

## Hubungan antara Ekspresi Vimentin dan Derajat Histopatologi Adenokarsinoma Prostat

**Desi Aliefia, R. Zuryati Nizar, Aswiyanti Asri**

*Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas Padang*

### ABSTRAK

#### Latar belakang

Kanker prostat di Indonesia menempati urutan ke-5 sedangkan di Padang merupakan kanker tersering pada laki-laki. Kanker prostat menempati urutan ke-6 penyebab kematian karena kanker di seluruh dunia, namun faktor prognostik dan prediktif perilaku biologis kanker ini masih belum jelas. *Epithelial to mesenchymal transition* (EMT) adalah proses biologis yang berperan dalam invasi dan metastasis sel kanker. *Gleason score system* adalah bukti morfologi EMT. EMT juga mengekspresikan vimentin, di mana overekspresi vimentin berkaitan dengan peningkatan pertumbuhan tumor, invasi dan prognosis yang buruk. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan hubungan antara ekspresi vimentin dan derajat histopatologi adeno-karsinoma prostat.

#### Metode

Disain penelitian ini adalah observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel penelitian sebanyak 38 blok parafin dari penderita adenokarsinoma prostat pasca TURP dan *prostatectomy* yang diperiksa dengan pulasan imunohistokimia menggunakan antibodi monoklonal vimentin dengan metode *labelle Streptavidin Biotin*.

#### Hasil

Distribusi adenokarsinoma prostat berdasarkan derajat histopatologi menunjukkan *well differentiated* sebanyak 7 kasus (18%), *moderately differentiated* sebanyak 9 kasus (24%) dan *poorly differentiated* sebanyak 22 kasus (58%). *Poorly differentiated* menunjukkan ekspresi vimentin skor +3 tertinggi sebanyak 11 kasus (91,7%). Penelitian ini menunjukkan semakin tinggi skor ekspresi vimentin semakin buruk derajat histopatologi. Analisa statistik dengan uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya hubungan bermakna antara ekspresi vimentin dan derajat histopatologi adenokarsinoma prostat ( $p=0,014$ ).

#### Kesimpulan

Semakin tinggi ekspresi vimentin semakin tinggi derajat histopatologi. Semakin buruk derajat histopatologi (*poorly differentiated*), semakin tinggi ekspresi vimentin (skor 3). Ekspresi vimentin dapat digunakan untuk menentukan derajat histopatologi.

**Kata kunci:** adenokarsinoma prostat, derajat histopatologi, EMT, vimentin.

### ABSTRACT

#### Background

Prostate cancer is the fifth of most frequent cancer in Indonesia, in Padang this is the most frequent male cancer. Prostate cancer is the sixth most frequent cause of death in the whole world, unfortunately prognostic factors and predictive behavior of this cancer is not well known until now. Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) is a biological process involving cancer cells metastasis and invasion. Gleason score system is an evidence of morphological EMT. EMT also expresses vimentin, where overexpression of vimentin has linked to tumor cells proliferation, invasion, and poor prognosis. This study aimed to determine the relationship between vimentin expression and histopathological grading prostate adenocarcinoma.

#### Methods

This is an analytical observational study with cross sectional approach. Observational sample consist of 38 paraffin blocks from adenocarcinomatous prostate tissue post TURP and prostatectomy which were examined immunohistochemical staining using a monoclonal antibody to vimentin labelle Streptavidin Biotin method.

#### Results

Histopathological grading of prostate adenocarcinoma showed 7 cases (18%) well differentiated, 9 cases (24%) moderately differentiated and 22 cases (58%) poorly differentiated. While, expression vimentin showed 5 cases (55,6%) score 1, 8 cases (50%) score 2, 11 cases (91,7%) score 3. Statistic analyses showed significant correlation.

#### Conclusion

The higher expressions of vimentin, the higher degree of histopathological grading. Poorly differentiated type had the highest score +3 of vimentin expression. Vimentin expression could be used determined histopathological grading.

