

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Ivan I. Vuković

**ZNAČAJ SERUMSKE IZOFORME
PROSTATA SPECIFIČNOG ANTIGENA I
NJEGOVIH DERIVATA U RANOM
OTKRIVANJU KARCINOMA PROSTATE**

doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Ivan I. Vuković

**THE ROLE OF THE SERUM ISOFORM OF
THE PROSTATE SPECIFIC-ANTIGEN AND
ITS DERIVATIVES IN EARLY DETECTION
OF PROSTATE CANCER**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

Mentor:

dr Aleksandar Vuksanović, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

dr Miroslav Đorđević, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Nebojša Bojanić, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Sava Mičić, redovni profesor u penziji Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Datum odbrane:

2016. godine

Ovaj rad urađen je u Klinici za urologiju Kliničkog centra Srbije pod neposrednim mentorstvom prof. dr Aleksandra Vuksanovića

Zahvalnica

Veliku zahvalnost dugujem prof. dr Aleksandru Vuksanović na korisnim savetima u dizajniranju studije, eksperimentalnom radu kao i tokom pisanja disertacije.

Prof. dr Miroslavu Đorđeviću i doc. dr Nebojšu Bojaniću dugujem zahvalnost na kritičnom osvrtu tokom izrade i pisanja doktorske disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem svom učitelju prof. dr Savi Mičiću što me je uveo u svet urologije. Pratio je moje stručno i naučno usavršavanje i bez njegove pomoći ove doktorske disertacije ne bi ni bilo.

Zahvalnost dugujem prof. dr sci Nataši Lalić, mr. ph Biljani Glišić i dr Milici Čekerevac na pomoći tokom eksperimentalne izrade ove disertacije. Tokom pomoći u statističkoj obradi rezultata zahvalnost dugujem dr Ivanu Soldatoviću.

Svojim kolegama dr Dejanu Đorđeviću, dr Urošu Babiću i dr Bogomiru Milojeviću dugujem zahvalnost na nesebičnoj pomoći.

Zahvalnost dugujem i svim kolegama i koleginicama iz Klinike za urologiju, KCS.

Za kritično čitanje ove teze zahvaljujem svom prijatelju prof. dr Goranu Brajuškoviću.

Na kraju, ali ne svakako na poslednjem mestu, zahvalnost dugujem svojoj porodici na razumevanju i podršci.

ZNAČAJ SERUMSKE IZOFORME PROSTATA SPECIFIČNOG ANTIGENA I NJEGOVIH DERIVATA U RANOM OTKRIVANJU KARCINOMA PROSTATE

Sažetak

Karcinom prostate (CaP) je najčešći malignitet kod muškaraca preko 70 godina u zemljama Severne i Zapadne Evrope, kao i SAD. U Srbiji, CaP je na trećem mestu po učestalosti i na trećem mestu po mortalitetu. Na globalnom nivou, CaP je drugi po učestalosti od svih karcinoma i šesti uzrok smrti od karcinoma. Svi ovi epidemioški podaci pokazuju koliko je CaP veliki zdravstveni i ekonomski problem, kako u celom svetu, tako i u Srbiji. Povećanje incidence CaP posledica je široke primene prostata specifičnog antigena (PSA) testiranja koje je kasnih osamdesetih godina dovelo do revolucionarnih promena u dijagnostici CaP. Međutim, kako je PSA organ specifičan, ali ne i karcinom specifičan marker, on se ne može smatrati idealnim markerom.

Kako bi se poboljšala specifičnost PSA za detekciju CaP, vremenom su uvedeni novi derivati PSA, kao što su dinamika rasta PSA u funkciji vremena (*eng. PSA velocity, PSAV*), odnos ukupnog PSA i zapremine prostate (*eng. PSA density, PSAD*), udvostručenje bazične vrednosti PSA tokom vremena (*eng. PSA doubling time*), procentualni odnos slobodnog prema ukupnom PSA (%fPSA). Pokazano je da jedino %fPSA donekle poboljšava specifičnost PSA za rano otkrivanje CaP. Brzo se javila potreba za pronalaženjem boljih i osetljivijih biomarkera koji bi sa većom sigurnošću mogli da ukažu na CaP. Pokazalo se da su serumska izoforma prostata specifičnog antigena p2PSA i njegovi derivati %p2PSA, PHI (*eng. prostate health index*), najbolji novi biomarkeri koji značajno povećavaju specifičnost PSA za detekciju karcinoma prostate. Što je važnije, ovi biomarkeri mogu da naprave razliku između klinički nesignifikantnog, nisko-rizičnog tumora i njegove agresivne forme. Njihovom primenom značajno se smanjuje broj pacijenata koji podležu suvišnim dijagnostičkim i terapijskim procedurama (*eng. overdiagnosis & overtreatment*) kao i svim komplikacijama koje ih prate. Međusobni matematički odnosi p2PSA, fPSA i ukupnog PSA dat je formulom čiji rezultat

označava PHI ($PHI = [p2PSA / fPSA] \times PSA^{1/2}$), a međusobni odnos p2PSA i fPSA, odnosno %p2PSA formulom ($p2PSA/fPSA \times 100$).

Cilj ove studije bio je da se utvrdi senzitivnost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrednost p2PSA i njegovih derivata PHI i %p2PSA za ranu detekciju CaP kod pacijenata sa vrednostima PSA od 2 do 10 ng/mL kao i da se utvrdi prediktivni značaj p2PSA i njegovih derivata, %p2PSA i PHI, u prognozi agresivnije forme CaP (Glison skor ≥ 7). I na kraju, cilj je bio da se proceni značaj vrednosti $PHI \geq 55$ u otkrivanju agresivnije forme CaP (Glison skor ≥ 7).

U Klinici za urologiju Kliničkog centra Srbije sprovedena je studija preseka. Studijom su bili obuhvaćeni svi konsekutivni pacijenti koji su pregledani u periodu od januara 2012. do januara 2014., a koji su zadovoljili inkluzione kriterijume studije. Inkluzioni kriterijumi bili su: pacijenti starosti 50 i više godina, bez prethodne istorije karcinoma prostate, sa urednim digito-rektalnim pregledom (DRE), vrednostima PSA od 2-10 ng/mL, patohistološkim nalazom dobijenim sa 12 i više isečaka prilikom transrektalne ultrazvučno vođene biopsije prostate (TRUS biopsija prostate). Kriterijumi za isključivanje iz studije bili su: pacijenti koji su uzimali lekove koji utiču na vrednosti PSA (inhibitori 5 alfa reduktaze, antiandrogena terapija), hirurške intervencije na prostati (transuretralna resekcija prostate, biopsija prostate), akutni prostatitis, infekcija urinarnog trakta i PSA van opsega 2-10 ng/mL.

Pre učinjene TRUS biopsije prostate, određivane su vrednosti PSA, free PSA i p2PSA primenom Hybritech testa prema uputstvima proizvođača testova na Beckman Coulter Access 2 Immunoassay analizatoru. Vrednosti %p2PSA i PHI su dobijene matematičkom formulom.

Statistička analiza prikupljenih podataka urađena je metodama deskriptivne statistike (srednja vrednost, medijana, interval poverenja, minimalne i maksimalne vrednosti). Prediktivna vrednost PSA, fPSA i p2PSA u detekciji CaP ispitivana je univarijantnom i multivarijantnom regresionom analizom. Određivanje graničnih vrednosti ispitivanih biohemijskih markera koji daju najbolji odnos specifičnosti i senzitivnosti u cilju ranog otkrivanja CaP ispitivana je ROC analizom. Za sve testove određen je nivo značajnosti od $p < 0,05$.

Studijsku populaciju činilo je 129 pacijenata koji su u odnosu na patohistološki nalaz podjeljeni u dve grupe, sa CaP i sa benignim bolestima prostate. Prosečna starost pacijenata je bila slična u obe grupe pacijenata (65,29 vs 64,03 godina). Vrednosti PSA su bile nešto niže u grupi pacijenata sa CaP (5,81 vs 6,24 ng/ml), bez statistički značajne razlike. Vrednosti slobodnog (fPSA) su bile statistički značajno niže u grupi pacijenata sa karcinomom ($p < 0,01$), kao i njihov međusobni odnos (%fPSA). Vrednosti p2PSA bile su veće u grupi pacijenata sa CaP (19,55 vs 18,68) bez statistički značajne razlike. Vrednosti %p2PSA i PHI bile su statistički značajno veće ($p < 0,01$) u grupi pacijenata sa CaP. ROC analizom je određivana senzitivnost, specifičnost i granične vrednosti ovih markera da bi procenili njihove performanse u smislu diskriminacije pacijenata sa CaP. Pokazalo se da najveću površinu ispod krive (AUC) ima %p2PSA (0,723), fPSA (0,707), %fPSA (0,693) i potom PHI (0,68) sa statistički značajnom razlikom. Pri senzitivnosti od 90,06%, granična vrednost za %fPSA iznosila je 11,4%, a specifičnost 40%. Za istu senzitivnost granična vrednost za PHI bila je 27,4 i specifičnost 26,6%, a najoptimalnija granična vrednost bila je 41,67 pri senzitivnosti 64% i specifičnosti 65,2%. Granična vrednost za %p2PSA bila je 1,25%, pri senzitivnosti 90,8% i specifičnosti 34,4%.

Takođe smo određivali koji od ovih markera može da ukaže na agresivnu formu CaP. Statističku značajnost smo dobili u slučaju %2PSA (AUC 0,63) i PHI (AUC 0,654). Granična vrednost za %p2PSA bila je 1,35%, za senzitivnost 92% i specifičnost 20%, a za PHI pri istoj senzitivnosti granična vrednost iznosi 31,33 i specifičnost 22,5%.

Univarijantnom regresionom analizom dobijeno je da su signifikantni prediktori CaP %p2PSA, PHI, fPSA i %fPSA, dok su signifikantni prediktori agresivnosti CaP %p2PSA ($p=0,024$) i PHI ($p=0,052$). Multivarjantna logistička regresiona analiza je učinjena kako bi se utvrdilo koja kombinacija markera može da predvidi postojanje CaP. Koristili smo bazičan model sačinjen od standardnih markera (PSA, fPSA i %PSA), a potom sa njim kombinovali p2PSA, %p2PSA i PHI. Najbolje se pokazao bazični model u kombinaciji sa %p2PSA a potom model sa p2PSA i PHI. Takođe, ista analiza je učinjena po pitanju predikcije agresivnosti karcinoma gde se najboljim pokazao model sa %p2PSA ali se kao prihvatljivim pokazao i model sa p2PSA i PHI koji su bili vrlo blizu konvencionalnog nivoa značajnosti. Studija je pokazala da sa povećanjem vrednosti PHI značajno raste i broj pacijenata sa CaP. Takođe, sa porastom vrednosti PHI raste i

procenat pacijenata sa agresivnom formom CaP, ali to nismo statistički dokazali verovatno kao kao posledicu malog uzorka.

Ovim ispitivanjem pokazali smo da se korišćenjem p2PSA testiranja, kao i njegovih derivata %p2PSA i PHI, može napraviti bolja diskriminacija pacijenata sa i bez CaP, u odnosu na standardno testiranje sa PSA. Takođe smo pokazali da se njihovom upotrebom može napraviti razlika između pacijenata sa niskorizičnom i pacijenata sa agresivnijom formom CaP (Glison skor ≥ 7).

Ključne reči: karicnom prostate, PSA, p2PSA, %p2PSA, PHI

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Urologija

UDK broj:

THE ROLE OF THE SERUM ISOFORM OF THE PROSTATE SPECIFIC-ANTIGEN AND ITS DERIVATIVES IN EARLY DETECTION OF PROSTATE CANCER

Abstract

Prostate cancer (PC) is the most common malignancy in men aged >70 in Western and Eastern European Countries, as well as in the US. In Serbia, PC is the third most common incidence rate and has the third most common mortality rate. On a global scale, PC takes second place of most common incidence in all malignancies, and sixth place for most common reason of mortality on all Carcinomas. All these epidemiological data indicate that PC is a significant health and economic issue, not only globally, but also in Serbia. The increase of PC is a consequence from high use of prostate specific antigen (PSA) assessment, which led to revolutionary changes in the diagnostics of PC in the late eighties. However, as the PSA is organ specific, but not also carcinoma specific marker, it cannot be considered as an ideal marker.

Overtime, in order to improve the specificity of PSA for PC detection, new derivatives of PSA were introduced, such as PSA velocity (PSAV), PSA density (PSAD), PSA doubling time, the percentage of free versus total PSA (%fPSA). Only %fPSA has been proved to in some extent increase the specificity of PSA in regards to early discovery of PC. In a short time, the search for a better and more sensitive marker appeared, which would be able to indicate PC with a higher determination. It was shown that the serum isoform of the prostate specific antigen p2PSA and its derivatives %p2PSA, PHI (Prostate health index), are the best of newer biomarkers that significantly increase the specificity of PSA in detecting PC. More importantly, these biomarkers can make the difference between the indolent, clinically non significant tumor and its aggressive form which needs to be treated. Including these in diagnostic procedures significantly decreases number of patients that are undergoing unnecessary diagnostic and therapeutic procedure (overdiagnosis and overtreatment) as well as complications due to the same. The mathematic algorithm incorporating p2PSA, fPSA and total PSA is given by the formula which results in PHI ($PHI = [p2PSA / fPSA] \times PSA^{1/2}$), whereas the correlation between p2PSA and fPSA, e.g. %p2PSA formula ($p2PSA/fPSA \times 100$).

The purpose of the study was to determine the relationship between PC and PSA, e.g. its derivatives fPSA, %fPSA, p2PSA, %p2PSA and PHI. Second end points were to investigate their possibilities in clinical use in differentiation of low risk PC from the aggressive form of PC with Gleason score ≥ 7 . The primary objective for the study was to determine the performances of new biomarkers p2PSA and its derivatives %2PSA and PHI in regards to standard biomarkers PSA, fPSA, %fPSA.

At the Clinic for Urology at the Clinical Center of Serbia a cross-sectional study was conducted. The study included all consecutive patients that had been examined in the period from January 2012. until January 2014., and who fulfilled inclusion criteria of the study. Inclusion criteria were patients aged ≥ 50 , no previous history of PC, no findings of digital-rectal examination (DRE), PSA values between 2-10 ng/mL, pathology report received with ≥ 12 biopsies during transrectal ultrasound guided biopsy of the prostate (TRUS biopsy). Exclusion criteria for the study were patients that had been treated with drug that have an effect on PSA values (inhibitors of 5 alpha reductase, antiandrogenic therapy), previous surgical procedures of the prostate (transurethral resection of the prostate, prostate biopsy), acute prostatitis, urinary tract infection and PSA out of given range 2-10 ng/mL.

Prior to prostate TRUS biopsy performance, values of markers were determined: PSA, free PSA and p2PSA using Hybritech assay according to manufacturer's instructions of the tests of Beckman Coulter Access 2 Immunoassay analyzer. Values of %p2PSA and PHI obtained were calculated mathematically.

The statistical analysis performed with data collected was done using methods of descriptive statistics (mean value, median, confidence interval, minimal and maximal values). The predictive value of PSA, fPSA and p2PSA in detection of PC was determined using univariate and multivariate regressive analysis. Determination of range values for investigated biochemical markers that give the best correlation between specificity and sensitivity in early detection of PC was tested with the ROC analysis. For all tests, a level of significance was determined to $p < 0.05$.

Study population included 129 patients in total, divided in two groups based on pathohistology findings - with PC and benign diseases (BPH). Mean age was similar in both groups (65.29 vs 64.03 years). Values of PSA were slightly lower in the patient group with PC (5.81 vs 6.24 ng/ml), without any significant difference. Values of free PSA (fPSA) were significantly lower in the patient group with PC ($p < 0.01$), as well as their ratio (%fPSA). Values of p2PSA were higher in the group of PC patients (19.55 vs 18.68) but without significant difference. %p2PSA and PHI were significantly higher ($p < 0.01$) in the group of PC patients. ROC analysis was used to determine sensitivity, specificity and cut off for these markers in order to assess their performances and ability to discriminate patients with and without PC. The largest area under the curve (AUC) was %p2PSA (0.723), fPSA (0.707), %fPSA (0.693), followed by PHI (0.68) with significant differences. At the sensitivity of 90.06% cut off for %fPSA was 11.4% and specificity of 40%. For the same sensitivity cut off for PHI was 27.4 and specificity 26.6% whereas the most optimal cut off was 41.67 at sensitivity of 64% and specificity of 65.2%. Cut off for %p2PSA was 1.25% at sensitivity of 90.8% and specificity of 34.4%.

In addition, we sought to determine which of these markers could indicate to the aggressive form of PC. Significant difference was noted in case of %p2PSA with AUC (0.63) and PHI (0.654). Range values of %p2PSA were 1.35% for sensitivity of 92% and specificity of 20% whereas for PHI at the same sensitivity, cut off was 31.33 and specificity 22.5%.

Univariate regression analysis showed that significant predictors for PC were %p2PSA, PHI, fPSA and %fPSA. On the other hand, significant predictors of aggressive PC were defined as %p2PSA ($p=0.024$) and PHI ($p=0.052$). Multivariate logistic regression analysis was done to determine what combination of markers could predict presence of PC. For this the basic model of standard markers was combined (PSA, fPSA and %fPSA), and thereafter another model combining p2PSA, %p2PSA and PHI. The basic model included standard markers (PSA, fPSA and %fPSA), whereas it was later combined with p2PSA, %p2PSA and PHI. The best result was noted using the basic model combined with %p2PSA and thereafter the model with p2PSA and PHI. Further, the same analysis was used in regards to determine predictiveness for the aggressive PC, in which case the best model showed to be the one with %p2PSA, however the model with p2PSA and PHI was also acceptable, with results very close to the conventional level of significance. The study

indicated that an increase of PHI significantly increases also the number of patients with CaP. Further more, with the increase of PHI level there is also an increase of the aggressive form of CaP (Gleason scor ≥ 7), but this was not statistically confirmed due to a small sample size.

In conclusion, this study showed that by including p2PSA tests, as well as it's derivates %p2PSA and PHI, it is possible to make a better discrimination of patients with and without PC, in comparison to standard testing with PSA. It was also showed that using these markers a difference can be noted between patients with low-risk and aggressive form of PC (Gleason scor ≥ 7).

Keywords: prostate cancer, PSA, p2PSA, %p2PSA, PHI.

