eur Urol. 2008;54(6):1379–84.
4. Sciarra A, Mariotti G, Salciccia S, Autran GA, Monti S, Toscano V, Di SF. Prostate growth and inflammation. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008;108(3–5):254–60.
5. Aydin A, Arsova-Sarafinovska Z, Sayal A, Eken A, Erdem O, Erten K, Ozgok Y, Dimovski A. Oxidative stress and antioxidant status in non-metastatic prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. Clin Biochem. 2006;39(2): 176–9.
6. Sinescu I, Gluck G: Tratat de urologie, Ed. Medicala, București, 2008, pag 2283-2344
7. Ioiart I. Valoarea PSA-lui în depistarea și terapia cancerului de prostată, Prostata vol I, anul I, nr 2, 2001.
8. Xu, Y., Wu, F., Tan, L., Kong, L., Xiong, L., Deng, J., Barbera, A.J., Zheng, L., Zhang, H., Huang, S., et al. (2011). Genome-wide regulation of 5hmC, 5mC, and gene expression by Tet1 hydroxylase in mouse embryonic stem cells. Mol. Cell 42, 451-464.
9. Branco, M.R., Ficz, G., and Reik, W. (2011). Uncovering the role of 5-hydroxymethylcytosine in the epigenome. Nat. Rev. Genet. 13, 7-13.
10. Naslund, M.J., et al. A review of the clinical efficacy and safety of 5alpha-reductase inhibitors for the enlarged prostate. Clin Ther, 2007. 29: 17.
11. V. D. Stanca, A. Boc, P. Prunduș, S. Bonaț, R. Maxim, Alexandra Andreea Poienar, I. Coman Treatment of nocturia in men with lower urinary tract symptoms (LUTS) - initial results Rev Rom Urol Book of Abstract nr. 2 / 2012 vol 11: 19
12. Lee, H.N., et al. Rate and associated factors of solifenacin add-on after tamsulosin monotherapy in men with voiding and storage lower urinary tract symptoms. International Journal of Clinical Practice, 2015. 69: 444.
13. E. Alexandrescu, D. Georgescu, B. Geavlete, P. Geavlete Inflammatory lesions associated with BPH impact on post TURP symptoms, Rev Rom Urol, nr. 4/vol 12:19-24(2013)
14. Parsons JK, Sarma AV, McVary K, Wei JT Obesity and benign prostatic hyperplasia: clinical connections, emerging etiological paradigms and future directions. J Urol. 2013 Jan; 189(1 Suppl):S102-6.
15. Greluș A., Nica V.D., Miklos I., Belengeanu V., Ioiart I., Popescu C. Clinical significance of white blood cell DNA in prostate cancer: Comparison to PSA in a pilot exploratory study; Int J Mol Sci 2017 Nov 18(11): 2465; doi:103390/ijms18112465

Număr total de referințe bibliografice: 129