**Key words :** EMT, histopathological grading, prostate adenocarcinoma, vimentin.

## PENDAHULUAN

Kanker prostat merupakan penyebab kematian keenam pada laki-laki di seluruh dunia dengan perkiraan 899.000 kasus baru dengan 258.000 kematian pada tahun 2008.<sup>1</sup> Bentuk keganasan prostat yang tersering adalah adenokarsinoma prostat (sekitar 95%) dan bentuk lain yang jarang adalah: sarkoma, karsinoma sel transisional, limfoma dan leukemia. Oleh karena itu bila kita membicarakan kanker prostat berkonotasi sebagai adenokarsinoma prostat.<sup>2,3</sup>

Kanker prostat di Indonesia menempati urutan ke-5, menurut data Globocan tahun 2008.<sup>2</sup> Menurut data *Indonesian Society of Urologic Oncology* (ISUO) 2011 selama periode 2006-2010 terdapat 971 penderita kanker prostat.<sup>2</sup> Berdasarkan data histopatologi kanker di Indonesia tahun 2009, kanker prostat di Padang menempati urutan pertama tumor tersering pada pria sebanyak 85 kasus.<sup>4</sup>

Diperkirakan dari semua kasus baru di USA pada stadium lokal dengan 5 tahun kelangsungan hidup relatif sebesar 91%.<sup>5</sup> Pasien dengan tumor berdiferensiasi buruk/*poorly differentiated* memiliki kelangsungan hidup spesifik kanker 10 tahun sebesar 34%, sedangkan *well differentiated* dan *moderately differentiated* sama baiknya sebesar 87%.<sup>6</sup> Meskipun kelangsungan hidup pasien kanker prostat telah meningkat dari waktu ke waktu, sedikit yang diketahui tentang faktor-faktor prognostik yang utama.<sup>7</sup> Derajat histopatologis merupakan faktor yang sangat penting bagi penilaian prognosis. Meskipun tidak sempurna, faktor prognosis sistem derajat Gleason masih paling disukai, dan sangat signifikan terkait dengan perkembangan dan/atau kelangsungan hidup.<sup>8</sup> *Gleason score system* merupakan faktor prognostik yang kuat pada kanker prostat.<sup>9</sup> Di samping itu paling umum digunakan sebagai sistem penilaian histologi pada kanker prostat dan berkorelasi dengan perkembangan tumor.<sup>10</sup>

Sistem penilaian ini sepenuhnya didasarkan pada pola histologis susunan sel-sel kanker dengan pewarnaan hematoxililin eosin (HE). Penilaian *Gleason score system* didasarkan sepenuhnya pada pola pertumbuhan arsitektur karsinoma prostat.<sup>11</sup>

*Gleason score system* dapat dilihat sebagai bukti morfologi *Epithelial to Mesenchymal Transition* (EMT). *Epithelial to Mesenchymal Transition* adalah proses biologis yang memungkinkan sel epitel mengalami beberapa

perubahan biokimia untuk memperoleh fenotipe mesenkimal, meningkatkan kapasitas migrasi, invasi, resistensi terhadap apoptosis, dan peningkatan produksi komponen matriks ekstraseluler.<sup>10</sup>

Dua jalur interaktif yaitu jalur eferen dan aferen diusulkan oleh De Weyer dan Marrel pada tahun 2003 tentang *crossstalk* antara sel-sel kanker dan jaringan stroma. Di jalur eferen, sel-sel kanker memicu respon reaktif dalam stroma dengan melepaskan faktor larut seperti TGF- $\beta$  dan *platelet-derived growth factor* (PDGF). Faktor-faktor ini dapat langsung atau tidak langsung melakukan transdiferensiasi fibroblast ke myofibroblasts atau menyebabkan EMT di sekitar *cancer-associated stroma* atau stroma reaktif sehingga mengakibatkan sel-sel menunjukkan peningkatan ekspresi vimentin, dan tanpa perubahan *smooth muscle  $\alpha$ -aktin* dan penurunan ekspresi *calponin*, yang bersama-sama merupakan karakteristik fenotip miofibroblas.<sup>12</sup>

Suatu penanda EMT adalah vimentin filamen menengah, yang dinyatakan termasuk fibroblas, sel-sel endotel, sel-sel dari garis keturunan hemopoietik, dan sel glial.<sup>13</sup> Vimentin, protein 57 kDa, adalah salah satu protein yang paling banyak diungkapkan pada protein tipe III IF famili.<sup>14</sup> Vimentin umumnya digunakan untuk mengidentifikasi sel yang mengalami EMT tipe 3 pada kanker. Hal ini didasarkan pada korelasi positif ekspresi vimentin dengan peningkatan invasi dan metastasis.<sup>15</sup> Stroma prostat adalah muskular maka perubahan fenotipik myofibroblas sangat sulit dideteksi pada pemeriksaan slide patologi, maka diperlukan pemeriksaan imunohistokimia diantaranya seperti vimentin, *smooth muscle  $\alpha$ -aktin*, dan *desmin*.<sup>16</sup> Vimentin merupakan prediktor yang lebih baik daripada *desmin* dan *smooth muscle  $\alpha$ -aktin* dan hasil ini mengidentifikasi bahwa kehadiran myofibroblas dan fibroblas pada stroma reaktif mempunyai pengaruh besar pada perkembangan tumor dan rekurensi daripada hilangnya sel otot polos.<sup>17</sup>