Scientific field: Medicine

Special topics: Urology

UDC number:

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Karcinom prostate	1
1.1.1. Epidemiologija karcinoma prostate	1
1.1.2. Faktori rizika za karcinom prostate	3
1.1.3. Klasifikacija karcinoma prostate	8
1.2. Dijagnostika karcinoma prostate	11
1.2.1. Digito-rektalni pregled	11
1.2.2. Transrektalna ultrasonografija	12
1.2.3. Biopsija prostate	14
1.3. Prostata specifični antigen (PSA)	16
1.3.1. Sinteza i hemijska struktura PSA	16
1.3.2. Biološka uloga prostata specifičnog antigena	18
1.3.3. Serumske vrednosti prostata specifičnog antigena	19
1.3.4. PSA kao biohemijski marker karcinoma prostate	21
1.4. Derivati prostata specifičnog antigena	23
1.4.1. PSA-Gustina (<i>PSA Density</i>)	23
1.4.2. Dinamika rasta PSA u funkciji vremena (<i>PSA Velocity</i>)	24
1.4.3. Udvostručenje bazične vrednosti PSA tokom vremena (<i>PSA Doubling time</i>)	25
1.5. Slobodni PSA	25
1.5.1. Odnos slobodnog prema totalnom PSA (%fPSA)	26
1.5.2. Izoforme slobodnog PSA	29
1.6. ProPSA kao biološki marker karcinoma prostate	30
1.6.1. Klinički značaj proPSA kao markera karcinoma prostate	31
1.6.2. Izoforma p5,7PSA	32
1.6.3. Izoforma p2PSA	33
1.6.4. Prostata zdravstveni indeks (PHI) i %p2PSA	35
2. Ciljevi rada	38
3. Ispitanici i metode	39

3.1.	Ispitanici	39
3.2.	Metode	40
3.2.1.	Određivanje serumskih vrednosti PSA i njegovih derivata	40
3.2.2.	Digito-rektalni pregled	41
3.2.3.	TRUS biopsija prostate i patohistološka analiza bioptiranog tkiva	42
3.2.4.	Statistička analiza	44
4.	Rezultati	46
4.1.	Rezultati selekcije pacijenata prema kriterijumima studije	46
4.2.	Rezultati određivanja vrednosti PSA i njegovih derivata i Glison skora	48
4.3.	Rezultati analize PSA i njegovih derivata kao markera za CaP	49
4.3.1.	Rezultati analize tPSA kao markera za CaP	49
4.3.2.	Rezultati analize fPSA kao markera za CaP	51
4.3.3.	Rezultati analize %fPSA kao markera za CaP	53
4.3.4.	Rezultati analize p2PSA kao markera za CaP	55
4.3.5.	Rezultati analize %p2PSA kao markera za CaP	57
4.3.6.	Rezultati analize PHI kao markera za CaP	59
4.4.	Rezultati kompleksnog regresionog modela za predikciju karcinoma prostate	61
4.5.	Predikcija agresivnog karcinoma prostate (Glison skor ≥ 7) u odnosu na vrednosti PSA i njegovih derivata	64
5.	Diskusija	72
6.	Zaključci	85
7.	Literatura	87

1. UVOD

1.1. Karcinom prostate

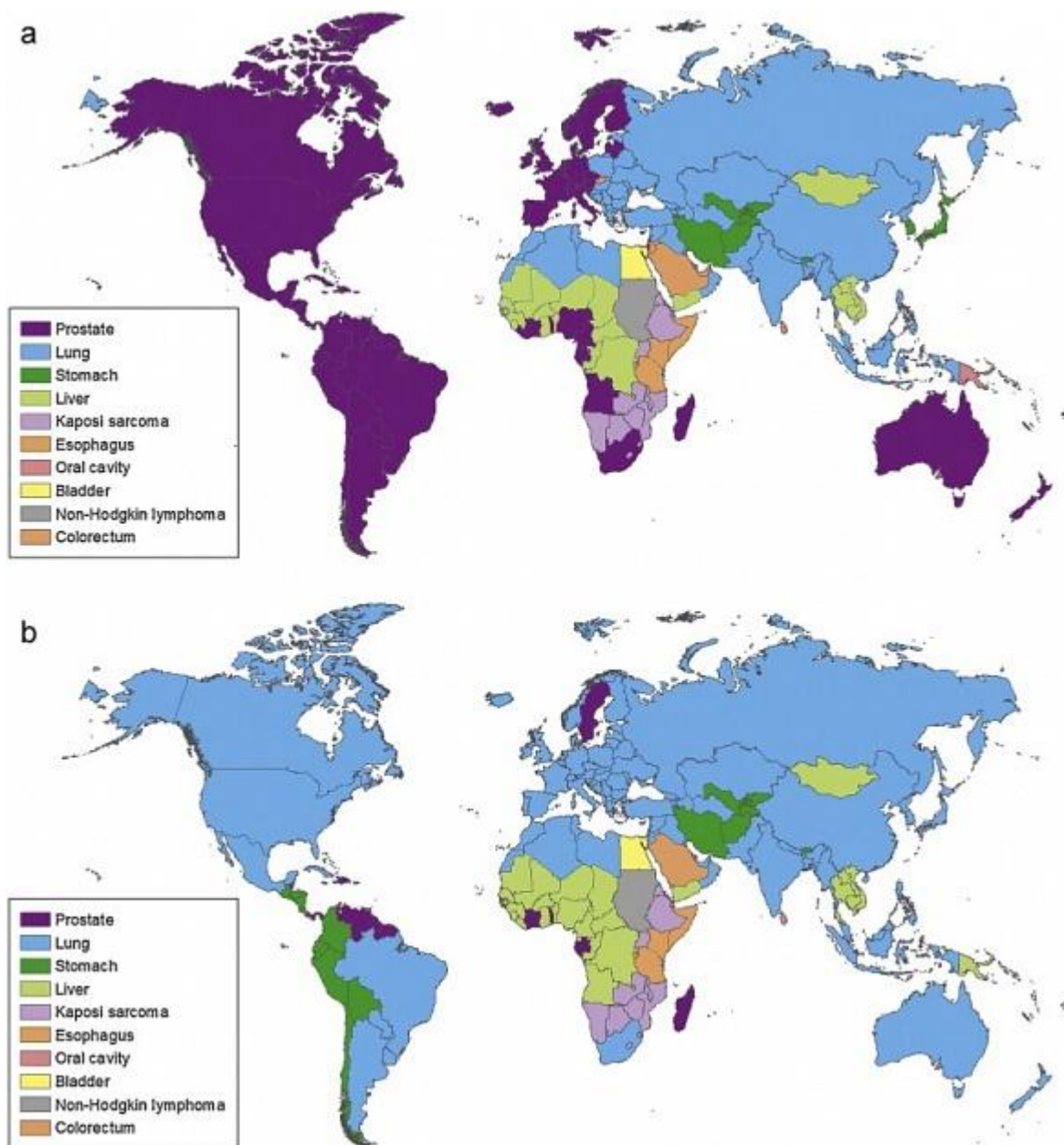
1.1.1. Epidemiologija karcinoma prostate

Karcinom prostate (CaP) je jedna od najčešćih malignih bolesti u muškoj populaciji. Drugi je po učestalosti i šesti uzročnik smrti od malignih bolesti u svetu. U jednoj godini dijagnoza CaP postavi se kod skoro 900000 muškaraca, a od njega u svetu, umire približno 258000 muškaraca godišnje. Procene bazirane na osnovu očekivanog rasta svetske populacije, kao i činjenice da je svetska populacija sve starija, govore da će 2030. godine biti dijagnostikovano 1,7 miliona pacijenata sa CaP, dok je očekivani mortalitet oko 500000 slučajeva (Center M. i sar, 2012).

U Evropi je CaP bolest prevashodno starijeg životnog doba, na prvom mestu po učestalosti od svih maligniteta, sa najvećom incidencijom od preko 200 na 100000 stanovnika u njenim zapadnim i severnim, industrijsko-tehnološki najrazvijenijim delovima. U manje razvijenim zemljama Južne i Istočne Evrope, incidencija je znatno niža, varira od zemlje do zemlje, ali se poslednjih godina i ovde beleži permanentni porast (Arnold M. i sar, 2015). Ovakve razlike u incidenciji između pojedinih zemalja Evrope, posledica su različitog stepena razvijenosti zdravstvene zaštite, ali i svesti o mogućnosti njegove prevencije. U lošije razvijenim sistemima zdravstvene zaštite, pacijenti se javljaju mahom u uznapređovalom stadijumu bolesti pa je zapaženo značajno niže preživljavanje pacijenata sa CaP u Istočnoj Evropi naspram pacijenata u ostatku Evrope (De Angelis R. i sar, 2014). Ipak, poslednjih godina beleže se bolji rezultati u preživljavanju, pa je tako tokom poslednje decenije karcinom specifično petogodišnje preživljavanje u porastu sa 73,4% (1999-2001) na 83,4% (2005-2007) (De Angelis R. i sar, 2014).

U centralnoj Srbiji, prema poslednjim podacima Instituta za zaštitu zdravlja Srbije "Dr Milan Jovanović Batut" iz 2013. godine, CaP bio je na trećem mestu po učestalosti

(11,0%), posle karcinoma pluća i bronha (20,3%) i kolona i rektuma (12,8%). U pogledu starosti, najveća stopa incidence i mortaliteta zabeležena je kod muškaraca posle 75 godina starosti (Institut za javno zdravlje Srbije).



Slika 1. Incidenca (a) i mortalitet (b) malignih bolesti. Ljubičastom bojom obeležen karcinom prostate (Center MM et al., 2012).

U Sjedinjenim Američkim Državama (SAD), CaP je poslednje tri decenije na prvom mestu po učestalosti (27%) od svih karcinoma (Siegel R. i sar, 2014). Procene su pokazale da će se kod svakog šestog muškarca u SAD dijagnostikovati CaP, što predstavlja 16,2% muške populacije, a da će 1 od 33 muškaraca (3%) umreti zbog ove bolesti (Brawley OW., 2012).

Povećanje incidence u poslednje dve decenije zabeleženo je u mnogim slabije razvijenim delovima sveta, dok je stabilizovano u bogatim zemljama SAD, Kanadi, Australiji, Severnoj i Zapadnoj Evropi (Center M. i sar, 2012). Objašnjenje leži u činjenici da su standardizovani dijagnostički postupci u zapadnom svetu dostigli svoj plato, dok se u slabije razvijenim regionima ove procedure tek uzimaju zamah. Popularizacija, pre svega prostata specifičnog antigena (PSA) ima za posledicu činjenicu da sve veći broj muškaraca podvrgava ovoj analizi, vrlo često i samoinicijativno. Takođe, urološka udruženja, širom sveta, kroz medije masovne komunikacije, stalno utiču na podizanje svesti i ukazuju na potrebu rane dijagnostike, kako bi se postavila dijagnoza u ranom stadijumu bolesti i omogućio veći procenat potpunog izlečenja.

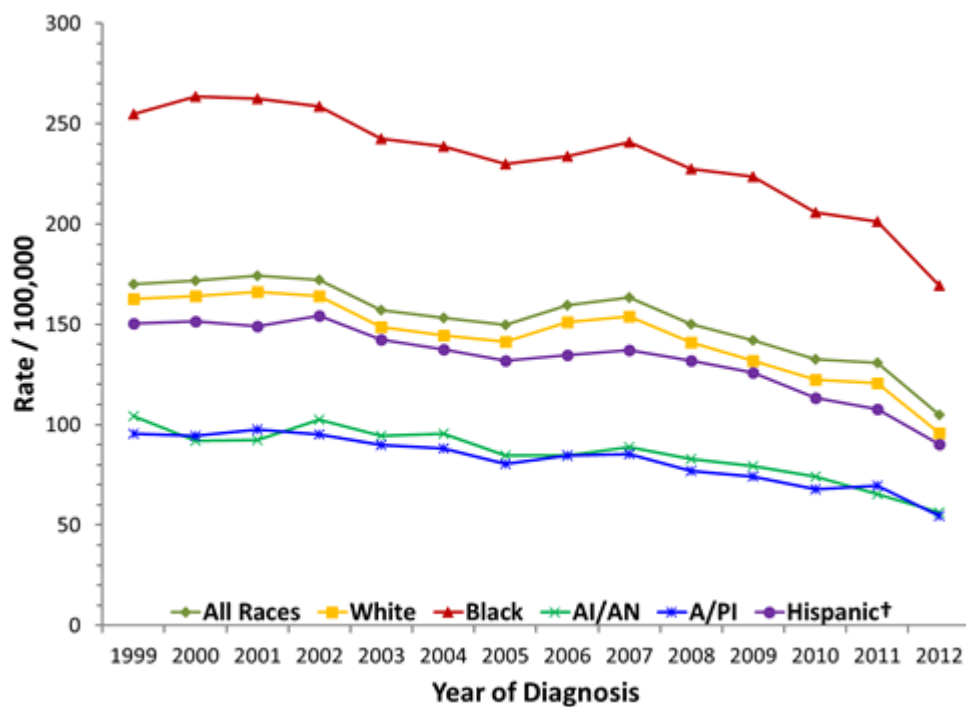
1.1.2. Faktori rizika za karcinom prostate

Glavni etiološki faktori rizika za nastanak CaP su godine starosti, rasna pripadnost i nasledna predispozicija (Glass AS. i sar, 2013).

Godine života nesumnjivo predstavljaju najznačajniji faktor rizika za pojavu karcinoma. Epidemiološke studije ukazuju da sa starošću progresivno raste njegova incidencija kao klinički manifestnog karcinoma. U mlađoj životnoj dobi, ispod 50 godina života, CaP je izuzetno redak (Jani AB. i sar, 2008). Nasuprot tome, ispitivanja na autopsijskom materijalu su pokazala da se kod jedne četvrtine do čak jedne trećine muškaraca, u četrdesetim i pedesetim godinama života, mogu detektovati mikroskopski fokusi karcinoma u prostati. Sa starenjem, procenat CaP linearno raste i u osmoj deceniji se može naći u čak tri četvrtine slučajeva (Yin M. i sar, 2008). Da li će se karcinom uopšte

razviti u svoj manifestni oblik i kada, zavisi pre svega od njegove biologije, ali i od drugih faktora rizika koji mogu biti odgovorni za njegov dalji razvoj.

Značaj rasne pripadnosti kao i promena životne sredine odnosno stila života na razvoj CaP najbolje se sagledavaju u razlikama incidencije između pojedinih etničkih grupa. Davno je uočeno da Afro-Amerikanci imaju 59% veću stopu incidencije CaP od Amerikanaca evropskog porekla (Siegel R. i sar, 2014) (Grafikon 1). Sa druge strane, CaP je mnogo češći kod Afrikanaca, pogotovu u zemljama subsaharske Afrike, gde je pet puta češći nego kod Afro-Amerikanaca (Grongebr H. i sar, 2003; Rebbek TR. i sar, 2013). Sa druge strane, najmanja incidencija CaP zabeležena je kod pripadnika žute rase (Shimitsu H. i sar, 1991).



Grafikon 1. Incidenca CaP kod različitih etničkih grupa (crvena linija - Afro-Amerikanci, žuta - Amerikanaci evropskog porekla, a ljubičasta -Hispano-Amerikanci) (Grafikon dostupan na URL: <http://www.cdc.gov/cancer/prostate/statistics/race.htm>)

Od ranije je poznato da muškarci azijskog porekla koji žive u SAD imaju nižu incidenciju CaP nego belci i Afro-Amerikanci, ali da je kod njih rizik od nastajanja CaP veći nego kod sunarodnika koji žive u Aziji (Yu H. i sar, 1991). Shimitsu i sar. su pokazali da Japanski emigranti u SAD imaju sličnu incidenciju CaP kao i Japanci rođeni na tlu Amerike, ali da je incidencija znatno veća u poređenju sa muškarcima koji žive u Japanu (Shimitsu H. i sar, 1991). I pored ovako izraženih razlika u incidenciji, Hass i sar. pokazali su da je učestalost akcidentalnog CaP i CaP otkrivenog na autopsijskom materijalu približno ista u različitim delovima sveta. Nasuprot tome, incidencija klinički manifestnog CaP pokazuje značajne varijacije između različitih geografskih područja i menja se sa migracijom stanovništva iz područja niske incidencije u područja sa visokom incidencijom (Hass GP. i sar, 2008).

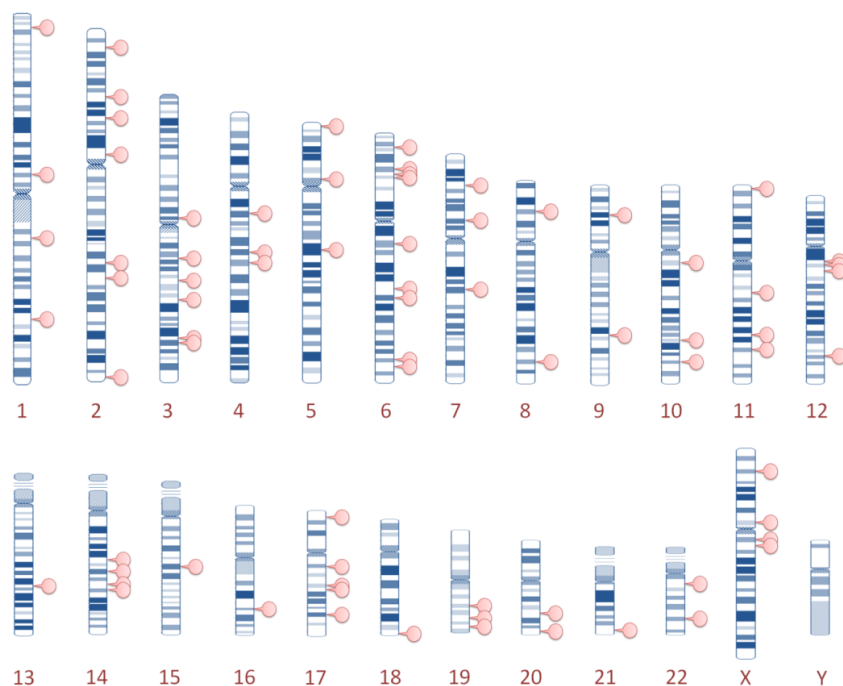
Dosadašnja epidemiološko-genetička ispitivanja pokazala su da mali broj muškaraca, oko 9% ima pravi nasledni CaP (Hemminki K., 2012). Ukoliko otac ima karcinom prostate, verovatnoća da će ga imati i sin je 2 puta veća, a ako i brat i otac imaju karcinom, relativni rizik je pet puta veći (Zeggars MP. i sar, 2003). Studija u kojoj je ispitivan rizik od nastanka karcinoma kod jednojajčanih blizanaca utvrdila je da ukoliko jedan od braće ima karcinom, kod drugog blizanca rizik da se razvije isti iznosi blizu 40% u odnosu na pojavu neke druge maligne bolesti (Lichenstein P. i sar, 2000).

Kada su nasledni karcinomi u pitanju, rezultati studija pokazuju da se oni javljaju u proseku 6 do 7 godina ranije u odnosu na karcinome bez nasledne predispozicije. Po pitanju njihove agresivnosti i dužine preživljavanja između ove dve grupe CaP nije utvđena značajna razlika (Hemminki K., 2012).

Brojna molekularno-biolška istraživanja za temu su imali molekularnu osnovu CaP. Danas je poznata da brojne genetičke i epigenetičke izmene imaju ulogu u inicijaciji i progresiji CaP. Poslednjih nekoliko godina pored protein kodirajućih gena istražuje se i uloga gena koji kodiraju za regulatorne molekule RNK (mikroRNK) u molekularnoj patogenezi CaP. I pored napretka u ovoj oblasti do sada nisu utvrđeni geni kandidati koji bi se doveli u direktnu vezu sa razvojem CaP. To je i razlog što se CaP smatra jednim od

najheterogenijih malignih tumora u humanoj populaciji (Netto GJ., 2015; Bertoli G. i sar, 2016).

Zahvaljujući napretku u istraživanju genoma čoveka, istraživanja su danas usmerena na alele sa niskom penetrabilnošću koji mogu imati kumulativni efekat na razvoj CaP. To su pre svega odnosi na polimorfizme u jednom nukleotidom (tačkaste polimorfizme) čija se uloga istražuje u okviru studija asocijacije na čitavom genomu (eng. *Genome-Wide Association Study*, GWAS). Do sada je identifikovano preko 100 tačkastih polimorfizama (engl. *Single nucleotide polymorphism*, SNP) asociраниh sa rizikom za razvoj CaP (Chen H. i sar, 2015) (slika 2). U toku je izrada brojnih studija slučajeva i kontrola koji za temu imaju proveru rezultata dobijenih GWAS studijama u različitim Evropskim i ne Evropskim populacijama. Do sada su rađene četiri studije slučajeva i kontrola u populaciji Srbije u kojima je pokazana asocijacija SNP u regionima 8q, 17q i u genima za mikroRNK sa rizikom za razvoj i progresiju CaP (Nikolić Z, i sar, 2016).



Slika 2. Pozicije lokusa u genomu čoveka koji su asociрани sa CaP (Nikolić Z. i sar, 2016)

Egzogeni faktori imaju značajan uticaj na rizik od progresije tzv. latentnog CaP ka klinički manifestnom CaP. Međutim, brojne studije koje su pokušale da ukažu na povezanost CaP sa nekim od mogućih faktora rizika imale su negativan rezultat. Wu i sar. nisu dokazali da način ishrane karakterističan za Azijate, sa više voća, povrća, ribe, ceralija, a manje životinjskih proteina i masti može da smanji rizik od nastanka CaP (Wu K. i sar, 2006).

Dugo se razmatralo da promiskuitet zbog povećanog rizika od seksualno transmisivnih bolesti može da budu jedan od faktora rizika za CaP, ali ni ova pretpostavka nije dokazana (Huang WY. i sar, 2008). Ispitivanje pacijenata sa metaboličkim sindromom nije pokazalo značajnu korelaciju sa rizikom od CaP, ali su hipertenzija i povećanje obima struka navode kao mogući faktori rizika (Esposito K. i sar, 2013).

S obzirom na hormonsku zavisnost CaP, dugo se spekulisalo da li supstitucija testosteronom može imati uticaj na razvoj CaP. Ova dilema je rešena studijom Haider i sar. koji su dokazali da terapija testosteronom kod hipogonadalnih muškaraca ne utiče na povećanje rizika od CaP i da je njihova upotreba potpuno bezbedna (Haider A. i sar, 2015). Takođe, postoje kontradiktorni podaci o upotrebi inhibitora 5 alfa reduktaze, statina, aspirina, nesteroidnih anti-inflamatornih lekova, i povećanog rizika za CaP (Thompson IM. i sar, 2003; Esposito K. i sar, 2013; Bhindi B. i sar, 2014).

1.1.3. Klasifikacija karcinoma prostate

Za svakodnevnu kliničku, urološku praksu danas je u primeni TNM klasifikacija, predložena od strane Internacionalne unije za borbu protiv raka (UICC) i koristi se za određivanje stepena anatomskog razvoja tumora (eng. *staging*) kod pacijenata sa CaP (Sobin LH. & Wittekind C., 2009) (Tabela 1).

Za procenu stepena maligniteta (eng. *grading*). danas se koristi koncept Glisona i saradnika uveden 1974 godine, a koji se zasniva na stepenu diferencijacije žlezda i načinu njihovog rasta u odnosu na stromu. Histološki preparat se posmatra na malom uvećanju 40-100x. Histopatološka slika koja dominira naziva se primarna struktura i ocenjena je sa gradusom (eng. *grade*) od 1-5. Struktura koja je manje zastupljena definiše se kao sekundarna struktura, takođe se ocenjuje sa 1-5. Njihov zbir označava Glison skor (eng. *Gleason score*). Ako postoji samo jedna histološka forma, ona se duplira da bi se dobio njen zbir. Ukoliko postoje tri različita uzorka zbrajaju se najčešći uzorak i najviši razred. (Epstein JI. i sar, 2005).

Tabela 1. TNM klasifikacija karcinoma prostate

T Primarni tumor
<p>Tx Primarni tumor se ne može proceniti</p> <p>To Nema dokaza primarnog tumora</p> <p>T1 Klinički ne-manifestan tumor, nepalpabilan</p> <p>T1a Incidentalni histološki nalaz u 5% ili manje resektovanog tkiva</p> <p style="padding-left: 20px;">T1b Incidentalni histološki nalaz u -više od 5% -resektovanog tkiva</p> <p style="padding-left: 20px;">T1c Tumor -dijagnostikovan iglenom biopsijom zbog povišene vrednosti PSA</p> <p>T2 tumor ograničen na prostatu</p> <p style="padding-left: 20px;">T2a Tumor zahvata polovinu jednog lobusa ili manje</p> <p style="padding-left: 20px;">T2b Tumor zahvata više od polovine jednog lobusa ali ne oba lobusa</p> <p style="padding-left: 20px;">T2c Tumor zahvata oba lobusa</p> <p>T3 tumor sa lokalnom ekstraprostatičnom ekstenzijom</p> <p style="padding-left: 20px;">T3a ekstrakapsularna ekstenzija (unilateralna ili bilateralna)</p> <p style="padding-left: 40px;">uključujući i mikroskopsko zahvatanje vrata mokraćne bešike</p> <p style="padding-left: 20px;">T3b zahvatanje semenih kesica</p> <p>T4 tumor je fiksiran ili vrši invaziju okolnih struktura (osim semenih kesica), spoljašnji sfinkter, rektum, m. levator ani, pelvični zid.</p>
N - Regionalne limfne žlezde
<p>N Regionalne limfne žlezde (ispod bifurkacije zajedničke ilijačne arterije)</p> <p>Nx Regionalne limfne žlezde se ne mogu proceniti</p> <p>No Bez metastaza u regionalnim limfnim žlezdama</p> <p>N1 Metastaze u regionalnim limfnim žlezdama</p>
M - Udaljene metastaze
<p>Mx Udaljene metastaze se ne mogu proceniti</p> <p>M0 Bez udaljenih metastaza</p> <p>M1 Udaljene metastaze</p> <p style="padding-left: 20px;">M1a Ne-regionalne limfne žlezde</p> <p style="padding-left: 20px;">M1b kosti</p> <p style="padding-left: 20px;">M1c ostali organi</p>

Prema konsenzusu Internacionalnog Udruženja Uroloških Patologa (eng. *International Society of Urological Pathology*, ISUP) iz 2014. godine, nova revizija koja je uvedena, odnosi se na GS 7 koji je podeljen u dve posebne kategorije na (3+4) i (4+3). Zbog agresivnije prirode CaP označenih kao GS (4+3), a samim tim i njegove lošije prognoze uvedena je podela u 5 grupa prema vrednostima i karakteristikama Glison skora (Epstein JI. i sar, 2016) (Tabela 2).

Tabela 2. Klasifikacija razrednih grupa prema ISUP 2014

Glison zbir (GS)	Razredna grupa
2-6	1
7 (3+4)	2
7 (4+3)	3
8 (4+4) ili (3+5) ili (5+3)	4
9-10	5

CaP je heteroehogena neoplazma, što se vidi iz njegove evolucije, histoloških osobina, biološke agresivnosti i kliničkog ispoljavanja. Očigledno je da su maligni potencijal i stepen agresivnost pojedinih CaP različiti, što svakako utiče na izbor metode lečenja i prognozu bolesti. U odnosu na njihovo biološko ponašanje, klinički tok bolesti i prognozu, data je klasifikacija rizičnih grupa pacijenata (za progresiju bolesti) koja se zasniva na vrednostima PSA, Glison skora i kliničkog stadijuma bolesti, na 3 grupe: pacijenti sa tumorima niskog, umerenog i visokog rizika (Tabela 3) (EAU, Vodič za karcinom prostate, 2016).

Tabela 3. Modifikovana D’Amico-va klasifikacija rizičnih grupa pacijenata za biohemijski recidiv i lokalno uznapredovali CaP (EAU vodič 2016)

CaP niskog rizika (eng. <i>low-risk</i>)	CaP umerenog rizika (eng. <i>intermediate risk</i>)	CaP visokog rizika (eng. <i>high-risk</i>)	
PSA < 10 ng/ml i GS < 7 i cT1-2a	PSA 10- 20ng/ml ili GS 7 ili cT2b	PSA > 20ng/ml ili GS > 7 ili cTc	Bilo koja vrednost PSA Bilo koji GS, cT3-4 ili cN+
Lokalizovani CaP			Lok. uznapredovali CaP

PSA-prostata specifični antigen, GS-Gleason Score, c-klinički stadijum bolesti, CaP - karcinom prostate

1.2. Dijagnostika karcinoma prostate

Danas, dijagnostika CaP podrazumeva digito-rektalni pregled (DRE), određivanje serumske vrednosti prostata specifičnog antigena (PSA) i transrekatalnu ultrasonografiju prostate. Definitivna dijagnoza CaP postavlja se patohistološkom analizom tkiva prostate dobijenog transrektalno vođenom biopsijom prostate.

1.2.1. Digito-rektalni pregled

Dugo vremena unazad, pre PSA ere, digito-rektalni pregled (eng. *digito - rectal examination*, DRE) bio je jedini način da se postavi sumnja na CaP (Conner WH. i sar, 1990). Naime, najveći broj CaP lokalizovan je u perifernoj zoni prostate, pa je dostupan digito-rektalnom pregledu ukoliko je njegov volumen veći od 0,2ml (Richie JP i sar, 1993). Prezentuje se kao indurativna, tvrda, neravna lezija u jednom ili u oba lobusa prostate. Probijanjem kapsule, granice prostate postaju nejasne, pa se često može palpirati tvrd infiltrat koji zahvata semene kesice i vrat mokraćne bešike. Na osnovu DRE kao samostalne dijagnostičke procedure, dijagnoza CaP može se postaviti kod samo 18% pacijenata (Richie JP. i sar, 1993).

Diferencijalno dijagnostički, suspektan nalaz na prostati može se javiti i kod tuberkuloze prostate, granulomatoznog prostatitisa i kalkuloze prostate. Suspektni DRE predstavlja apsolutnu indikaciju za TRUS vođenu biopsiju prostate. Uvođenjem novih dijagnostičkih metoda, pre svega PSA, kojima se CaP može dijagnostikovati u svojoj ranoj fazi razvoja, DRE kao samostalna metoda je izgubio na svom značaju. Međutim u kombinaciji sa PSA testiranjem povećava se njegova pozitivna prediktivna vrednost (PPV) prema CaP. Pri nivoima PSA 0-2,9ng/mL, PPV DRE se kreće u rasponu 4-11%, a pri PSA 3-9,9% i više, PPV iznosi 33-83% (Schroder FH. i sar, 1998).

U današnje vreme većina CaP prezentuje se kao nepalpabilni karcinom (stadijum T1c) pri nivoima PSA 2,5-10ng/mL (Stephenson RA. i sar, 1997), i kao takav prisutan je kod 60-75% *de novo* dijagnostikovanih slučajeva (Gallina A. i sar, 2008). I pored umanjenog značaja DRE u današnje vreme, ovaj pregled je i dalje nezaobilazan u svakodnevnoj urološkoj praksi. Naime, brojni nomogrami, odnosno kalkulatori rizika koji služe za individualno procenu rizika postojanja CaP imaju inkorporirani DRE kao jedan od faktora rizika (Thompson IM. i sar, 2006).

1.2.2. Transrektalna ultrasonografija

Transrektalna ultrasonografija (TRUS) postala je standardna dijagnostička metoda u svakodnevnoj urološkoj praksi. Koristi se u proceni benignih stanja prostate, izračunavanja volumena prostate, kao i u evaluaciji suspektne promene na CaP. TRUS-om se sagledavaju konture prostate, odnosno postojanje eventualnih nepravilnosti, kao i semene kesice i *vas deferens*. Tradicionalna zonalna podela prostate na fibromuskularnu stromu i žlezdano tkivo koje sačinjavaju tri zone (tranzitorna zona (TZ), centralna zona (CZ) i periferna zona (PZ)), ne mogu se ultrazvučno sagledati kao jasni entiteti. Posteriorno lokalizovana centralna i periferna zona prostate, u kojoj nastaje najveći procenat karcinoma, pokazuje homogeniji, hiperehogeni izgled, dok je anteriorno lokalizovana tranzitorna zona više heterogena. Optimalno podešavanje kontrasta odgovara srednje sivoj nijansi, što je prezentacija normalne periferne zone. Ova nijansa sive boje služi kao referenca za

procenjivanje lezija kao hipoehogenih (tamnije nego normalna prelazna zona), izoehogenih (slična prelaznoj zoni) i hiperehogenih (svetlija od normalne prelazne)(McNeal JE., 1984, Pinthus JH., 2007).

U ranijim studijama hipoehogene lezije u prostati su se tradicionalno smatrale patognomoničnim znakom za CaP. Shinohara i sar. su u svojoj studiji pokazali da se 39% svih CaP prezentuju kao izoehogena, a 1% kao hiperehogena lezija na konvencionalnoj sivoj skali TRUS-a (Shionara K. i sar, 1989). Velika studija Onura iz 2004 godine na 4000 pacijenata pokazala je da je kod 25,5% pacijenata sa prisutnim hipoehogenim promenama detektovan CaP, a da od 25,4% pacijenata kod kojih nije detektovan karcinom 9,3% pacijenata je imalo hipoehogene promene, dok je izoehogene promene imalo 10,4% pacijenata (Onur R. i sar. 2004). Studija Toi i saradnika iz 2007. godine pokazala je da je verovatnoća detekcije karcinoma prostate duplo veća kada je na TRUS-u uočena i potom bioptirana hipoehogena lezija. Zaključili su da je identifikacija hipoehogenih lezija na TRUS-u značajna za detekciju CaP (Toi A. i sar, 2007).

Međim i druga patološka stanja na prostati se mogu prezentovati kao hipoehogena lezija kao što su granulomatozni prostatitis (Terris MK. i sar, 1997), infarkt prostate (Purohit RS. i sar, 2003) ili limfom (Varghese SL. & Grossfeld GD., 2000). To je razlog zašto se TRUS nije pokazao kao pouzdana metoda za otkrivanje CaP (Smeenge M. i sar, 2012). Noviji ultrazvučni modaliteti kao što su sonoelastografija i kontrastno poboljšani ultrazvuk mogu imati izvestnu ulogu u detekcije CaP, ali za sada nisu dovoljno ispitani i ne koriste se za rutinsku dijagnostiku (van Hove A., 2014). Multiparametrična magnetna rezonanca (mpMRI) kao najsavremenija dijagnostička metoda, pokazala je odličnu senzitivnost za detekciju i lokalizaciju CaP, naročito Glison skora >7, što je i dokazano poređenjem nalaza na definitivnim preparatima posle radikalne prostatektomije (Selnaes KM. i sar, 2012).

1.2.3. Biopsija prostate

Indikacija za biopsiju prostate postavlja se na osnovu nivoa PSA i/ili suspektnog nalaza na DRE. Pri donošenju odluke o biopsiji moraju se uzeti u obzir i mnogi drugi faktori. Pre svega godine starosti pacijenta, očekivana dužina preživljavanja, opšte zdravstveno stanje, familijarna istorija bolesti i eventualne terapijske opcije koje bi potom usledile. Treba se rukovoditi i samom željom pacijenta, ali uz procenu eventualnog morbiditeta biopsije. Svrstavanjem pacijenta u rizične grupe koji bi mogli imati CaP, a koji bi imali najviše koristi od postavljanja dijagnoze predstavlja jedan od načina da se smanji broj nepotrebnih biopsija (Roobol MJ. i sar, 2010).

Prva tehnika biopsije prostate bila je aspiraciona biopsija iglom (eng. *fine-needle aspiration biopsy*) transperinealnim putem uz pomoć igala od 16 *gauga* koja je davala relativno dobre rezultate. Tehika je dalje evoluirala u transrektalnu aspiracionu biopsiju sa zakrivljenim iglama i vodičem na kažiprstu koji se uvode u rektum. Palpacijom sumnjivog mesta, vrši se punkcija iglom kroz sluzokožu rektuma, a aspiracijom se uzima materijal za citološku analizu (Franzen S. i sar, 1960). Uvođenje TRUS-a krajem šezdesetih godina prošlog veka zamenilo je digitalno vođenu biopsiju prostate. TRUS je i uveden prvenstveno sa ciljem da se usmeri igla za biopsiju, a tek potom korišćen za identifikaciju hipoehogenih promena na prostati. Primenom originalne tehnike sekstantne TRUS biopsije prostate (po jedan uzorak iz apexa, sredine i baze prostate, bilateralno) značajno je povećana detekcija CaP (Hodge KK. i sar, 1989).

Pri inicijalnoj biopsiji prostate uzorci se uzimaju bilateralno od apeksa prema bazi prostate što više posterolateralno, u periferni deo prostate. Dodatni uzorci uzimaju se sa sumnjivih mesta viđenih na TRUS-u ili palpiranih na DRE. Ukoliko je prostata veća od 30-40 ml neophodno je uzeti najmanje 8 uzoraka. Uobičajeni broj uzoraka koji se preporučuje iznosi 10-12 (Donovan J. i sar, 2003). TRUS biopsija sa 12 isečaka danas se smatra standardnom dijagnostičkom procedurom (Bjurlin MA. i sar, 2013). Naime, uzima se po 6 uzoraka iz periferne zone svakog lobusa prostate. Po tri uzorka se uzimaju iz lateralnih delova lobusa i po tri uzorka u srednjoj sagitalnoj liniji, od baze do apeksa prostate.

Povećanje broja uzetih uzoraka na 18 ili 21 predstavlja takozvanu saturacionu biopsiju prostate, ali ona ne dovodi do značajnog povećanja stope detekcije CaP tokom inicijalne biopsije prostate. Pored toga, ako je CaP otkriven u ponovljenjoj biopsiji, posle inicijalne saturacione biopsije, veća je verovatnoća da se radi o klinički nesignifikantnom karcinomu (Li YH. i sar, 2014).

Ukoliko pri inicijalnoj biopsiji nije detektovan karcinom potrebno je ponoviti biopsiju nakon 3-6 meseci. Indikacije za ponovljenu biopsiju su sledeće:

- Rastući ili permanentno povišeni PSA;
- Suspektni DRE (Richie JP. i sar, 1993);
- Nalaz atipičnih proliferacija malih acinusa (eng. *Atypical small acinar proliferation*, ASAP) (Epstein JI. i sar, 2006);
- Ekstenzivna (preko 3 uzorka) Prostatična Intraepitelijalna Neoplazija Visokog Gradusa - HGPIIN (Merrimen JL. i sar, 2009);
- Nekoliko atipičnih žlezda neposredno pored HGPIIN-a (Kronz JD. i sar, 2001);
- Intraduktalni karcinom kao solitarni nalaz (Guo CC. & Epstein JI., 2006); i
- Pozitivni nalaz na multiparametričnom MRI.

Treća i četvrta biopsija indikovana je kod strogo selektovanih pacijenata kod kojih postoji opravdana sumnja na CaP sa lošim prognostičkim faktorima na prvoj i drugoj biopsiji (Djavan B. i sar, 2005).

Pri ponavljanim biopsijama mora se obratiti posebna pažnja na apeks prostate koji možda nije bio adekvatno uzorkovan na predhodnim biopsijama. Sigurno je da će korišćenje drugih načina biopsije kao što su mpMRI i TRUS sa kontrastnim pojačanjem uticati na dalje dijagnostičke procedure posle negativne biopsije (Volkin D. i sar, 2014).

Kao najčešća komplikacija biopsije javlja se hematospermia u 37,4%, potom hematurija koja traje duže od 1 dana u 14,5%. Sve ostale komplikacije su prisutne u malom procentu i obično su blagog do umerenog stepena težine. To su krvarenje iz rektuma koje traje manje od dva dana, prostatitis, temperatura preko 38,5, epididimitis, krvarenje iz

rektuma duže od dva dana sa ili bez hirurške intervencije, retencija urina i ostale komplikacije koje zahtevaju hospitalizaciju. Ozbiljnije infekcije posle biopsije zastupljene su sa manje od jedan posto, ali zbog razvoja antibiotske rezistencije pokazuju trend rasta (Loeb S. i sar, 2013).

1.3. Prostata specifični antigen (PSA)

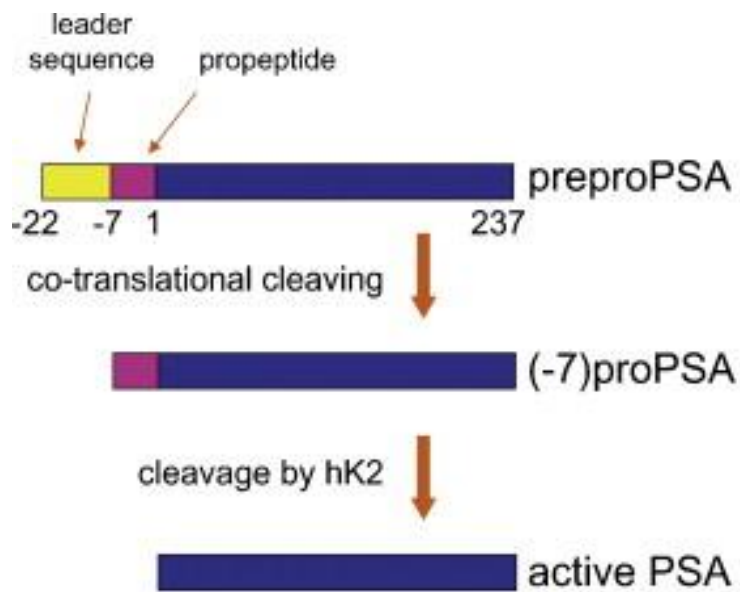
Od otkrivanja PSA u serumu 1979 godine i početka njegove kliničke primene, PSA je postao nezamenljivo sredstvo za dijagnozu CaP, određivanje stadijuma njegovog razvoja i praćenje rezultata različitih metoda lečenja pacijenata sa CaP (Stamey TA. i sar, 1987).

1.3.1. Sinteza i hemijska struktura PSA

Prostata specifični antigen (PSA) poznat i kao humana kalikrein peptidaza 3 (hK3) član je kalikreinske genske grupe. Prvobitno su identifikovana samo tri gena iz ove familije kalikreina: pankreatični/bubrežni kalikrein (hK1), humani kalikrein 2 (hK2) i PSA (hK3) (McCormack RT. i sar, 1995). Danas je identifikovano još 12 kalikreinskih gena. Proteinski produkti ove familije gena smeštene u lokusu q13.2-q13.4 dugog kraka humanog hromozoma 19 su serin proteaze (Yousef GM. & Diamandis ER., 2001).

PSA je enzim koji se oslobađa iz prostatičnog epitela u formi zimogena koji se naziva preproPSA koja sadrži vodeću sekvencu od 17 amino-kiselina. Proteolitičkom degradacijom vodeće sekvence nastaje inaktivni proenzim proPSA dužine od 244 amino-kiselina. ProPSA ili (-7) proPSA (p7PSA) takođe sadrži vodeći lanac od 7 amino-kiselina. Degradacijom ove vodeće sekvence nastaje zreli molekul PSA čija je dužina 237 amino-kiselina (Meng FJ. i sar, 2002) (slika 3). Nepotpuna degradacija vodećeg lanca proPSA rezultuje nastajanjem drugih skraćenih formi: (-2)proPSA (p2PSA), (-4)proPSA (p4PSA) i

(-5)proPSA (p5PSA) koje su predominantno prisutne u perifernoj zoni prostate (Ljilja H. & Weiber H., 1984; Ljilja H. i sar., 1985).



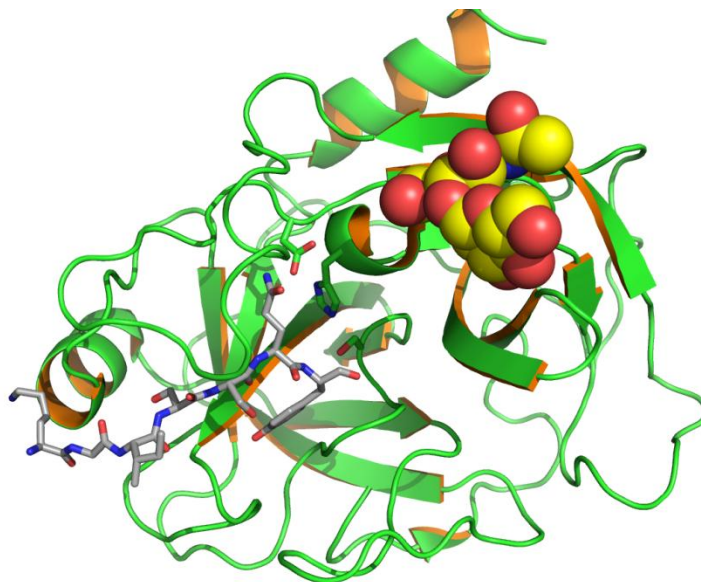
Slika 3. Sazrevanje molekula PSA proteolitičkom degradacijom preproPSA.