Overekspresi vimentin dalam kanker prostat berkontribusi terhadap potensi invasif dan metastasis, menurut beberapa penelitian. Vimentin, konstituen utama dari filamen menengah famili protein yang dinyatakan dalam sel mesenkimal normal dan dikenal untuk mempertahankan integritas seluler dan memberikan perlawanan terhadap resiko stress. Over-

ekspresi vimentin dalam kanker berkorelasi baik dengan peningkatan pertumbuhan tumor, invasi dan prognosis buruk, bagaimanapun peran vimentin dalam perkembangan kanker tetap tidak jelas.<sup>14</sup>

Pengobatan kuratif pada saat ini untuk pasien kanker prostat dengan metastasis lokal atau jauh belum ada. Oleh karena itu sangat diperlukan identifikasi baru, peningkatan biomarker diagnostik dan prognostik untuk kanker prostat dan penemuan strategi pengobatan yang lebih baik untuk kanker prostat yang metastasis.<sup>15</sup> Oleh karena itu, sampai saat ini klasifikasi kanker prostat tidak sempurna memprediksi perilaku biologis dari kanker, karena tidak memiliki kriteria prediktif. Tantangan ini dalam pengelolaan kanker prostat mungkin diatasi dengan pemahaman yang lebih baik tentang dasar molekuler perkembangan kanker. Kajian yang lebih mutakhir juga menunjukkan bahwa stroma tumor adalah target yang valid untuk terapi dan faktor stroma bisa berfungsi sebagai penanda prediktif prognostik dan pengobatan.<sup>17</sup>

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan analisis hubungan ekspresi vimentin dan derajat histopatologi pada adenokarsinoma prostat.

**METODE PENELITIAN**

Desain Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan desain *cross sectional study*, di mana semua variabel independen dan dependen yang diperiksa saat bersamaan. Sampel penelitian kasus adenokarsinoma prostat yang memenuhi kriteria inklusi dan eklusi adalah sebanyak 38 kasus yang didiagnosis di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas periode Januari 2010-Desember 2012. Derajat histopatologi ditetapkan menurut sistem Gleason ISUP 2005 yang dikelompokkan menjadi *well differentiated (Gleason ≤6)*, *moderately differentiated (Gleason 7)* dan *poorly differentiated/undifferentiated (Gleason 8-10)*. Blok parafin dari sampel dilakukan pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi primer *Ventana anti Vimentin Rabbit Monoclonal Primary* produksi Bio Care menggunakan metode *Labelle Streptavidin Biotin (LSAB)*.

Penilaian ekspresi vimentin dilakukan dengan menghitung persentase warna coklat pada sitoplasma sel tumor dengan mikroskop

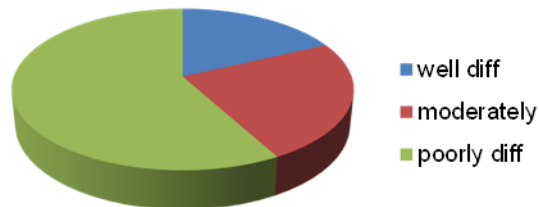
cahaya berdasarkan kriteria skor vimentin yang digunakan oleh peneliti lainnya dan kepustakaan yaitu skor 0 (sitoplasma sel tumor yang terwarnai <20%), skor +1 (sitoplasma sel tumor yang terwarnai 20-49%), skor +2 (sitoplasma sel tumor yang terwarnai 50-74%) dan skor +3 (sitoplasma sel tumor yang terwarnai 75-100%).

Data distribusi frekuensi adenokarsinoma prostat berdasarkan derajat histopatologi dan ekspresi vimentin pada adenokarsinoma prostat dinilai secara deskriptif, disajikan dalam bentuk grafik, tabel dan narasi. Hubungan ekspresi vimentin dengan adenokarsinoma prostat di uji dengan uji statistik Kruskal-Wallis dengan nilai  $p < 0,05$  dianggap bermakna secara statistik.