(Modifikovano Jansen FH et al.,2009)

Molekulska masa PSA iznosi 34 kDa. Molekul PSA sadži oko 92% peptida i oko 8% ugljenih hidrata (slika 4). Kao i većina serin proteaza, molekul PSA je u najvećoj mjeri vezan za endogene inhibitore proteaza od kojih je najznačajni antihimotripsin. I hK2, kao i hK3, obzirom na strukturalnu homolognost kao i sintezu u prostatičnom epitelu, mogu da formiraju komplekse sa endogenim inhibitorima (Lilja H. i sar, 1997).

PSA je u serumu zastupljen u više molekularnih formi (izoformi). Od totalnog PSA, 60-95% u serumu sačinjava kompleksni PSA (cPSA), koji se nalazi u konjugovanoj formi. Od toga, 70-80% PSA je vezano za alfa-1-antihimotripsin (ACT) u ireverzibilnoj formi, 5%-10% vezano je za alfa-2 makroglobulin (AMG), 1-2% za alfa-1 proteinaza inhibitor (API), a za inter-alfa-tripsin inhibitor manje od 0,1%. U nevezanoj formi, kao slobodni PSA (eng. *freePSA*, fPSA) nalazi se u oko 10-15% (McCormac RT i sar, 1995). Molekul fPSA ne pokazuje proteolitičku aktivnost i verovatno je učinjen inaktivnim u epitelijalnim

ćelijama prostate, pre nego što se otpusti u cirkulaciju. Pored toga, fPSA ne formira komplekse sa antiproteazama, cirkuliše slobodan u serumu, i moguće ga je detektovati postojećim esejima (Ljilja H. i sar, 1991; Vegvari A. i sar, 2010).



Slika 4. Hemijska struktura PSA.

(Slika dostupna na URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Prostate-specific_antigen)

1.3.2. Biološka uloga prostata specifičnog antigena

Molekul PSA kao serin proteaza katalizuje hidrolizu brojnih proteina. Fiziološki, glavna uloga PSA je likvefakcija semenog koaguluma proteolitičkim dejstvom na semenogelin i fibronektin, proteine zadužene za formiranje gela u spermi, odmah nakon ejakulacije (Ljilja H. & Weiber H., 1984). Na ovaj način omogućava se bolja pokretljivost spermatozoida u semenoj tečnosti, što ima značajan uticaj na fertilitet (Peehl D., 1995). Takođe, predpostavlja se i da ima značajnu ulogu u rastvaranju sluzi grlića materice čime se olakšava prodor spermatozoida u matericu. PSA deluje i na druge supstrate, kao npr. na protein vezan za faktor rasta sličan insulinu (eng. *insuline-like growth factor binding protein-3*, IGFBP-3) (Cohen P. i sar, 1992). Takođe, poznata je uloga PSA u katalitičkoj

degradaciji proteina vanćelijskog matriksa, fibronektina i laminina. Inhibicija proteolitičke aktivnosti PSA rezultira smanjenjem invazije na bazalnu membranu ćelija karcinoma. Ovi nalazi ukazuju da PSA kao i njoj slične proteaze imaju značajnu ulogu u invaziji karcinoma i pojavi metastaza (Webber MM. i sar, 1995).

Kod zdravih muškaraca, čvrsta i tesno povezana prostatična glandularna arhitektura ima funkciju da ograniči enzimski aktivni PSA unutar prostate. Zbog toga, samo minimalna količina PSA prelazi u cirkulaciju gde se nalazi u milion puta manjoj koncentraciji nego u semenoj tečnosti (Sensabaugh GF., 1978; Stephan C. i sar, 2007). Meng i sar. pokazali su da je na ćelijskom nivou ekspresija PSA slična i u benignim i u malignim ćelijama prostate. Povećanje nivoa PSA u serumu nastaje kao posledica oštećenja ćelijske arhitekture u žlezdanom tkivu (Meng FJ. i sar, 2002).

Izmerene koncentracije PSA u semenoj tečnosti su kreću u opsegu 0,5-5mg/mL, a u serumu muškaraca preko 50 godina starosti i bez oboljenja prostate, između 1-4ng/mL (Catalona WJ. i sar, 1991; Beede-dimer JL. i sar, 2008). Imunohistohemijskim metodama, moguće je detektovati ekspresiju proteina PSA u tkivu prostate kod novorođenčadi do šestog meseca starosti, a potom, posle desete godine života. Ovi nalazi govore u prilog direktne korelacije PSA sa povećanjem nivoa testosterona u serumu. Naime, PSA postaje detektabilan u serumu tek u pubertetu sa značajnijim porastom nivoa luteinizirajućeg hormona i testosterona (Stamey TA. i sar, 1987).

1.3.3. Serumske vrednosti prostata specifičnog antigena

Kako ga predominantno produkuju epitelne ćelije žlezdanog tkiva prostate, PSA se može smatrati markerom specifičnim za prostatu, ali kako ga produkuju i maligne i neizmenjene ćelije, ne može se smatrati markerom za karcinom (Catalona WJ. i sar, 1991). Sem toga, pojedina patološka stanja na prostati mogu da dovedu do povećanja njegove koncentracije u serumu, od kojih je većina tranzitorna, dok npr. operacije na prostati (Stamey TA. i sar, 1987) i korišćenje pojedinih lekova značajno menjaju njegove vrednosti (Guess HA. i sar, 1993). U malim koncentracijama, PSA je prisutan u endometriju,

tkivu dojki, humanom mleku, serumu žena sa karcinomom dojke, pluća i grlića materice, kao i kod karcinoma bubrega (Monne M. i sar, 1994).

Koncentracije PSA, kod zdravih muškaraca, bez CaP, variraju u zavistnosti od godina starosti, rase i volumena prostate. Kod muškaraca koji nemaju benignu hiperplaziju prostate (BPH), registruje se promena nivoa PSA od 0,04ng/mL na godišnjem nivou. Nasuprot tome, kod pacijenata sa BPH porast PSA je znatno veći i iznosi 0,07- 0,27ng/mL godišnje (Carter HB. i sar, 1992). Kirkali i sar. pokazali su da sa porastom volumena prostate, rastu i vrednosti PSA i to za 4% po mililitru prostatičnog tkiva. Takođe, isti autori navode da je 30% razlike u serumskoj koncentraciji PSA zavisno od volumena prostate, a samo 5% razlike zavisno od godina starosti (Kirkali Z. i sar, 1995). PSA vrednosti se menjaju sa godinama starosti, sa tendencijom povećanja naročito između šeste i sedme decenije života. Zbog toga se referentne vrednosti korigovane godinama starosti mogu primenjivati u dijagnostici CaP naročito kod osoba starijih od 60 godina (Kirolos MM. i sar, 1997).

Od ranije je poznata činjenica da Afro-amerikanci imaju više nivoe PSA u serumu od svih drugih rasa. Fowler je u svom radu pokazao da benigno prostatično tkivo kod muškaraca crne rase oslobađa znatno više PSA u serum nego što je to slučaj kod muškaraca bele rase (Fowler JE. i sar, 1999).

Na promenu nivoa PSA u serumu može uticati i povećanje indeksa telesne mase (eng. *body mass index*, BMI). Pokazalo se da pacijenti sa većim BMI imaju niže vrednosti PSA u odnosu na pacijente sa uobičajenom telesnom težinom. S obzirom na ove nalaze, kod gojaznih osoba, rano otkrivanje CaP može biti otežano i uobičajne granične vrednosti PSA treba uzimati sa rezervom (Fowke J. i sar, 2006).

Na serumske vrednosti PSA utiču i manipulacije na prostati kao što su masaža prostate pri rektalnom pregledu, kojom se vrednosti PSA mogu povećati i do dva puta. Biopsija prostate, a naročito hirurške intervencije na prostati (transuretralna resekcija prostate - TURP) mogu povećati vrednosti PSA i do 60 puta u odnosu na bazičnu vrednost (Stamey TA. i sar, 1987). Ejakulacija može da dovede do tranzitornog povećanja vrednosti

PSA, kod muškaraca starijih od 50 godina (Tchetgen MB. i sar, 1996). Za razliku od starijih osoba, kod muškaraca između 30 i 40 godina starosti, ejakulacija ne utiče bitno na promene u nivou PSA (Kirkali Z. i sar, 1995).

Bavljenje pojedinim sportovima takođe može da dovede do prolaznog porasta nivoa PSA. Primećeno je da dugotrajne vožnje biciklom mogu da povećaju koncentraciju PSA u serumu i do 10% (Mejak SL. i sar, 2013).

Razlike u vrednostima PSA mogu se javiti i u zavisnosti od godišnjeg doba. Simsek i sar. su u svom istraživanju pokazali da postoje sezonske varijacije PSA sa najvećim povećavanjem vrednosti u proleće (Simsek U. i sar, 1992).

Na vrednosti PSA može da se odrazi i interakcija alfa-2-makroglobulina i PSA, gde visoke koncentracije alfa-2-makroglobulina mogu da maskiraju povišene koncentracije PSA i daju lažno niže vrednosti PSA (Honda SAA. i sar, 1996).

Iako svi ovi faktori mogu da dovedu do malih promena nivoa PSA u serumu, pri čemu su većinom tranzitorni, bolesti prostate (BPH, CaP, prostatitis) kao i njihovo lečenje, ostaju najvažniji faktor koji dovode do značajnijih promena PSA (Wang MC. i sar, 1981). Hirurško lečenje CaP i BPH, dovode do smanjenja nivoa PSA, smanjenjem volumena prostatičnog epitela koje produkuje PSA (Ercole CJ. i sar, 1987). Inhibitori 5 alfa reduktaze kao što su Finasterid i Dutasterid snižavaju nivo PSA i do 50% posle 12 meseci upotrebe (Guess HA. i sar, 1993).

1.3.4. PSA kao biohemijski marker karcinoma prostate

Prošlo je više od 25 godina od uvođenja PSA u rutinsku kliničku praksu, kao markera za ranu detekciju. Nema sumnje da je PSA doveo do revolucionarnih promena u dijagnostici CaP. Velike randomizovane kliničke studije pokazale su značajno smanjenje smrtnosti od CaP kao posledicu široko primenjivanog PSA testiranja i sledstveno ranog otkrivanja CaP (Huggoson J. i sar, 2010; Schroder FH. i sar, 2012).

Međutim, PSA nije idealan marker i ima svoja ograničenja kao skrining test. Primarno ograničenje PSA ogleda se u nemogućnosti jasnog razlikovanja benignog i malignog oboljenja prostate (Stamey TA. i sar, 1987). Ovo se naročito odnosi na opseg 2-10ng/mL gde benigna i maligna stanja često ko-egzistiraju tzv. dijagnostička siva zona. Davno je postalo jasno da pri vrednostima PSA do 4ng/mL, što se nekad smatralo graničnom vrednošću, značajan broj ljudi ima CaP (Thompson IM. i sar, 2004). Ovakva granična vrednost od 4ng/mL, bazirana je na studijama u kojima su ispitivane vrednosti PSA kod zdravih muškaraca posle 40 godina starosti. Pokazalo se da 97% ispitanih muškaraca ima vrednosti PSA ispod 4ng/mL. (Nogueira L. i sar, 2009). Mystri i sar. su u svojoj meta analizi ukazali na nisku specifičnost PSA u detekciji CaP. Utvrđena je pozitivna prediktivna vrednost PSA oko 25%, što dovodi do velikog broja lažno pozitivnih rezultata (Mystri K. i sar, 2003). Ovako niska pozitivna prediktorna vrednost PSA dovodi do 75% nepotrebno urađenih biopsija prostate sa svim komplikacijama koje je prate (Postma R. i sar, 2005).

Dalji nedostatak PSA je njegova nemogućnost razlikovanja klinički nesigifikantne od agresivnije forme CaP što za posledicu ima suvišne dijagnostičke procedure i dalje nesvrshodno lečenje (eng. *overdetection and overtreatment*). Zbog ovog glavnog nedostatka PSA, procenjuje se da je 50% pacijenata uključenih u Evropski skrining program nesvrshodno lečeno zbog nalaza nesigifikantnog tumora (Draisma G. i sar, 2009). Nomogram prikazan na tabeli 4 pokazuje rizik od postojanja CaP kao i njegove agresivnije forme, pri niskim vrednostima PSA (ispod 4ng/mL), što ukazuje da ne postoji optimalna granična vrednosti za detekciju nepalpabilnog, ali klinički sigifikantnog CaP (Dong F. i sar, 2008).

Tabela 4. Rizik od postojanja CaP i GS \geq 7 pri vrednostima PSA < 4ng/mL

Nivo PSA(ng/mL)	Rizik od CaP (%)	Rizik od GS \geq 7 (%)
0,0-0,5	6,6	0,8
0,6-1,0	10,1	1,0
1,1-2,0	17,0	2,0
2,1-3,0	23,0	4,0
3,1-4,0	26,9	6,7

1.4. Derivati prostata specifičnog antigena

U cilju povećana prediktivne vrednosti PSA prema CaP početkom devedesetih godina prošlog veka uvedeni su pomoćni derivati PSA kao što su PSA gustina (eng. *PSA Density*), dinamika rasta PSA u funkciji vremena (eng. *PSA Velocity*), udvostručenje bazične vrednosti PSA tokom vremena (eng. *PSA Doubling time*), procentualni odnos slobodnog prema ukupnom PSA (%PSA) kao i izoforme slobodnog PSA.

1.4.1. PSA-Gustina (*PSA Density*)

PSA-Gustina (PSAD) definiše se kao odnos vrednosti serumskog PSA i volumena prostate izmerenog pomoću transrektalnog ultrazvuka. Ovaj derivat PSA prvi put je uveden 1992. godine od strane Benson i saradnika. Autori su pokazali da je prosečna vrednost PSAD kod lokalizovanog CaP bila 0,58 ng/mL/ccm, a kod pacijenata sa BPH 0,04 ng/mL/ccm. Najveća korist ovog parametra prisutna je pri vrednostima PSA 4-10ng/mL. Ako je vrednost PSAD veća od 0,15 verovatnoća da pacijent ima CaP je 82%. Ukoliko su vrednosti manje od 0,10 ng/mL/ccm preporučuju se samo redovne kontrole (Benson MC. i sar, 1992).

Međutim, po pitanju njegove granične vrednosti nije bilo konsenzusa. Seaman i sar. su pokušali da ukažu na povezanost povećanih vrednosti PSAD i rizika od postojanja CaP. Predložene su granične vrednosti između 0,10-0,18ng/mL/ccm kad bi trebalo razmotriti odluku o biopsiji prostate (Seaman EK. i sar, 1994). Bazinet i saradnici istakli su da je verovaroća postojanja CaP manja od 1% ukoliko je PSAD manji od 0,15 ng/mL/ccm (Bazzinet M. i sar, 1994). Nasuprot tome, Catalona i saradnici su u svojoj multicentričnoj studiji zaključili da korišćenje granične vrednosti $>0,15$ nije pouzdano i ako bi se ona koristila za odluku o biopsiji, polovina karcinoma bi ostalo neotkriveno (Catalona WJ. i sar, 1994 god.).

Pored nedostatka konsenzusa oko njegove granične vrednosti, kao njegov glavni nedostatak navodi se nedovoljna preciznost merenja volumena prostate koja zahteva primenu transrektalnog ultrazvuka, kao i zbog invazivnosti same procedure (Loeb S. i sar, 2005).

1.4.2. Dinamika rasta PSA u funkciji vremena (*PSA Velocity*)

Dinamika rasta PSA u funkciji vremena (PSAV) definiše se kao promena nivoa PSA vrednosti tokom praćenja u dužem vremenskom periodu. Carter i saradnici su pokazali da je ovaj parametar značajan prediktor za CaP sa senzitivnošću od 72 % i specifičnošću od 95 %, pri vrednostima PSA 4-10 ng/mL. Godišnji porast PSAV veći od 0,75 ng/mL može da ukaže na postojanje nepalpabilnog karcinoma i više godina pre njegove detekcije, pa je neophodna biopsija prostate (Carter HB. i sar, 1992).

Međutim, upotreba ovog parametra za detekciju CaP još uvek je diskutabilna tema. Studije su ukazale na limitirani dokaze da PSAV ima značajnu prediktivnu vrednost u detekciji CaP u odnosu na sam PSA (Vickers AJ. i sar, 2009; Etzioni RD. i sar, 2007). Carter i sar. su u studiji iz 2006. godine pokazali da pacijenti sa vrednostima PSAV većim od 0,35 ng/mL na godišnjem nivou, imaju veću šansu od smrtnog ishoda u narednih 10-15 godina u odnosu na pacijente sa vrednostima PSAV manjim od 0,35 ng/mL. (Carter HB. i

sar, 2006). D' Amico i sar. navode njegov veći značaj kao prediktora agresivnosti tumora. Pokazali su da pacijenti sa preoperativnim vrednostima PSAV preko 2ng/mL imaju 9.8 puta veći relativni rizik od smrtnog ishoda usled CaP (D'Amico AV. i sar, 2005 god).

1.4.3. Udvostručenje bazične vrednosti PSA tokom vremena (PSA Doubling time)

Udvostručenje bazične vrednosti PSA tokom vremena (PSADT) predstavlja udvostručenje vrednosti bazičnog nivoa PSA posmatranog tokom određenog vremenskog perioda (meseci ili godina). Ovaj parametar može se koristiti u praćenju pacijenata pre i posle terapije CaP. Dokazano je da je povećanje njegovih vrednosti tokom praćenja pacijenata posle radikalnog lečenja udruženo sa progresijom bolesti, učestalijom pojavom biohemijskih recidiva, razvojem udaljenih metastaza i povećanjem ukupnog mortaliteta (Freedland SJ. i sar, 2005).

PSADT se pokazao kao mnogo bolji parametar u određivanju agresivnosti tumora u odnosu na njegov značaj za detekciju tumora. Paund i saradnici su dokazali da je PSADT značajan u predviđanju rizika i vremena za razvoj metastatske bolesti od CaP (Pound CR. i sar, 1999). Loeb i saradnici su, poredivši značaj PSAD i PSAV u predviđanju prisustva agresivne forme karcinoma, dokazali da je PSAV mnogo bolji parametar za predikciju agresivne forme bolesti (Loeb S. i sar, 2008).

1.5. Slobodni PSA

S obzirom da se PSA testiranjem nije uspelo napraviti jasna razliku između pacijenata sa CaP i BPH, svi dalji naponi bili su usmereni ka pronalaženju novih biomarkera koji bi mogli da povećaju specifičnost PSA za detekciju CaP. Slobodna forma PSA (fPSA), odnosno njegov odnos prema totalnom PSA (%fPSA), prepoznat je kao najbolji kandidat. Slobodni oblik PSA sačinjava 5-45% totalnog PSA. Prisutan je u

nevezanoj formi jer ne pravi komplekse sa inhibitorima proteaze u serumu (Ljilja H. i sar, 1991).

Kod muškaraca sa CaP, PSA produkovan od strane tumorskih ćelija učestalije stvara kompleks sa ACT, čime se smanjuje mogućnost njegove proteolitičke aktivnosti. Na ovaj način dolazi do povećanja njegove koncentracije kao kompleksne forme (PSA-ACT) i procentualnim smanjenjem totalnog PSA kao slobodne forme, za razliku od muškaraca koji nemaju CaP (Ljilja H. i sar, 1991). Ova saznanja dovela su do razvoja imunoeseja kojim se može detektovati fPSA, čime bi se povećala specifičnost PSA u detekciji CaP i time smanjio broj nepotrebno urađenih biopsija prostate.

1.5.1. Odnos slobodnog prema totalnom PSA (%fPSA)

Američka agencija za hranu i lekove (eng. *Food and Drug Administration*, FDA) je 1998. godine odobrila upotrebu %fPSA, kao biohemijskog markera, kod muškaraca sa nivoom PSA od 4-10ng/mL i negativnim nalazom na DRE (Partin AV. i sar, 1998). Toj odluci su najviše doprineli Catalona i sar. koji su u svojoj studiji zaključili da se korišćenjem %fPSA može smanjiti broj nepotrebnih biopsija za 20%, koristeći graničnu vrednost od 25%, pri čemu se detektuje 95% karcinoma sa minimalnim gubitkom senzitivnosti. Snižavanjem granične vrednosti na 22% pri senzitivnosti od 90%, specifičnost testa je iznosila 29%, pri čemu je moguće izbeći jednu trećinu nepotrebno urađenih biopsija. Niže vrednosti %fPSA bile su u korelaciji sa povećanjem rizika od postojanja CaP, ali je odabir odgovarajuće granične vrednosti otežan pre svega zbog delimične zavisnosti %fPSA od godina starosti, volumena prostate i vrednosti tPSA (Catalona WJ. i sar, 1998).