**HASIL**

Berdasarkan derajat histopatologi, distribusi adenokarsinoma prostat menunjukkan 7 kasus (18%) *well differentiated*, 9 kasus (24%) *moderately differentiated*, sebanyak 22 kasus (58%) *poorly differentiated* sedangkan berdasarkan ekspresi vimentin menunjukkan skor 1 pada 5 kasus (55,6%) *well differentiated*, 0 kasus (0%) *moderately differentiated*, 4 kasus (44,4%) *poorly differentiated*. Skor 2 pada 1 kasus (6,3%) *well differentiated*, 8 kasus (50%) *moderately differentiated*, 7 kasus (43,8%) *poorly differentiated*. Skor 3 pada 0 kasus (0%) *well differentiated*, 1 kasus (8,3%) *moderately differentiated*, 11 kasus (91,7%) *poorly differentiated*.

Penelitian ini memperlihatkan distribusi kasus adenokarsinoma prostat berdasarkan derajat histopatologi yang terdiri atas *well differentiated* sebanyak 7 kasus (18%), *moderately differentiated* sebanyak 9 kasus (24%) dan *poorly differentiated* sebanyak 22 kasus (58%). Kasus adenokarsinoma terbanyak pada *poorly differentiated* (Gambar 1).



Gambar 1. Distribusi frekuensi adenokarsinoma prostat berdasarkan derajat histopatologi.

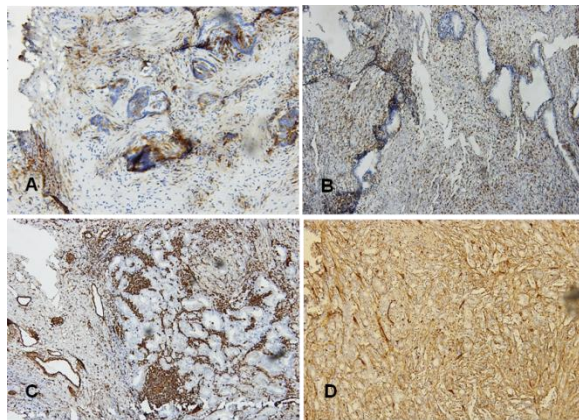
Tabel 1. Ekspresi vimentin pada adenokarsinoma prostat berdasarkan derajat histopatologi.

Ekspresi vimentin	Derajat histopatologi			Total	p
	Well diff (%)	Moderately diff (%)	Poorly diff (%)		
Skor 0	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0,014
Skor + 1	5 (55,6)	0 (0)	4 (44,4)	9 (100)	
Skor + 2	1 (6,3)	8 (50)	7 (43,8)	16 (100)	
Skor + 3	0 (0)	1 (8,3)	11 (91,7)	12 (100)	
Total	7 (0)	9 (23,7)	22 (57,9)	38 (100)	

Tabel 1 menunjukkan kecenderungan semakin tinggi ekspresi vimentin semakin tinggi derajat histopatologi. *Poorly differentiated* memiliki ekspresi vimentin skor +3 tertinggi sebanyak 11 kasus (91,7%).

Tabel 1 menunjukkan hubungan bermakna antara ekspresi vimentin dan derajat histopatologi setelah dilakukan uji statistik Kruskal-Wallis dengan  $p=0,014$ . Nilai  $p<0,05$  dianggap bermakna secara statistik.

Hasil pulasan yang didapatkan pada penelitian ini dinilai dengan skor 0, +1, +2, +3 seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ekspresi vimentin pada adenokarsinoma prostat. A. Skor 0, B. Skor +1, C. Skor +2, D. Skor 3.

**DISKUSI**

Tabel 1 menunjukkan distribusi kasus adenokarsinoma prostat berdasarkan derajat histopatologi yaitu *well differentiated* sebanyak 7 kasus (18%), *moderately differentiated* sebanyak 9 kasus (24%) dan *poorly differentiated* sebanyak 22 kasus (58%). Penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu menunjukkan kasus terbanyak pada *poorly differentiated* sebanyak 75% dan *moderately differentiated* sebanyak 2 kasus (25%), sedangkan pada *well differentiated* tidak ada kasus.<sup>18</sup>

Sedangkan penelitian lain mendapatkan kecenderungan terjadinya peningkatan kasus *poorly differentiated* pada stadium lokal. Kemungkinan kecenderungan peningkatan kasus *poorly differentiated* disebabkan efek paparan lingkungan atau perilaku kanker prostat agresif.<sup>19</sup> Penelitian terdahulu mendapatkan *well differentiated* sebanyak 57,50%, *moderately differentiated* sebanyak 19,20% dan *poorly differentiated* sebanyak 23,20%. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh perbedaan metode Gleason, yang digunakan dalam penelitian, sedangkan peneliti terdahulu menggunakan metode Gleason klasik.