Ustanovljeno je da postoji direktna korelacija %fPSA sa godinama i da je zbog rastućeg trenda potrebno korigovati njegovu graničnu vrednost da bi se održala konstantna senzitivnost od 95%. Ukoliko je granična vrednost fiksirana na 25%, detektovaće se 98% CaP u grupi pacijenata od 50-59 godina, u starijoj grupi pacijenata od 60-69 godina detektovaće se 94% CaP i u grupi pacijenata preko 70 godina 90% CaP. Od ukupnog broja

pacijenata kod kojih je dijagnostikovano CaP, 71% je radikalno operisano. Patohistološki nalaz pokazao je da su ti pacijenti imali manje agresivan oblik bolesti ukoliko su vrednosti %fPSA bile iznad zadate granične vrednosti od 25%. Studija je pokazala da je rizik od karcinoma visok (55%) kada su vrednosti %fPSA bile u rangu od 0-10% i da je rizik opadao sa porastom vrednosti %fPSA. Pri vrednostima %fPSA preko 25%, rizik od postojanja karcinoma iznosio je 5-9%. Time su pokazali da je moguće individualno svrstavanje pacijenata u grupe sa niskorizičnim i agresivnim formama karcinoma, što može da olakša odluku o potrebi za biopsijom. Generalno gledano, stariji pacijenti su imali veći rizik od postojanja karcinoma u odnosu na mlađu populaciju. Korišćenje granične vrednosti od 25%, preporučeno je bez obzira na godine pacijenta i volumen prostate. U multivarijantnom modelu koji su koristili u studiji, dokazali su i da je %fPSA nezavisni prediktor CaP za razliku od godina starosti i nivoa tPSA (Catalona WJ. i sar, 1998).

I drugi autori su pokušali da utvrde koja je to granična vrednost koja bi optimizovala %fPSA testiranja. Christensson i sar. su 1993. godine koristeći graničnu vrednost 18%, ukazali na značajno poboljšanje u razlikovanju pacijenata sa i bez CaP, u poređenju sa korišćenjem samo PSA testiranja (Christensson A. i sar, 1993). Korišćenjem graničnih vrednosti od 14% do 28%, pri senzitivnosti od 70-95%, pokazalo se da se može izbeći 20-65% nepotrebnih biopsija prostate, u rangu PSA od 4-10ng/mL (Pound CR. i sar, 1997; Partin AW. i sar, 1998; Vassela RL. i sar, 2000). Iako ni jedna apsolutna granična vrednost za %fPSA nije uspostavljena, većina studija navodi da su vrednosti ispod 10% u korelaciji sa CaP, a da vrednosti preko 25% ukazuju na manju verovatnoću postojanja CaP (Roddam AW. i sar, 2005). U poređenju sa drugim derivatima PSA, kao što su PSA gustina, PSA brzina, PSA gustina tranzitorne zone, studije su pokazale da je %fPSA znatno bolji marker za detekciji CaP (Djavan B. i sar, 1999; Fuzery AK. i sar, 2013).

Pojedini autori su ukazali na mogućnost korišćenja %fPSA za procenu agresivnosti tumora. Serijskim merenjem %fPSA iz zamrznutih seruma ranije biopsiranih pacijenata u svojoj retrospektivnoj studiji, Carter i sar. su došli do zaključka o postojanju značajne razlike u vrednostima %fPSA između agresivnih i indolentnih tumora (Carter HB. i sar, 1992). Ukazali su da promena nivoa %fPSA tokom vremena može da pruži uvid u prirodu

CaP. Gotovo dekadu i po kasnije, Masieri i sar. su takodje istakli da niske vrednosti %fPSA mogu da ukazu na klinički agresivniju formu tumora (Masieri L. i sar 2012).

Pored značaja u proceni agresivnosti CaP, %fPSA može ukazati i na rizik od biohemijskog relapsa, na šta su ukazali Shariat i sar. prateći 402 bolesnika posle radikalnog operativnog lečenja. Pokazano je da postoji nezavisna korelacija izmedju niskog %fPSA i biohemijskog recidiva bolesti. (Shariat SF. i sar, 2006). Nalazi njihove studije bili su u suprotnosti sa radom Grafena i sar. koji su deceniju ranije na nešto većoj seriji bolesnika (ukupno 698 bolesnika) došli do suprotnog zaključka. Ova studija nije uspela da pokaže da je %fPSA prediktivni marker agresivnosti CaP i biohemijskog recidiva bolesti (Grafen M. i sar, 2002).

Slično kao i kod tPSA, na vrednosti %fPSA utiču manipulacije na prostati. Zbog toga pojedini autori preporučuju merenje koncentracije %fPSA posle operativnih manipulacija na prostati tek nakon nekoliko nedelja (Lein M. i sar, 1997).

Takođe, razlike u standardizacijama različitih imunoeseja, kao i rukovanje uzetim uzorcima, ima reperkusije na koncentraciju %fPSA. Čak i minimalne promene u koncentracijama tPSA, mogu biti praćene značajnim promenama nivoa fPSA, što se posledično odražava na promene u kalkulaciji %fPSA. Piironen i sar. su ukazali na činjenicu da se oko 1% slobodnog PSA gubi po satu ukoliko serum nije centrifugiran, odnosno oko 3% slobodnog PSA gubi na dan, ukoliko se serum čuva na sobnoj temperaturi. Iz tih razloga danas se smatra standardom promptno zamrzavanje seruma na -70 °C i dalje čuvanje na ovoj temperaturi. (Piironen T. i sar, 1996). Slično kao i kod tPSA, na koncentraciju fPSA može da utiče i upotreba pojedinih lekova, kao što su inhibitori 5 alfa reduktaze, dovodeći do smanjenja njegove koncentracije u serumu (Pannek J. i sar, 1998).

1.5.2. Izoforme slobodnog PSA

Uprkos početnom uspehu slobodnog PSA, odnosno %fPSA u smislu uspešnije dijagnostike CaP, vrlo brzo se javila potreba za pronalaženjem boljih i osetljivijih markera. Sva istraživanja su bila usmerena ka daljem raščlanjivanju slobodnog PSA kao tada novog markera, koji je donekle povećao specifičnost PSA u detekciji CaP. Vrlo brzo su studije potvrdile hipotezu da se slobodni PSA sastoji od najmanje tri različite vrste enzimski inaktivnog PSA: benigni PSA (BPSA), intaktni PSA i pro PSA (Mikolajczyk SD. i sar, 2002).

BPSA je degradirana subforma PSA koja je identična nativnom, zreom PSA. BPSA sadrži 237 amino kiselina kao i PSA, ali ima dva unutrašnja peptidna lanca na pozicijama Lys 182 i Lys 145. Imunohistohemijska analiza je pokazala da se BPSA predominantno nalazi u prostatičnoj tranzitornoj zoni, u kojoj nastaje nodularna hiperplazija povezana sa nastankom BPH (Mikolajczyk SD. i sar, 2000 a,b). Sam po sebi, serumski BPSA ne može da napravi diferencijaciju između BPH i CaP, ali u kombinaciji sa p2PSA može da doprinese razlikovanju karcinoma od BPH (Rhodes T. i sar, 2012 b). De Vries i sar. su pokazali da je BPSA u tesnoj korelaciji sa prostatičnim volumenom, ali da verovatno nema nikakav prognostički kapacitet za razlikovanje indolentnih karcinoma od agresivnih formi (de Vries SH. i sar, 2005).

Intaktni PSA čini 39% slobodnog PSA i predominantno je prisutan u tranzitornoj zoni prostate, kao i BPSA. Komponente intaktne forme fPSA, nisu sasvim razjašnjene, ali se zna da mogu imati neke manje varijacije, tako da je ova forma dosta slična nativnom, aktivnom PSA. Pojedine strukturalne i konformacijske promena u njegovoj strukturi čine ga enzimski neaktivnim (Nurmikko P. i sar, 2001). Preliminarne studije su pokušale da ukažu na klinički značaj odnosa intaktnog PSA i fPSA u cilju poboljšanja pouzdanosti detekcije CaP (Steuber T. i sar, 2002). Međutim, ova istraživanja su koristila immunoeseje intaktnog PSA u koji je uključen i proPSA, što je otežalo utvrđivanje prediktivne vrednosti samog intaktnog PSA (Peltola MT. i sar, 2011). Kao samostalni marker nije našao mesto u

kliničkoj praksi i prvenstveno se koristi kao deo multikalikreinskog panela (Vickers AJ. i sar, 2008).

ProPSA (pPSA) je jedna od identifikovanih formi, koja čini 33% fPSA, za koju se pokazao veliki interes kao mogućeg markera za detekciju CaP. Otkriveno je nekoliko izoformi proPSA u serumu koje se razlikuju po broju aminokiselina u vodećem lancu. Teoretski, postoji 7 izoformi proPSA iako ih je do danas identifikovano 5. Za sada postoje dokazi za izoforme sa 7 predvodećih amino-kiselina (p7PSA), sa 5 amino-kiselina (p5PSA), sa 4 amino-kiseline (p4PSA), sa dve amino-kiseline (p2PSA) i jednom amino-kiselinom (p1PSA). Izoforme sa 3 i 6 predvodećih amino-kiselina još uvek nisu identifikovane (Peter J. i sar, 2001). Sve ove skraćene forme su enzimski inaktivne i ne prave komplekse sa serumskim inhibitorima proteaza (Jansen FH. i sar, 2009). Postojećim imunoesejima mogu se detektovati p2PSA, p4PSA i p5,7PSA od kojih je p2PSA najstabilnija serumaska forma (Mikolajczyk SD. i sar, 2002). Istraživanja su pokazala da je p2PSA značajno povišen u perifernoj zoni prostate kod pacijenata sa CaP, kao i njegove serumске koncentracije, što ga čini dobrim markerom za razlikovanje pacijenata sa i bez CaP (Mikolajczyk SD. i sar, 2001).

1.6. ProPSA kao biološki marker karcinoma prostate

ProPSA prisutan je skoro isključivo u perifernoj zoni prostate, u kojoj nastaje najveći procenat CaP, dok je u tranzitornoj zoni prostate praktično nedektabilan (Mikolajczyk SD. i sar, 2000c). Skraćene forme proPSA su prvi put otkrivene u serumu pacijenata obolelih od CaP 1997. godine (Mikolajczyk SD. i sar, 1997). Izlaganjem seruma pacijenata sa CaP hidrofobičnoj hromatografiji, Mikolajczyk i sar., uspeali su da razdvoje proPSA u njegove skraćene forme p5, 7PSA, p4PSA, p2PSA (Mikolajczyk SD. i sar, 1997). Redosled amino-kiselina pokazao je da se proPSA sastoji prvenstveno od njegove skraćene forme, koja sadrži vodeći peptid sastavljen od dve amino-kiseline (nastale cepanjem između leucina 5 i serina 6 propeptida) (p2PSA). Pri postojanju ćelijske destrukcije, ova enzimski inaktivna forma, cirkuliše u serumu kao fPSA i može

predstavljati njegov najveći udeo kod pacijenata sa CaP (Mikolajczyk SD. i sar, 1997). Time je serumski proPSA skrenuo pažnju na sebe kao potencijalno specifičniji marker za CaP, i da se njegovom upotrebom mogu prevazići trenutna ograničenja PSA u pouzdanosti razlikovanja karcinoma od benignih stanja na prostati.

1.6.1. Klinički značaj proPSA kao markera karcinoma prostate

Sokoll i sar. su prvi procenili potencijalni klinički značaj proPSA kao novog markera u ranoj detekciji CaP. U retrospektivnoj studiji sa zamrznutim uzorcima seruma uzetih od 119 pacijenata pre izvodjenja biopsije, pri nivou PSA 2,5-4ng/mL, analizirali su vrednosti tPSA, fPSA, i proPSA (gde je proPSA predstavljen zbirno kao p2,4,5,7PSA izoforma). Nije nađena razlika u prosečnim vrednostima tPSA i %fPSA između pacijenata sa i bez CaP, dok je prosečna vrednost %proPSA ($\text{proPSA}/\text{fPSA} \times 100$) bila veća kod pacijenata sa CaP (50,1% vs 35,5%). Da bi procenili kliničku korist pojedinih markera, korišćenjem ROC analize, pokazali su da %proPSA ima znatno veću površinu ispod ROC krive (AUC) u odnosu na %fPSA (0,688 vs 0,567) ukazujući time na njegovu veću specifičnost za detekciju CaP. Dostižući senzitivnost od 75%, specifičnost za %proPSA bila je 59%, naspram 33% specifičnosti za %fPSA. Time su pokazali da se korišćenjem %proPSA, u rangu PSA 2,5-4ng/ml, može potencijalno detektovati 75% CaP uz smanjenje broja nepotrebnih biopsija za 59%, za razliku od %fPSA, gde bi broj nepotrebnih biopsija bio smanjen za 33% (Sokoll LJ. i sar, 2003).

Ove rezultate potvrdili su Catalona i sar. koji su poredili različite izoforme proPSA (p2PSA, p4PSA, p5,7PSA) sa PSA i fPSA, dokazavši da %2pPSA ($\text{p2PSA}/\text{fPSA} \times 100$) ima najveću specifičnost od svih drugih varijabli pri PSA 2-4ng/ml (Catalona WJ. i sar, 2003). U narednoj studiji Catalona i saradnici, su korišćenjem seruma pacijenata iz prethodne studije pokazali da %proPSA ne samo da povećava specifičnost PSA za ranu detekciju prostate već i da je moguće identifikovati pacijente sa agresivnom formom CaP. Korišćenjem granične vrednosti za %proPSA od 1,8% uspeali su da detektuju 90% karcinoma i to stoprocentno ekstrakapsularnih tumora i 96,6% CaP sa Glison skorom >7.

Pokazano je da se korišćenjem ove granične vrednosti moglo izbeći 19% nepotrebnih biopsija prostate (Catalona WJ. i sar, 2004).

Mikolajcayk i saradnici, dokazali su da komponente fPSA, BPSA i proPSA različito koreliraju sa BPH i sa CaP. Tokom 2004. godine, retrospektivno analizirajući serum od 380 pacijenata, pokazali su da kod pacijenata sa %fPSA preko 25%, %p2PSA ima najveću sposobnost razlikovanja pacijenata sa i bez karcinoma. Koristeći graničnu vrednost od 2.5%, senzitivnost %p2PSA za detekciju CaP (pri PSA 2-4ng/mL i %fPSA većim od 25%) bila je 90%, što bi smanjilo broj nepotrebnih biopsija za 36%. Međutim, kod grupe pacijenata sa %fPSA manjim od 15%, %proPSA ima veći prediktivni značaj sa specifičnošću od 36% pri 90% senzitivnosti, nego %p2PSA sa specifičnošću od 21% (Mikolajcayk SD. i sar, 2004).

Khan i saradnici pokazali su da se kod pacijenata kod kojih je %fPSA manji od 15%, %p2PSA i odnos proPSA/BPSA mogu biti korisni dopunski markeri u povećanju specifičnosti %fPSA (Khan MA. i sar, 2003). Multivarijantnom analizom su pokazali da su proPSA i %fPSA signifikantni prediktori agresivnog CaP pri nivou PSA 4-10ng/mL, ali se pokazalo da sama veličina prostate (preko 60 ml) može da smanji njihovu specifičnost. Ova studija ukazala je da bi se korišćenjem proPSA mogla napraviti razlika između pacijenata sa klinički nesignifikantnom i agresivnom formom CaP.

1.6.2. Izoforma p5,7PSA

Razvojem imunoeseja specifičnih za p5,7PSA u serumu, započeto je i ispitivanje njihove upotrebne vrednosti za detekciju CaP. Studija Bangma i sar. kod pacijenata sa PSA 1-10ng/mL nije uspela da dokaže da p5,7PSA testiranja mogu poboljšati specifičnost fPSA za razlikovanje pacijenata sa i bez CaP. Takođe, nije nađena ni korelacija ovih markera sa agresivnošću tumora (Bangma CH. i sar, 2004). Potom su to potvrdili Lein i sar. u multicentričnoj studiji na 2055 pacijenata, pri vrednostima PSA 4-10ng/mL. Površina ispod ROC krive nije pokazivala signifikantnu razliku između p5,7PSA, proPSA/fPSA, tPSA,

%fPSA (Lein M. i sar, 2005). Studija Stephan i sar, takođe nije potvrdila da p5,7PSA može da poveća specifičnost %fPSA u predviđanju ishoda biopsije (Stephan C. i sar, 2006).

Nasuprot ovim studijama, Miyakubo i saradnici su pokazali da p5,7PSA ima skromno veću specifičnost od %fPSA za predikciju CaP, ali se pokazala manje specifičnim u odnosu na PSA gustinu (Miyakubo M. i sar, 2009). Uprkos limitiranim dokazima o ulozi p5,7PSA za ranu detekciju CaP, Stephan i sar. su ukazali na potencijalnu ulogu u razlikovanju agresivnog od nisko-rizičnog CaP. Kod 376 pacijenata kod kojih je učinjena laparoskopska radikalna prostatektomija, odnos p5,7PSA i %fPSA signifikantno se razlikovao kod pacijenata sa G2 i G3, pT2 i pT3 i Glison <7 i >7, pri nivou tPSA 1-25ng/mL. Time su ukazali da bi p5,7PSA mogao imati ulogu u predviđanju agresivne forme tumora (Stephan C. i sar, 2007). Uopšteno gledano, većina studija nije dokazala da p5,7PSA ima bolju prediktivnu vrednost nego %fPSA ili neki od drugih derivata PSA, za detekciju CaP pri vrednostima tPSA<10ng/mL.

1.6.3. Izoforna p2PSA

Interesovanje za p2PSA kao boljeg markera za detekciju CaP u odnosu na prethodno korišćene markere, proisteklo je iz radova Mikolajcayka i saradnika. Svojim inicijalnim istraživanjem, pokazali su da je ova skraćena forma proPSA prevashodno prisutna u perifernoj zoni prostate gde nastaje većina CaP, a da je neznatno prisutna u prelaznoj zoni koja se povezuje sa razvojem BPH (Mikolajcayk SD. i sar, 2000 c). Isti autori su u narednoj studiji, analizirajući serume pacijenata sa i bez CaP, pokazali da su serumski nivoi p2PSA značajno veći kod pacijenata sa CaP nego kod pacijenata bez karcinoma (Mikolajcayk SD. i sar, 2001).

Ispitujući klinički značaj p2PSA, Sokoll i sar. su retrospektivno analizirali serume 123 pacijenta kod kojih je urađena biopsija prostate. Vrednosti PSA su se kretale u rasponu 0,48-33,18ng/mL. Analizirane su različite forme PSA (%fPSA, p2PSA, %p2PSA, BPSA, p2PSA/BPSA) i procenjivan njihov odnos prema CaP. Pokazalo se da su vrednosti %fPSA bile značajno niže kod pacijenata sa CaP nego kod pacijenata sa benignim nalazom na

biopsiji. Nasuprot tome, vrednosti p2PSA i %p2PSA bile su značajno veće kod pacijenata sa CaP. Isti rezultat pokazao se i pri umereno povišenim vrednostima PSA 2-10ng/mL, gde je ROC analizom pokazano da je AUC za %p2PSA (0,73) u poređenju sa %fPSA (AUC 0,53) i drugim markerima bio znatno veći, čineći ga boljim markerom za detekciju CaP. Uključivanjem ispitivanih parametara u multivarijantni regresioni logistički model pokazalo se da %p2PSA ostaje najznačajni prediktivni marker za CaP sa najvećom površinom ispod ROC krive (Sokoll LJ. i sar, 2008).

Naredna studija Sokoll i sar, ukazala je na potencijalnu korelaciju između p2PSA i agresivnosti tumora. Oni su ukazali da %p2PSA ima jednake prediktivne sposobnosti, kao i PSA i %fPSA, u celokupnoj studijskoj populaciji pri PSA 0,29-310,6ng/ml. U nižim, a za dijagnozu izazovnijim nivoima PSA 2-4ng/mL, %p2PSA se pokazao signifikantno boljim od %fPSA. Pored toga, autori su pokazali da povećane vrednosti %p2PSA i samog p2PSA mogu da budu u korelaciji sa povećanjem Glison skora (Sokoll LJ. i sar, 2010).

Uključivanje p2PSA u različite matematičke modele, pokazalo se boljom opcijom u odnosu na pojedinačne forme PSA za detekciju karcinoma prostate. Stephan i sar. razvili su Veštačku Neuralnu Mrežu (eng. *Artificial Neural Network* - ANN) u koju su uključeni različiti parametri: tPSA, %fPSA, %p2PSA, godine starosti pacijenta i volumen prostate. Iste parametre uključili su i u konvencionalni logistički regresioni model. Oba modela pokazala su da imaju veću specifičnost za detekciju CaP nego pojedinačni parametri samostalno. Uključivanjem volumena prostate, i u jedan i u drugi model, specifičnost se nije značajno promenila. Ovakav nalaz, ukazao je na dodatnu prednost modela obzirom da su bili zasnovani samo na laboratorijskim parametrima, bez potrebe da se određuje volumen prostate (Stephan C. i sar, 2009).

Praćenjem promena nivoa p2PSA tokom vremena pojedini autori su ukazali na mogućnost njegove potencijalne kliničke upotrebe u predviđanju razvoja CaP. Rhodes i sar. proučavali su promene u koncentracijama p2PSA u kombinaciji sa povećanjem broja godina, povećanjem volumena prostate i naknadnim otkrivanjem CaP. Njihova studija je pokazala da se koncentracija p2PSA u serumu povećava sa godinama, kao i sa povećanjem volumena prostate. Najveće promene u vrednostima p2PSA zabeležene su kod pacijenata

kod kojih se vremenom razvio CaP. Porast vrednosti p2PSA iznosio je 8,1% na godišnjem nivou, u odnosu na 3,5% kod pacijenata bez karcinoma (Rhodes T. i sar. 2012 a). U narednoj studiji, isti autori su ispitali povezanost p2PSA, godina života i volumena prostate kod dve grupe pacijenata različite rasne pripadnosti. Prvu grupu su sačinjavali belci, a drugu Afro-Amerikanci. Rhodes i sar. su pokazali da Afro-Amerikanci imaju veći bazični nivo p2PSA u serumu u odnosu na pacijente bele rase. Prateći pacijente tokom vremena pokazali su da belci sa većim bazičnim nivoom p2PSA imaju 8 puta veći rizik za naknadnu dijagnozu CaP u odnosu na pacijente sa nižim bazičnim nivoima p2PSA. Autori su zaključili da merenje bazičnog nivoa p2PSA kao i promene u njegovoj koncentraciji tokom vremena, mogu biti korisni prediktori razvoja CaP (Rhodes T. i sar. 2012 b).

Sve ove studije pokazale su da je p2PSA najrelevantnija od svih drugih izoformi slobodnog PSA jer se pokazalo da ima najveću prediktornu vrednost za dijagnozu CaP u sivoj zoni PSA 2-10ng/mL.

1.6.4. Prostata zdravstveni indeks (PHI) i %p2PSA

Prepoznavši ulogu p2PSA u ranoj detekciji CaP, Beckman Coulter Inc. razvio je matematički algoritam u koji je inkorporiran tPSA, fPSA i p2PSA, a koji predstavlja Prostata Zdravstveni Indeks (eng. *Prostate Health Index-PHI*). Definiše se formulom: $PHI = (p2PSA/fPSA) \times (tPSA)^{1/2}$. U Evropi je upotreba PHI kod pacijenata sa PSA 2-10ng/mL i nesuspetknim DRE odobrena od samog nastajanja 2010. godine, dok je u Americi FDA dala odobrenje 2012. godine (Loeb S. & Catalona WJ, 2014).

Za razliku od standardnih markera za detekciju CaP (tPSA, %fPSA i PSAD) koji su pokazali dosta nepouzdanosti, p2PSA i njegovi derivati, %p2PSA i PHI, u brojnim studijama u kojima su ispitivane njihove karakteristike, nametnuli su se kao potencijalno bolji i specifičniji za detekciju CaP (Jansen FH. i sar, 2010).

Da bi uporedili značaj %p2PSA i PHI za detekciju CaP u odnosu na standardne markere, Guazzoni i saradnici su 2011. godine uradili prospektivnu studiju na 268 muškaraca sa vrednostima PSA od 2 do 10 ng/mL. Svi pacijenti su imali negativni DRE i bili su planirani za inicijalnu biopsiju prostate. Karcinom je detektovan kod 108 pacijenata, pri čemu su vrednosti %p2PSA i PHI bili značajno veće u odnosu na pacijente kojima nije detektovan CaP. Univarijantnom analizom takođe je dokazano da ovi parametri imaju značajno veću efikasnost u detekciji CaP u odnosu na standardne parametre. U multivarijantnoj analizi pokazano je da su %p2PSA i PHI značajno unapredili efikasnost standardnog dijagnostičkog modela u koji su uključeni tPSA, %fPSA i PSAD i to za 10 i 11% (Guazzoni G. i sar, 2011).

Jedna od najbitnijih karakteristika svakog kvalitetnog markera jeste održavanje njegove visoke specifičnosti i senzitivnosti uz istovremeno izbegavanje velikog broja nepotrebnih biopsija. Pored ispitivanja uloge p2PSA i PHI u detekciji CaP na inicijalnoj biopsiji ispitivan je i njihov potencijal za detekciju u ponovljenim biopsijama (Scattoni V. i sar, 2013). U multicentričnoj prospektivnoj studiji, Lazzeri i saradnici uključili su 646 pacijenata sa vrednostima tPSA od 2 do 10 ng/mL koji su bili u planu za inicijalnu biopsiju. Pri graničnim vrednostima za PHI od 27,6 i %p2PSA od 1,22%, dijagnostikovano je 90% CaP uz mogućnost smanjenja broja nepotrebnih biopsija za 15,5% i 17%. Specifičnost za PHI je iznosila 19,4%, a za %p2PSA 22,8%, što se pokazalo boljim u poređenju sa standardnim tPSA testiranjem kod koga je specifičnost iznosila 15,7% (Lazzeri M. i sar, 2013 god.).

Sprovedene su i brojne, opsežne studije u cilju identifikacije eventualnog značaja %p2PSA i PHI u detekciji agresivnih formi CaP. U prospektivnu multicentričnu studiju Sokolla i saradnika uvršteno je 566 pacijenata kojima je ispitivana potencijalna korelacija %p2PSA i agresivnosti CaP. Ova studija je dokazala povezanost povećane koncentracije %p2PSA sa povećanjem Glison skora i pogoršanjem simptoma bolesti (Sokoll LJ. i sar, 2010). Ovi rezultati potvrđeni su i u drugim eksperimentalnim studijama na velikim grupama ispitanih pacijenata sa CaP (Catalona WJ. i sar, 2011; Stephan C. i sar, 2013; Guazzoni G. i sar, 2012; Heidegger I i sar, 2014). Iz navedenih studija zaključuje se da

%p2PSA i PHI predstavljaju značajan faktor ne samo u detekciji, nego i u predikciji agresivnosti CaP.

Aktivno praćene je uvedeno kao strategija za smanjenje rizika od nepotrebne terapije kod pacijenata sa niskorizičnim CaP. Ovakav pristup lećenju podrazumeva i ponavljane biospije svake jedne do dve godine, što je povećavalo rizik od svih komplikacija povezanih sa biopsijom (Zaytoun OM. i sar, 2011) Zato je bilo neophodno uložiti napor u pronalaženju efikasnijih tumorskih markera kako bi se što bolje predvidela biološka priroda tumora kod pacijenata na programu aktivnog praćenja. Prve studije su pokazale obećavajuće rezultate u smislu koristi p2PSA i njegovih derivata kod pacijenata na programu aktivnog praćenja. Rezultati studije Makarova i saradnika pokazali su da je koncentracija %p2PSA bila značajno viša kod pacijenata koji su imali pozitivan nalaz na ponovljenoj biopsiji (Makarov DV. i sar, 2009). Na osnovu ovih rezultata, Makarov i saradnici su zaključili da %p2PSA i PHI u kombinacija sa DNK analizama bioptiranog tkiva imaju 70% veću efikasnost u predikciji CaP potvrđenih biopsijom na godišnjoj redovnoj kontroli u sistemu aktivnog praćenja. Ovi rezultati su potvrđeni i u narednim studijama (Tosoian JJ. i sar, 2012; Hirama H. i sar, 2014).

2. Ciljevi rada

Ciljevi ovog rada su:

1. Utvrditi senzitivnost, specifičnost, pozitivnu i negativnu prediktivnu vrednost p2PSA i njegovih derivata PHI i %p2PSA za ranu detekciju CaP kod pacijenata sa vrednostima PSA od 2 do 10 ng/mL.
2. Utvrditi prediktivni značaj p2PSA i njegovih derivata, %p2PSA i PHI, u detekciji agresivnih formi CaP (Glison skor ≥ 7).
3. Proceniti značaj vrednosti PHI ≥ 55 u otkrivanju CaP i njegove agresivne forme (Glison skor ≥ 7).

3. Ispitanici i metode

3.1. Ispitanici

U Klinici za urologiju Kliničkog centra Srbije sprovedena je studija preseka. Studijom su obuhvaćeni svi konsekutivni pacijenti koji su pregledani u vremenskom periodu od dve godine (januara 2012. godine do januara 2014. godine), a koji su zadovoljili kriterijume studije:

- Pacijenti starosti 50 i više godina;
- Pacijenti bez prethodne istorije CaP;
- Uredan nalaz pri DRE;
- Pacijenti sa vrednostima PSA od 2-10ng/mL
- Pacijenti sa patohistološkim nalazom rađenim na materijalu sa 12 i više isečaka prilikom transrektalne ultrazvučno vođene biopsije prostate (TRUS biopsija prostate).

Takođe, u okviru ove studije definisani su i kriterijumi za isključivanje pacijenata iz analizirane grupe, a to su:

- Pacijenti koji su ranije uzimali lekove koji utiču na vrednosti PSA (Finasterid, Dutasterid);
- Pacijenti koji su ranije imali hirurške intervencije na prostati (TURP, biopsija prostate i sl.);
- Akutni prostatitis;
- Infekcija urinarnog trakta;
- Prethodna terapija anti-androgenima; i
- PSA van opsega 2-10 ng/mL.

Na osnovu anamnestičkih podataka proveravana su prva dva kriterijuma za isključivanje pacijenata iz ove studije. Svim pacijentima je iz periferne krvi određivana kompletna krvna slika sa leukocitarnom formulom kao i standardne biohemijske analize

(glikemija, urea, kreatinin, elektroliti, jetrini enzimi, lipidni status i sl.). Određivane su i vrednosti C-reaktivnog proteina da bi u korelaciji sa DRE i simptomatologijom donjeg urinarnog trakta isključilo postojanje akutnog infektivnog procesa na prostati. Mikroskopski pregled sedimenta urina i urino kultura rađena je zbog procene postojanja akutne urinarne infekcije. Radi provere da li su pacijenti uzimali anti-androgenu terapiju ili ne određivana je i vrednost serumskog testosterona.

Procena koagulacionog statusa (PT, PTT, INR) je bila neophodna zbog planirane biopsije prostate, a u cilju smanjenja rizika od krvarenja.

Prilikom selekcije, svaki pacijent je bio upoznat sa procedurom i njenim mogućim komplikacijama, što je potvrdio sopstvenim potpisom u informisanom pristanku. Na osnovu zadatih kriterijuma, ova studija obuhvatila je ukupno 129 pacijenata.

3.2. Metode

3.2.1. Određivanje serumskih vrednosti PSA i njegovih derivata

Svim pacijentima koji su zadovoljili kriterijume za uključivanje u studiju određivane su serumske vrednosti PSA, fPSA, p2PSA iz uzoraka pune periferne krvi nakon dvanaestočasovnog gladovanja, a pre bilo kakve manipulacije na prostati (DRE, TRUS, masaža ili biopsija prostate). Uzorkovanje je vršeno u epruvete bez antikoagulanasa. Nakon koagulacije uzorka i centrifugiranja, serum je odvajan u roku od 2h nakon uzorkovanja, alikvotiran i skladišten na -20°C.

Uzorci krvi su testirani u biohemijskoj laboratoriji Klinike za urologiju. Određivanje tPSA, fPSA i p2PSA vršeno je na aparatu Access® Immunoassay Systems korišćenjem Hybritech PSA, Hybritech FreePSA i Hybritech® p2PSA testova firme Beckman Coulter®. Testovi su zasnovani na korišćenju hemiluminescentnih metoda uz primenu paramagnetnih čestica, koji se zasnivaju na dvostepenom imunoenzimskom „sendvič“ određivanju. Analit (tPSA, fPSA, p2PSA) iz seruma vezuje se za imobilizovana

monoklonalna anti-analit antitela kojima su obložene paramagnetne čestice. U isto vreme se za drugo antigeno mesto na analitu vezuju monoklonalna anti-analit antitela konjugovana sa alkalnom fosfatazom. Nakon inkubacije, materijal vezan za paramagnetne čestice se zadržava u magnetnom polju, dok se slobodan materijal uklanja ispiranjem. U reakcionu smešu se zatim dodaje hemiluminescentni supstrat Lumi-Phos 530. Reakcija dovodi do produkcije svetlosti koja se meri luminometrom. Intenzitet svetlosti je direktno proporcionalan koncentraciji analita u uzorku. Sva procedura vršena je prema uputstvu proizvođača.

Određivanje vrednosti PSA, fPSA, p2PSA, i njegovih derivata je sprovedena po principu dvostruko slepe probe.

Prostata zdravstveni index (PHI) predstavljen je međusobnim matematičkim odnosom p2PSA, fPSA i ukupnog PSA i izračunava se formulom $PHI = (p2PSA / fPSA \times PSA^{1/2})$, a međusobni odnos p2PSA i fPSA određivan je formulom $\%p2PSA = (p2PSA/fPSA \times 100)$.

3.2.2. Digito-rektalni pregled

Pre izvođenja TRUS biopsije, a posle vađenja periferne krvi za određivanje vrednosti ispitivanih biomarkera, svakom pacijentu je rađen digito rektalni pregled. Procenjujvana je veličina prostate i upoređivana sa nekim od poznatih oblika (kesten, orah i sl.). Ispitivana je ograničenost prema okolini kao i postojanje sulkusa, odnosno žleba između lateralnih lobusa prostate. Najveći akcenat stavljen je na procenu njene homogenosti i konzistencije.

Normalan nalaz na prostati, podrazumeva da je homogena u celini, glatke površine, elastična, mekana, upoređuje se sa konzistencijom tenara dlana. Svaka nehomogenost prostate, prisutnost induracija, tvrdina, čvorića kao i neograničenost prema okolini, suspektna je na CaP. Pacijenti sa ovakvim nalazom na DRE nisu razmatrani u našoj studiji. Takođe procenjujvana je i prisutnost bola pri palpaciji kao i postojanje eksprimata posle DRE koji bi mogli da ukažu na postojanje infektivnog procesa.

3.2.3. TRUS biopsija prostate i patohistološka analiza bioptiranog tkiva

Pre samog izvođena TRUS biopsije prostate pacijenti su bili jasno informisan o svim rizicima i benefitima ove procedure.

Ukoliko su pacijent uzimali antikoagulantnu terapiju (Varfarin i njemu slični lekovi) ista je obustavljena 7-10 dana pre procedure. Po normalizaciji INR (<1,5) pristupalo se intervenciji kod pacijenata sa malim rizikom od nastanka tromboembolijskih komplikacija. Kod pacijenata sa povišenim rizikom od tromboembolije, kao npr. sa veštačkim valvulama bilo je potrebno preklapanje Varfarina sa nisko-molekularnim heparinom.

Priprema za TRUS biopsiju podrazumevala je započinjanje antibiotske oralne terapije Ciprofloksacinom dva puta dnevno u dozi od 500mg i Metronidazola od 500mg tri puta dnevno, dan uoči zakazane intervencije. Terapija je nastavljena narednih 9 dana Ciprofloksacinom i 4 dana Metronidazolom. Noć uoči intervencije pacijenti su uzimali laksativna sredstva (Dulcolax 2 tablete) radi čišćenja creva zbog bolje vizuelizacije tokom intervencije, odnosno obezbeđivanja boljeg akustičnog prozora za ultrazvučni pregled. Neposredno pre izvođena procedure (45 minuta), svim pacijentima je aplikovana intramuskularna injekcija Gentamicina u dozi od 120mg i Diklofenak-natrijuma u dozi od 75mg. Kod većine pacijenata, u cilju smanjenja bolnosti procedure, vršena je topična aplikacija 20 ml 2% lidokain gela direktno u rektum.

Sama intervencija izvođena je posle 20 minuta što se pokazalo kao optimalno vreme za dejstvo lokalnog anestetika na sluznicu rektuma i smanjenje bola prilikom uzimanja isečaka. Kod pojedinih pacijenata intevencija se izvodila u periprostatičnom bloku, odnosno sa lokalnom infiltracionom injekcijom 2% lidokaina u količini od 5ml, oko nervih snopova prostate. Infiltracija je rađena u nivou semenih kesica i vrata mokraćne bešike, bilateralno, u periprostatično masno tkivo, koje se jasno vidi TRUS-om. Pacijenti su zauzimali levi dekubitulni položaj sa savijenim kolenima i kukovima pod 90 stepeni.

Zadnjica pacijenta bila je u ravni sa krajem stola da bi manipulacija sondom i pištoljem za biopsiju bila olakšana.

TRUS dijagnostika kao i TRUS biopsija prostate rađena je na ultrazvučnom aparatu "Toshiba" model SSA-240A, sa rektalnom sondom od 5MHz, model PVL-516S, koja u sebi ima inkorporiran kanal za uvođenje igle za TRUS biopsiju.

Pregled je počinjan sagledavanjem prostate i okolnih struktura. Posteriorno lokalizovana centralna i periferna zona prostate, u kojoj nastaje najveći procenat karcinoma, pokazuje homogeniji, hiperehogeni izgled, dok je anteriorno lokalizovana tranzitorna zona više heterogena. Optimalno podešavanje kontrasta odgovara srednje sivoj nijansi, što je slika, odnosno nijansa, normalne periferne zone. Ova nijansa sive boje služi kao referenca za procenjivanje lezija kao hipoehogenih (tamnije nego normalna prelazna zona), izoehogenih (slična prelaznoj zoni) i hiperehogenih (svetlija od normalne prelazne zone).

Kompletna TRUS evaluacija prostate podrazumevao je pregled i u sagitalnoj i u transverzalnoj ravni radi određivanja volumena prostate. Formule koje se koriste za izračunavanje volumena prostate zahtevaju merenje tri dimenzije prostate. U aksijalnom planu, transferzalni i anteroposteriorni dijametar meri se u najvećem poprečnom promeru. Longitudinalni dijametar se meri u sagitalnoj ravni nedaleko od srednje linije. Većina formula izračunava volumen prostate kao da je u pitanju pravilni geometrijski oblik, elipsa ili sfera, a potom koristi odgovarajuće korekcije za dobijanje preciznog volumena prostate. Periferna i centralna zona su detaljno evaluirani u smislu otkrivanja hipoehogenih promena koje su nam od najvećeg interesa jer mogu biti suspektne na CaP. Sagledavane su konture prostate, odnosno postojanje eventualnih nepravilnosti.

Korišćeni ultrazvučni aparat obezbeđuje odličnu vizualizaciju puta igle jer ima vodič na ekranu kojim se omogućava precizan ulazak igle na tačno željeno mestu u prostati. Za uzimanje isečaka prostate koristili smo standardne biopsione igle dijametra 16,5mm (16G), dužine 200mm, kao i automatski pištolj za biopsiju.

Standardno smo uzimali 12 uzoraka (proširena šema biopsije prostate) po tačno određenoj šemi, čime se postiže maksimalna detekcija CaP. Uzimano je po 6 isečaka iz svakog lobusa prostate, počevši od apeksa prema bazi prostate, i to što je moguće dalje posterolateralno, iz perifernog dela prostate. Dopunske uzorke smo uzimali sa sumljivih, hipoeogenih mesta koji su detektovani na TRUS-u. Bioptirani uzorci prostate su smatrani validnim ukoliko su neprekinuti i dužine bar 10mm. Uzeti isečci su skladišteni u posude sa 10% formalinom u šest odvojenih i označenih posuda. Po dva uzorka su stavljana u svaku posudu iz iste regije, posebno apex, baza i srednji deo periferne zone, iz levog i desnog lobusa prostate. Obeležavanje posuda u kome se nalaze uzorci uzeti iz levog ili desnog lobus prostate je neophodno, ukoliko se planira operacija prostate sa očuvanjem nerava (eng. *nerve sparing*), da bi znali u kom lobusu prostate se nalazi karcinom.

Priprema biopsijskih isečaka prostate i mikroskopski pregled preparata obavljen je na odeljenju patologije Kliničkog Centra Srbije (KCS). Iz parafinskih kalupa obrađenog tkiva prostate, na standardnom hematoksilin-eozin (H&E) bojenju određen je histološki tip, gradus tumora, Glison gradus (zbirni od 2 do 10) i patohistološki stadijum CaP.

U odnosu na patohistološki nalaz svi pacijenti su podeljeni na pacijente sa CaP i one sa benignim nalazom označenim kao BPH (ova grupa obuhvatala je sve ne maligne nalaze: BPH, hronični prostatitis, ASAP, HG PIN). Grupa pacijenata sa CaP je u zavisnosti od procenjenog Glison skora na patohistološkom nalazu, podeljena na dve grupe: pacijenti sa $GS \leq 6$ i pacijenti sa $GS \geq 7$. Pacijenti sa benignim nalazom, odnosno odustvom CaP, korišćeni su kao kontrolna grupa.