Dalam populasi penelitian dengan specimen yang berasal dari prostatektomy radikal menunjukkan bahwa 34% pasien kanker prostat skor 3 +3=6 dengan metode klasik setelah dilakukan sistem 2005 ISUP terjadi kenaikan skor 7 atau 8 dengan kriteria ISUP.<sup>20</sup>

Penelitian ini menunjukkan semakin tinggi ekspresi *vimentin* semakin tinggi derajat histopatologi. Menurut suatu penelitian *vimentin* merupakan salah satu fenotip myofibroblas. Proporsi myofibroblas dalam stroma reaktif tampaknya meningkat dari PIN, ke *moderately differentiated* hingga *poorly differentiated*. Persentase tertinggi myofibroblas pada stroma reaktif prostat terdapat pada skor 4 dibanding dengan skor 3.<sup>16</sup>

Penelitian ini memperoleh hasil bahwa pada *poorly differentiated* memiliki ekspresi vimentin skor+3 (75-100% sel yang terwarnai) tertinggi sebanyak 11 kasus (43,8%). Penelitian ini sesuai menurut penelitian terdahulu *poorly differentiated* memiliki ekspresi vimentin skor +3 lebih tinggi sebanyak 23,9%, pada *moderately differentiated* sebanyak 3,6% dan pada *well differentiated* sebanyak 1,8%. Peningkatan tingkat ekspresi vimentin dikaitkan dengan *poorly differentiated*.<sup>21</sup>

Vimentin umumnya digunakan untuk mengidentifikasi sel yang menjalani EMT tipe 3 pada kanker. Berdasarkan hal ini ekspresi vimentin berkorelasi positif dengan peningkatan invasif dan metastasis.<sup>13</sup>

Pada penelitian ini tidak bisa diuji secara *chi-square test* karena memiliki 9 sel, sedangkan yang diharapkan kurang dari 5 sel maka dilakukan uji statistik non parametrik Kruskal-Wallis *test*. Hasil uji statistik menunjukkan hubungan bermakna antara ekspresi vimentin dengan derajat histopatologi berdasar-

kan *gleason score system* dengan nilai  $p=0,014$ . Nilai  $p<0,05$  dianggap bermakna secara statistik.

Penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan tidak adanya hubungan antara ekspresi vimentin dan derajat histopatologi berdasarkan *gleason score system*, walaupun ekspresi vimentin skor+3 (75-100% sel yang terwarnai) tertinggi pada *poorly differentiated* sebanyak 23,9%, *moderately differentiated* adalah 3,6% dan *well differentiated* 1,8%.<sup>20</sup>

Miofibroblas pada stroma reaktif mensintesa komponen ECM seperti *collagen I*, *collagen III*, *fibronektin isoforms*, *tenascin* dan *versican*. Sebagai tambahan lain miofibroblas juga mengekspresikan protease terdiri dari *urokinase plasminogen activator* (UPA), FAP dan MMPs. Hasil produksi komponen ini pada ECM *remodeling* dapat menstimulasi pertumbuhan sel kanker dan migrasi. Selanjutnya miofibroblas mensekresikan *growth factors* mendorong terjadinya angiogenesis, maka hal tersebut dapat meningkatkan progresifitas dari tumor yang dapat diamati pada skor Gleason. Skor Gleason berhubungan dengan perkembangan tumor. Skor Gleason secara umum didefinisikan sebagai derajat pola kelenjar tapi sama baiknya juga didefinisikan sebagai derajat pola stroma. Skor Gleason dikelompokkan dalam derajat histopatologi.<sup>10,15,17</sup> *Gleason score system* dapat dilihat sebagai bukti morfologi *epithelial to mesenchymal transition* (EMT).<sup>9</sup> Suatu penanda EMT adalah vimentin. Over-ekspresi vimentin pada kanker prostat berhubungan baik dengan peningkatan pertumbuhan tumor, invasi dan prognosis buruk.<sup>13,14</sup>