3.2.4. Statistička analiza

U ovoj studiji korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode.

Od deskriptivnih statističkih metoda korišćeni su:

- Apsolutni i relativni brojevi (n,%)
- Mere centralne tendencije (aritmetička sredina, medijana)

- Mere disperzije (standardna devijacija, interval varijacije, interkvartilni raspon)

Od analitičkih statističkih metoda korišćeni su testovi razlike i analiza povezanosti. Od testova razlike, korišćeni su parametarski (t test) i neparametarski (Mann-Whitney U test, Hi-kvadrat test). Navedeni testovi korišćeni su za ispitivanje značajnosti razlike između dve grupe pacijenata u odnosu na ispitivano obeležje posmatranja. T test je korišćen kod podataka čija je raspodela normalna, dok je Mann-Whitney U test korišćen kod obeležja posmatranja čija raspodela nije normalna. Hi kvadrat test je korišćen za atributivna obeležja posmatranja. Obeležja posmatranja koja su atributivna i imaju svojstvo gradacije, testirana su Hi-kvadrat testom za trend.

Za ispitivanje povezanosti, odnosno predikcije, korišćena je binarna logistička regresiona analiza. Kao zavisna varijabla uzeto je prisustvo karcinoma prostate ili agresivnost tumora (merena pomoću Glison skora). Nezavisne varijable činile su vrednosti PSA i njegovih derivata. Izračunat količnik šanse predstavljen je zajedno sa 95% intervalom poverenja. Hosmer-Lemeshow test je korišćen za kalibraciju modela.

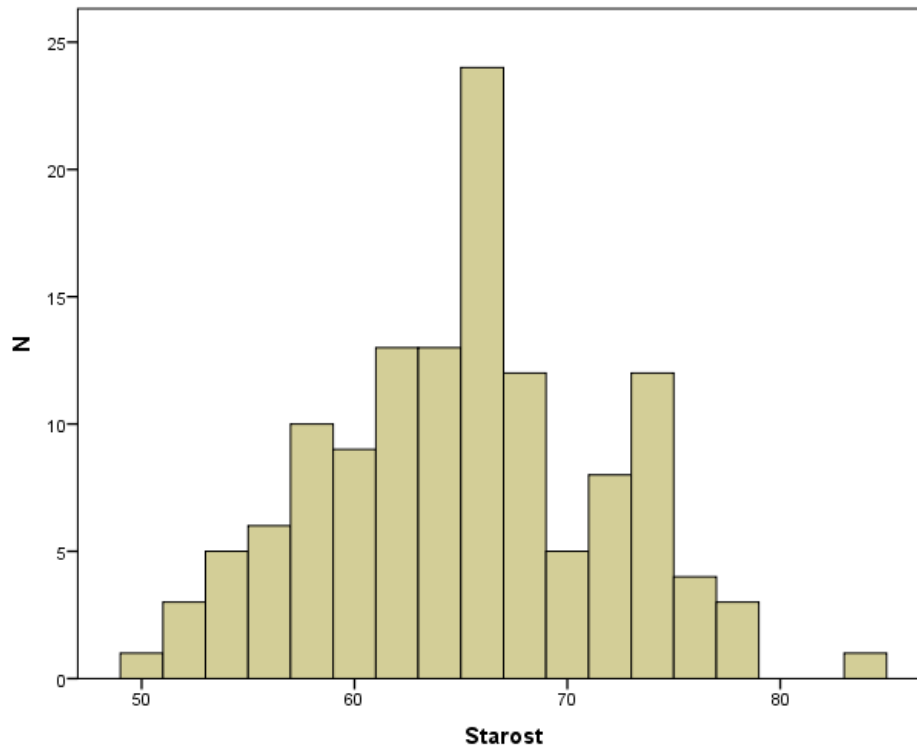
ROC analiza korišćena je za ispitivanje diskriminacione moći ispitivanih parametara i izračunavanje potencijalne granične vrednosti (eng. *cut off*). ROC analizom prikazana je senzitivnost, specifičnost, pozitivna prediktivna vrednost (PPV), negativna prediktivna vrednost NPV i odnos verodostojnosti (LR+ i LR-).

Svi rezultati su predstavljeni tabelarno i grafički. Sve p vrednosti manje od 0,05 korišćene su kao vrednosti za odbacivanje nulte hipoteze. Podaci su obrađeni u SPSS 20,0 (IBM korporacija).

4. Rezultati

4.1. Rezultati selekcije pacijenata prema kriterijumima studije

U ovoj studiji učestvovalo je ukupno 129 pacijenata muškog pola. Prosečna starost ispitanika bila je $64,6 \pm 6,6$ godina. Najmlađi pacijent u studiji imao je 50 godina starosti dok je najstariji imao 83 godine. Distribucija pacijenata po starosti je prikazana grafički (Grafikon 2).



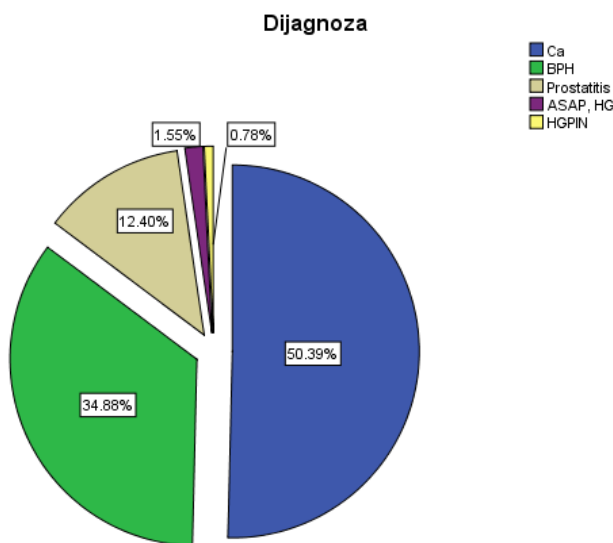
Grafikon 2. Distribucija analiziranih pacijenata po starosti

Pacijenti u ovoj studiji imali su nekoliko različitih dijagnoza. Distribucija pacijenata u odnosu na dijagnoze prikazana je u tabeli 5. Ova distribucija prikazana je i grafički (Grafikon 3).

Tabela 5. Distribucija analiziranih pacijenata u odnosu na dijagnozu

	N	%
CaP	65	50,4
BPH	45	34,9
Prostatitis	16	12,4
ASAP, HG	2	1,6
HGPIN	1	0,8
Ukupno	129	100,0

CaP – karicnom prostate, BPH – benigna hiperplazija prostate; ASAP – atipična proliferacija malih acinusa; HG – visok gradus, HGPIN – prostatična intraepitelna neoplazija visokog gradusa



Grafikon 3. Dijagram distribucije analiziranih pacijenata u odnosu na dijagnozu

Kao što se vidi iz tabele 5, kod 50,4% pacijenata dijagnostikovano je CaP, dok su kod 49,6% pacijenata dijagnostikovane benigne bolesti prostate, od kojih je najčešća benigna hiperplazija prostate (BPH grupa pacijenata).

Prosečna starost pacijenata sa i bez CaP je upoređena, da bi se utvrdilo da li je starost pridruženi faktor u daljim analizama. Deskriptivna statistika starosti u odnosu na

navedene grupe prikazana je u tabeli 6. Prosečna starost bila je gotovo identična u obe grupe. Testirajući ovu razliku t testom utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između grupa po starosti ($t=1,082$; $p=0,281$). Ovi rezultati ukazuju da starost nije pridruženi faktor koji bi se razmatrao u daljim analizama.

Tabela 6. Prosečna starost pacijenata u grupama sa i bez CaP

	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
BPH	64,03	6,63	65	60,5	66,5	50	83
CaP	65,29	6,60	66	60,0	71,0	51	78

\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum

4.2. Rezultati određivanja vrednosti PSA i njegovih derivata i Glison skora

Iz uzoraka periferne krvi pacijenata urađene su laboratorijske analize date u poglavlju 3.2.1. Deskriptivna statistika ispitivanih parametara prikazana je u tabeli 7.

Tabela 7. Vrednosti analiziranih parametara – PSA i njegovih derivata kao i GS

	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
tPSA (ng/mL)	6,03	1,97	6,13	4,58	7,39	1,57	10,04
fPSA (ng/mL)	1,02	0,58	0,91	0,63	1,29	0,17	3,10
%fPSA	16,85	7,69	16,26	11,42	20,31	0,16	41,30
p2PSA (pg/mL)	19,12	14,88	14,93	11,19	21,28	4,28	101,21
%p2PSA	2,00	1,12	1,73	1,32	2,40	0,49	7,95
PHI	46,96	25,79	41,94	30,63	55,61	14,74	200,25
Glison skor	6,40	0,79	6	6	7	4	9

\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum

4.3. Rezultati analize PSA i njegovih derivata kao markera za CaP

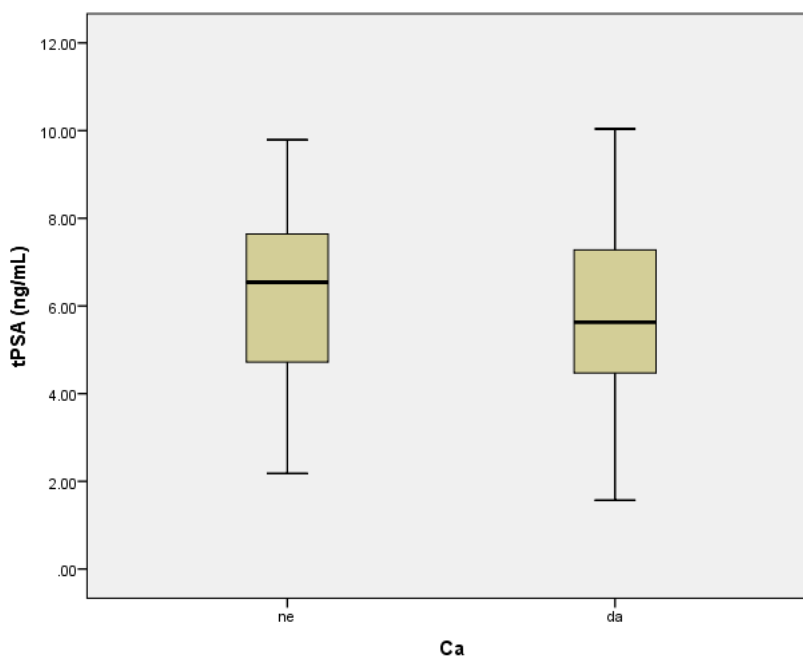
4.3.1. Rezultati analize tPSA kao markera za CaP

Deskriptivna statistika tPSA u odnosu na CaP je prikazana u tabeli 8. Iz tabele se vidi da je prosečna vrednost tPSA manja kod pacijenata sa CaP. Ipak, na osnovu rezultata t testa utvrđeno je da ova razlika nije statistički značajna ($t=-1,233$; $p=0,220$). Rezultati su i grafički prikazani (Grafikon 4).

Tabela 8. Vrednosti tPSA u grupama bolesnika sa i bez CaP

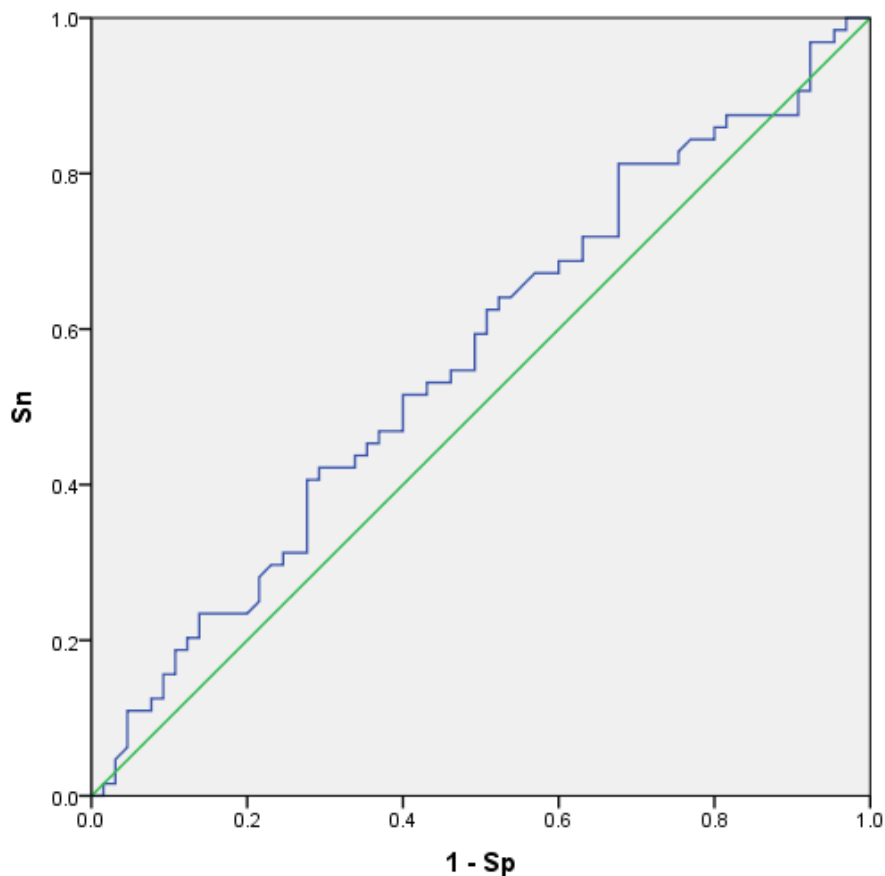
	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
BPH	6,24	1,96	6,54	4,72	7,64	2,18	9,79
CaP	5,81	1,98	5,63	4,47	7,28	1,57	10,04

\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum



Grafikon 4. Grafički prikaz vrednosti tPSA u grupama pacijenata sa i bez CaP

Zatim je urađena ROC analiza, da bi utvrdili, odnosno potvrdili nemogućnost tPSA da diskriminiše bolesne od zdravih (Grafikon 5). *Cut-off* vrednosti za moguću kliničku upotrebu pri senzitivnosti 90% i specifičnosti 90%, kao i mogući najbolji odnos senzitivnosti i specifičnosti prikazani su u tabeli 9.



Grafikon 5. ROC analiza tPSA u odnosu na prisustvo CaP

Tabela 9. Cut-off vrednosti za moguću kliničku primenu tPSA u detekciji CaP

	Površina	p vrednost	Cut off	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
tPSA	0,563 (0,464-0,662)	0,215	3,47	90,6	9,2	50,0	49,6	0,98	1,00
			5,55	62,5	49,2	54,8	57,1	1,23	0,76
			8,42	15,6	90,8	62,5	52,2	1,69	0,93

Cut off- Granična vrednost; *Sn* – senzitivnost; *Sp*- specifičnost; *PPV* – pozitivna prediktivna vrednost; *NPV*- negativna prediktivna vrednost; *LR+* - pozitivni odnos verovatnoća; *LR* - negativan odnos verovatnoća.

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da je nemoguće naći *Cut-off* vrednost koja bi bila adekvatna, kao ni računanje senzitivnosti i specifičnosti za datu tačku.

4.3.2. Rezultati analize fPSA kao markera za CaP

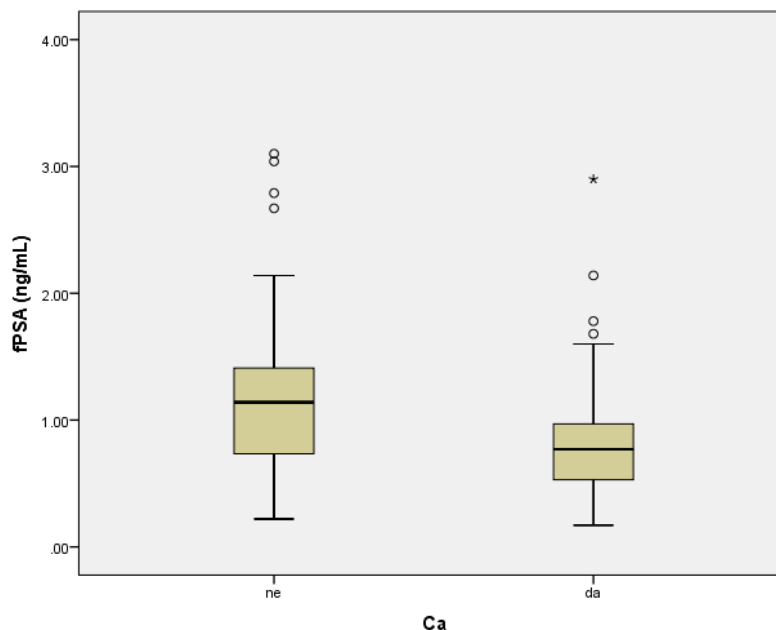
Nakon tPSA, analizirali smo fPSA kao mogućeg markera za CaP. Deskriptivna statistika navedenog markera u odnosu na pacijente sa i bez CaP prikazana je u tabeli 10.

Tabela 10. Vrednosti fPSA u grupama bolesnika sa i bez CaP

	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
BPH	1,21	0,62	1,14	0,74	1,41	0,22	3,10
CaP	0,84	0,46	0,77	0,53	0,97	0,17	2,90

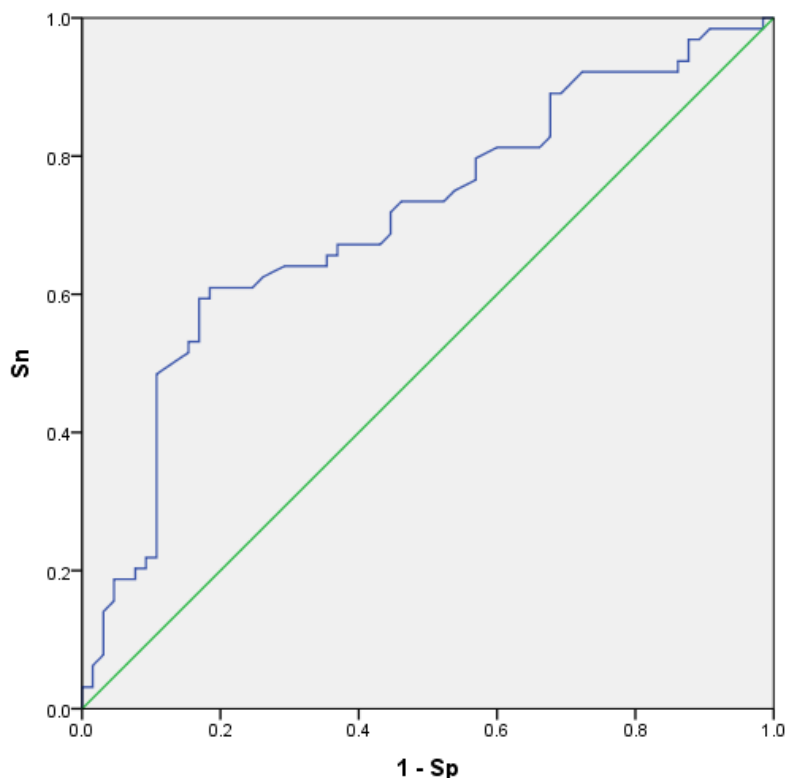
\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum

Kao i u prethodnom slučaju, prosečna vrednost fPSA bila je daleko manja kod pacijenata sa CaP. Ali za razliku od prethodne analize, ova razlika je visoko statistički značajna ($Z=-4,066$; $p<0,001$) (Grafikon 6).



Grafikon 6. Grafički prikaz vrednosti fPSA u grupama pacijenata sa i bez CaP

Procena kvaliteta analiziranog markera izvršena je ROC da bi se odredila površina ispod krive, kao i prelomna tačka („cut-off“) (Grafikon 7). Za razliku od prethodnog markera, fPSA predstavlja solidan marker. Naime, iz tabele 11 vidi se da postoji određena diskriminaciona moć, kao i prelomna tačka. Za prelomnu tačku uzeta je vrednost 1,035 ng/mL.



Grafikon 7. ROC analiza fPSA u odnosu na prisustvo CaP

Tabela 11. Cut-off vrednosti za moguću kliničku primenu fPSA u detekciji CaP

	Površina	p vrednost	Cut off	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
fPSA	0,707 (0,617-0,798)	<0,001	0,550	90,6	29,2	55,8	76,0	1,28	0,32
			1,035	60,9	81,5	75,0	67,5	3,05	0,49
			1,520	21,9	90,8	70,0	54,1	2,37	0,86

Cut off- Granična vrednost; Sn – senzitivnost; Sp- specifičnost; PPV – pozitivna prediktivna vrednost; NPV- negativna prediktivna vrednost; LR+ - pozitivni odnos verovatnoća; LR- - negativan odnos verovatnoća.