#### KESIMPULAN

Semakin tinggi ekspresi vimentin semakin tinggi derajat histopatologi. Semakin buruk derajat histopatologi (*poorly differentiated*), semakin tinggi ekspresi vimentin (skor 3). Ekspresi vimentin dapat digunakan untuk menentukan derajat histopatologi.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Belbase N, Agrawal C, Polihavel P, Agrawal S, Lansal M, Shakya V, *et al*. Prostate cancer screening in healthy population Cohort in Enstein Nepal : an Explanatory Trial Study. *As Pac J Cancer Prev*. 2013; 14: 2835-8.
2. Umbas R, Hardjowijoto S, Mochtar C, Sefriadi F, Djatisoesanto W, Soedarso M, *et al*. *Panduan Penanganan Kanker Prostat*. Jakarta: Ikatan Ahli Urologi Indonesia; 2011.
3. Shafique K, Analysis of the incidence and patient survival for prostate cancer in the west of Scotland. Thesis, University of Glasgow, Scotland. 2012.
4. Badan Registrasi Kanker IAPI, Direktorat Jenderal Pelayanan Medik, Departemen Kesehatan RI, Yayasan Kanker Indonesia, 2009. *Kanker di Indonesia Tahun 2009 Data Histopatologik*, Jakarta: Yayasan Kanker Indonesia; 2009.
5. Khan H. Determinants of prostate cancer the Birmingham Prostatic Neoplasms Association study. A thesis submitted to the University of Birmingham for the degree of Doctor of Philosophy University of Birmingham. 2011.
6. Heindenreich A, Bastian P, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, *et al*. Guidelines on Prostate Cancer. European Association of Urology. 2013. p 36.
7. Shafique K, Proctor M, Millan D, Leura H, Smith K, Sloan B, *et al*. The modified Glasgow prognostic score in prostate cancer: Result from a retrospective clinical series of 747 patients. *BMC Cancer* 2013; 13: 1-8.
8. Buhmeida A, Pyrhönen S, Laato M, Collan Y. Review prognostic factors in prostate cancer. *Diag Pathol*. 2006; 1: 1-15.
9. Carneiro I. Molecular Markers of Epithelial to Mesenchymal Transition in Prostate Cancer. Dissertation, Universidade the Porto, Portugues; 2012.
10. Jenbacken K. Invasive and Metastatic Properties of Advanced Prostate Cancer. 2009. pp 15-17.
11. Humprey PA. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol*. 2004; 17: 292-306.
12. Niu N, Xia L. Stroma epithelium crosstalk in prostate cancer. *As J Androl*. 2009; 11: 28-35.
13. Zeisberg M, Neilson E. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. *J Clin Invest*. 2009; 119: 1429-37.
14. Satelli A, Li S. Vimentin as a potential molecular target in cancer therapy. *Cell Mol Life Sci*, 2011; 68: 3033-46.

15. Tuxhorn J, Ayala G, Smith M, Smith V, Dang T, Rowley D, *et al.* Reactive stroma in human prostate cancer: Induction of myofibroblast phenotype and extracellular matrix remodelling. 2002; 8: 2912-23.
16. Tomas D, Spajic B, Milosevic M, Demirovic A, Marusic Z, Kruslin B, *et al.* Intensity of stromal changes predict biochemical recurrence free survival in prostate carcinoma. *Scand J Urol Nephrol.* 2010; Ealy Online: 1-7.
17. Hägglöf C, Berg A, 2012. The stroma a key regulator in prostate function and malignancy. *Cancers.* 2012; 4: 531-48.
18. Oluwule OP, Taiwo J, Awaini K, Adugba E. Studies on the prevalence of prostate cancer in Lokoja Metropolis. *Adv Trop Med Pub Health Int.* 2012; 2: 15-20.
19. Li J, Djenaba JA, Soman A, Rim SH, Master V. Recent trends in prostate cancer incidence by age, cancer stage, and grade, the United States, 2001-2007. *Prostate Cancer.* 2012; 1-8.
20. Zhang Q, Helfand B, Jang T, Zhu L, Chen L, Yang X, *et al.* Nuclear factor- $\kappa$ B-mediated transforming growth factor- $\beta$ -induced expression of vimentin is an independent predictor of biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 3557-67.
21. Dong F, Wang C, Farris AB, Wu S, Lee H, Olumi A, *et al.* Impact on the clinical outcome of prostate cancer by the 2005 international society of urological pathology modified Gleason grading system. *Am J Surg Pathol.* 2012; 36: 838-43.