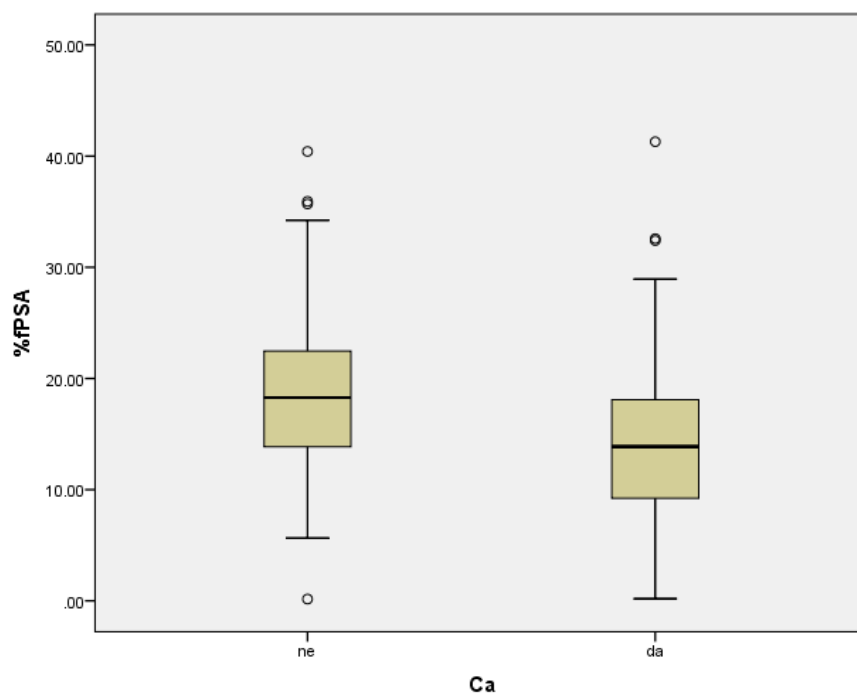
4.3.3. Rezultati analize %fPSA kao markera za CaP

Dalja analiza obuhvatila je %fPSA kod pacijenata sa i bez CaP. Deskriptivna statistika ispitivanog parametra u odnosu na odsustvo ili prisustvo CaP je prikazana u tabeli 12. I kada je ovaj marker u pitanju, prosečna vrednost je manja kod pacijenata sa karcinomom u odnosu na pacijente bez CaP. Statističkom analizom je utvrđeno da postoji visoko statistički značajna razlika između pacijenata sa i bez karcinoma po vrednostima %fPSA ($Z=-3,790$; $p<0,001$). Rezultati su i grafički prikazani (Grafikon 8).

Tabela 12. Vrednosti %fPSA u grupama bolesnika sa i bez CaP

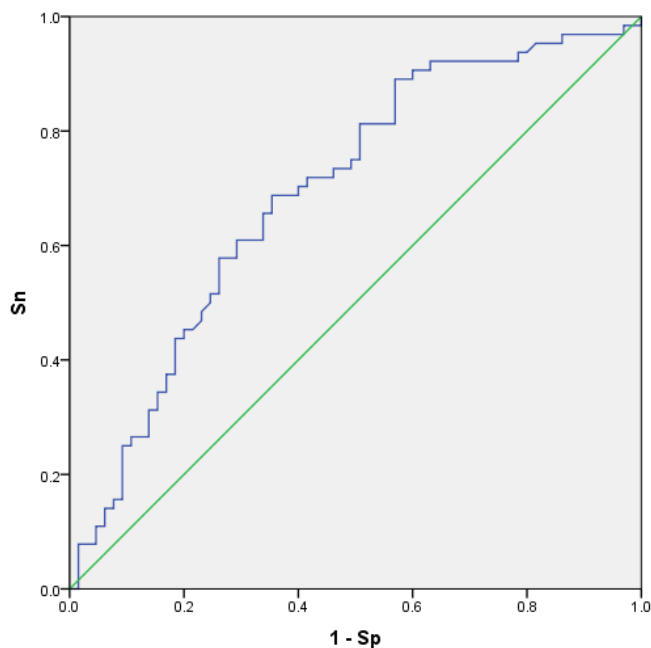
	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
BPH	19,06	7,52	18,28	13,87	22,47	0,16	40,42
CaP	14,67	7,27	13,87	9,22	18,09	0,19	41,30

\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum



Grafikon 8. Grafički prikaz vrednosti %fPSA u grupama pacijenata sa i bez CaP

I u ovom slučaju rađena je ROC analiza, da bi utvrdila diskriminaciona moć analiziranog markera, kao i određivanje prelomne tačke, koja služi za razlikovanje zdravih i bolesnih.



Grafikon 9. ROC analiza %fPSA u odnosu na prisustvo CaP

ROC analiza je pokazala da %fPSA predstavlja solidan marker. Naime, iz grafikona (Grafikon 9) se vidi da postoji određena diskriminaciona moć, kao i prelomna tačka. Uočena je i mogućnost izbora više prelomnih tačaka u odnosu na odabrani odnos senzitivnosti i specifičnosti (Tabela 13). Za najbolji odnos senzitivnosti (68,8%) i specifičnosti (64,6%) određena je granična vrednost od 16,050 %.

Tabela 12. Cut-off vrednosti za moguću kliničku primenu %fPSA u detekciji CaP

	Površina	p vrednost	Cut off	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
%fPSA	0,693 (0,602-0,785)	<0,001	11,410	90,6	40	59,8	81,3	1,51	0,23
			12,905	81,3	49,2	61,2	72,7	1,60	0,38
			22,565	25,0	90,8	72,7	55,1	2,71	0,83

Cut off- Granična vrednost; Sn – senzitivnost; Sp- specifičnost; PPV – pozitivna prediktivna vrednost; NPV- negativna prediktivna vrednost; LR+ - pozitivni odnos verovatnoća; LR- - negativan odnos verovatnoća.

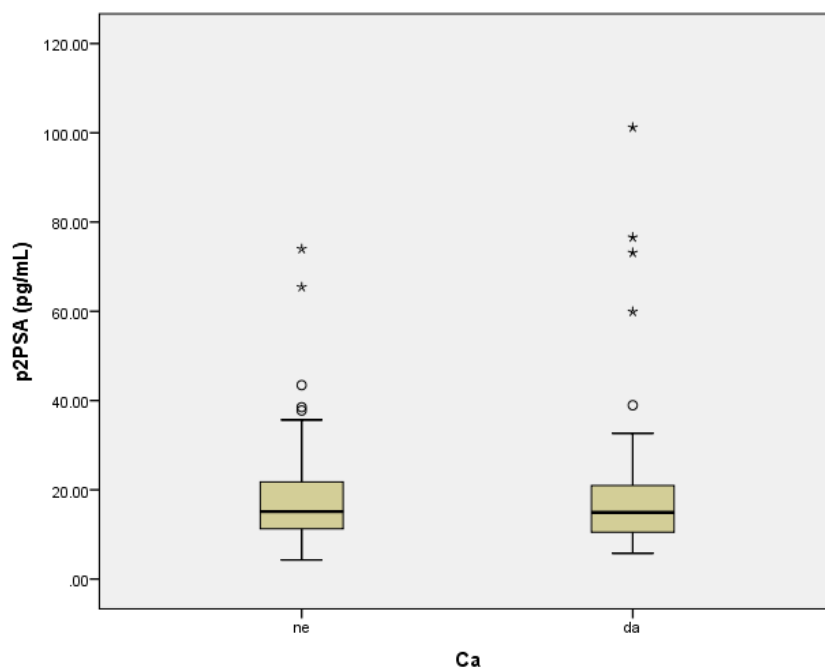
4.3.4. Rezultati analize p2PSA kao markera za CaP

Rezultati deskriptivne statistike kojom je ispitan marker p2PSA u odnosu na prisustvo CaP prikazani su u tabeli 13. Analiza je pokazala da je prosečna vrednost p2PSA veća kod pacijenata sa CaP. Istovremeno, primećeno je da postoji i daleko veći varijabilitet procenjen na osnovu intervala varijacije (min-max). Međutim, upoređujući medijane pokazano je da se radi o vrlo sličnim vrednostima. Na osnovu rezultata Mann-Whitney U testa utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između analiziranih grupa ($Z=-0,280$; $p=0,779$). Rezultati su i grafički prikazani (Grafikon 10).

Tabela 13. Vrednosti p2PSA u grupama bolesnika sa i bez CaP

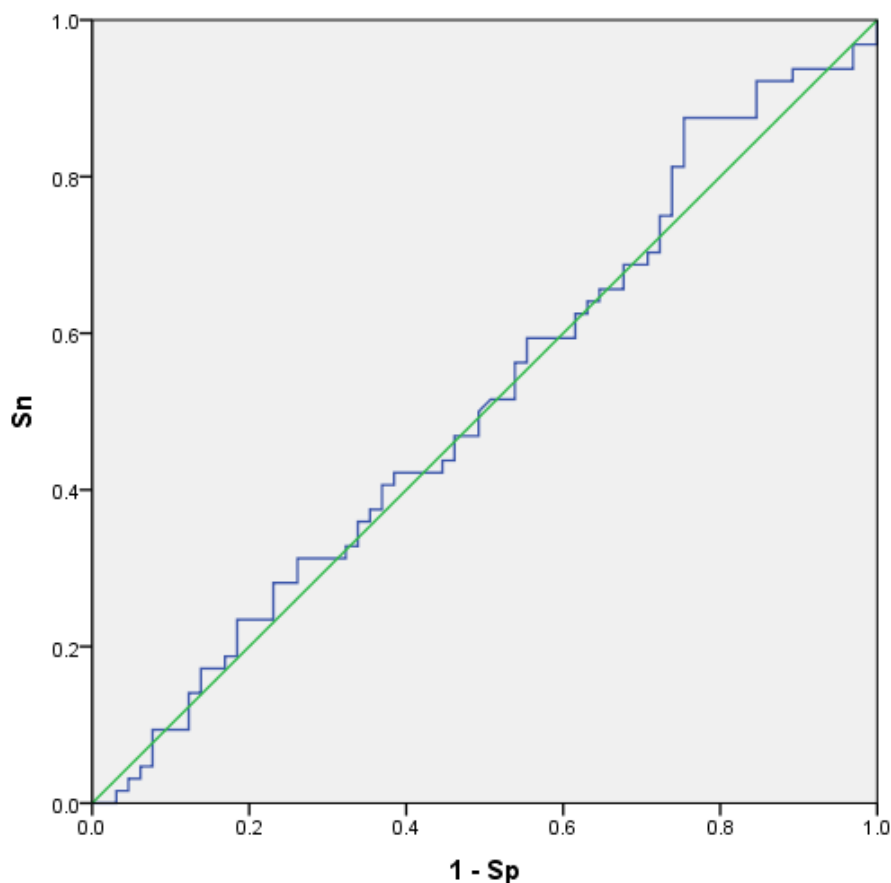
	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
BPH	18,68	12,46	15,12	11,28	21,76	4,28	73,97
CaP	19,55	17,02	14,93	10,51	20,97	5,75	101,21

\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum



Grafikon 10. Grafički prikaz vrednosti p2PSA u grupama pacijenata sa i bez CaP

ROC analiza je pokazala da gotovo ne postoji diskriminaciona moć ovog markera, što je potvrđeno i na osnovu površine ispod krive (Grafikon 11). Na osnovu dobijenih vrednosti nije bilo moguće odrediti prelomnu tačku. U tabeli 14 prikazane su moguće prelomne tačke za zadatu Sn i Sp (90%) i moguć optimalan odnos senzitivnosti i specifičnosti (Tabela 14).



Grafikon 11. ROC analiza p2PSA u odnosu na prisustvo CaP

Tabela 14. Cut-off vrednosti za moguću kliničku primenu p2PSA u detekciji CaP

	Površina	p vrednost	Cut off	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
p2PSA	0,514 (0,414-0,615)	0,779	8,205	90,6	13,4	51,3	62,5	1,07	0,61
			13,020	60,9	39,5	49,4	50,0	0,99	1,02
			32,160	9,4	90,8	50,0	50,4	1,02	1,00

Cut off- Granična vrednost; Sn – senzitivnost; Sp- specifičnost; PPV – pozitivna prediktivna vrednost; NPV- negativna prediktivna vrednost; LR+ - pozitivni odnos verovatnoća; LR- - negativan odnos verovatnoća.

4.3.5. Rezultati analize %p2PSA kao markera za CaP

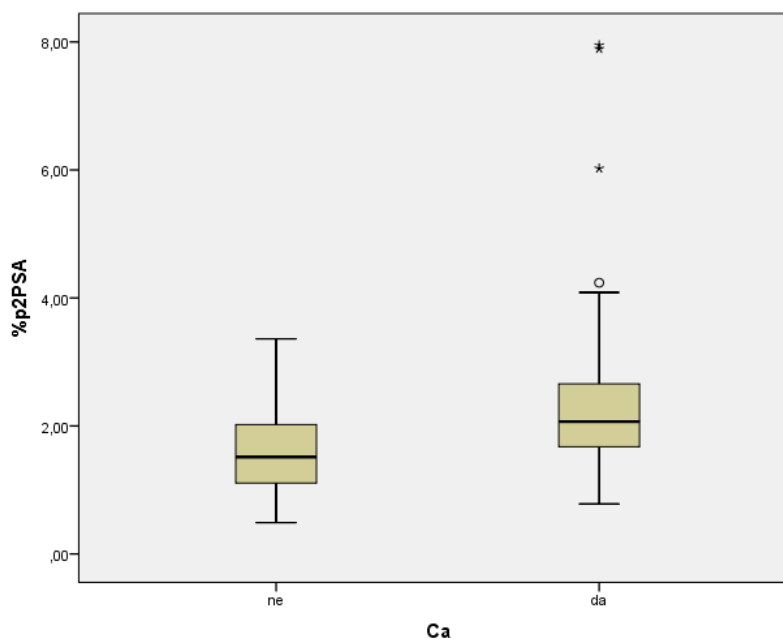
Sledeća statistička analiza odnosila se na % p2PSA kao markera karcinoma prostate. Rezultati deskriptivne statistike ispitivanog parametra u odnosu na grupe pacijenata prikazana je u tabeli 15.

Tabela 15. Vrednosti %p2PSA u grupama bolesnika sa i bez CaP

	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
BPH	1,61	0,62	1,51	1,11	2,02	0,49	3,36
CaP	2,39	1,35	2,07	1,68	2,66	0,78	7,95

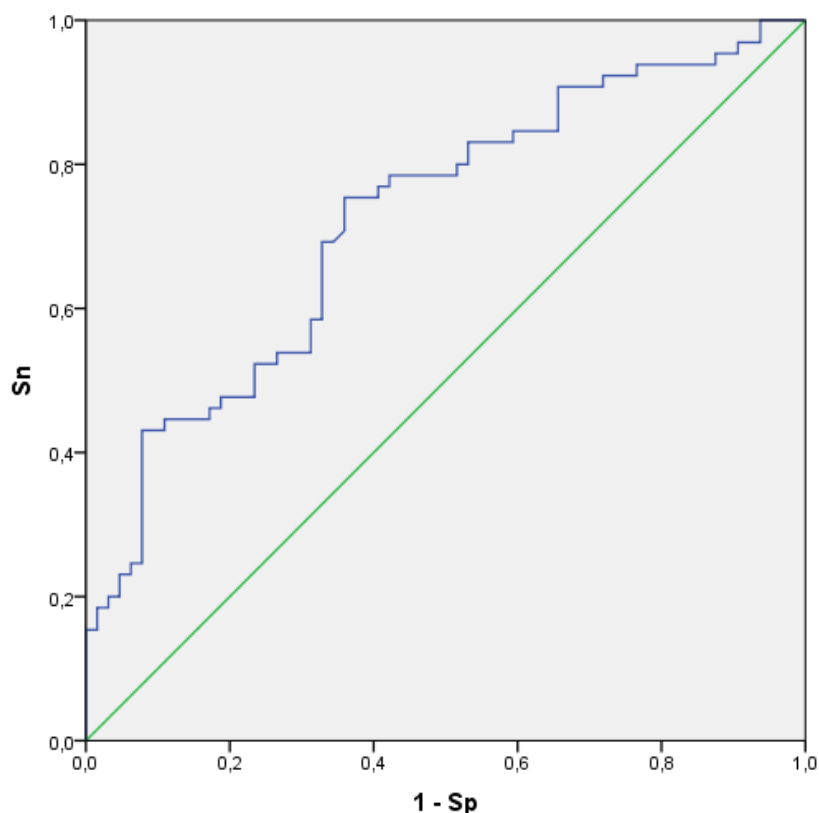
\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum

Statističkom analizom, Mann-Whitney U testom utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između ispitivanih grupa pacijenata kada je vrednost %p2PSA u pitanju ($Z=-4,364$; $p<0,001$) (Grafikon 12).



Grafikon 12. Grafički prikaz vrednosti %p2PSA u grupama pacijenata sa i bez CaP

U okviru ove studije %p2PSA pokazao se kao solidan marker CaP (Grafikon 13). Analizirajući ovu varijablu utvrđeno je da za prelomnu tačku %p2PSA 1,245%, PPV iznosi 58,4%, dok je NPV 78,6%. Za prelomnu tačku %p2PSA 1,673%, PPV iznosi 68,1%, dok je NPV 71,9%. Za prelomnu tačku %p2PSA 2,368%, PPV iznosi 82,4%, a NPV iznosi 61,1% (Tabela 16).



Grafikon 13. ROC analiza % p2PSA u odnosu na prisustvo CaP

Tabela 16. Cut-off vrednosti za moguću kliničku primenu %p2PSA u detekciji CaP

	Površina	p vrednost	Cut off	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
%p2PSA	0,723	<0,001	1,245	90,8	34,4	58,4	78,6	1,38	0,27
	(0,635-		1,673	75,4	64,1	68,1	71,9	2,10	0,38
	0,810)		2,368	43,1	90,6	82,4	61,1	4,59	0,63

Cut off- Granična vrednost; Sn – senzitivnost; Sp- specifičnost; PPV – pozitivna prediktivna vrednost; NPV- negativna prediktivna vrednost; LR+ - pozitivni odnos verovatnoća; LR- - negativan odnos verovatnoća.

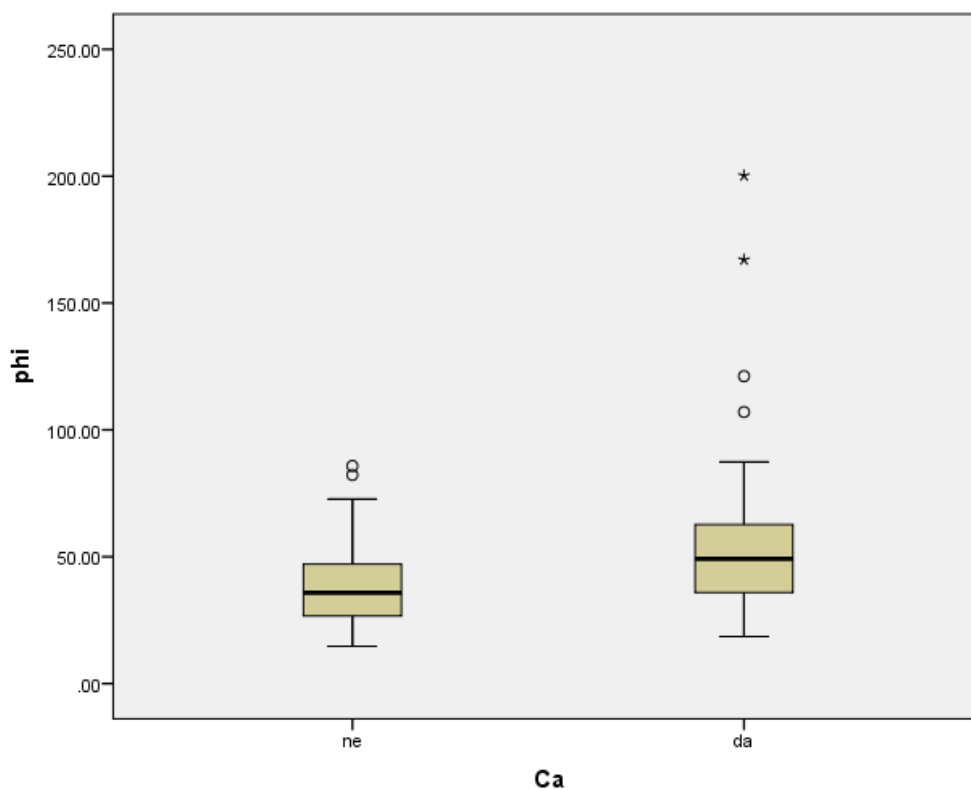
4.3.6. Rezultati analize PHI kao markera za CaP

Ispitivanjem korelacije vrednosti PHI sa prisustvom ili odsustvom CaP pokazalo se da je prosečna vrednost PHI daleko veća kod pacijenata sa CaP (tabela 17). Na osnovu rezultata statističkog testa utvrđeno je da postoji visoko statistički značajna razlika između grupa bolesnika sa i bez CaP uzimajući u obzir PHI ($Z=-3,519$; $p<0,001$) (Grafikon 14).

Tabela 17. Vrednosti PHI u grupama bolesnika sa i bez CaP

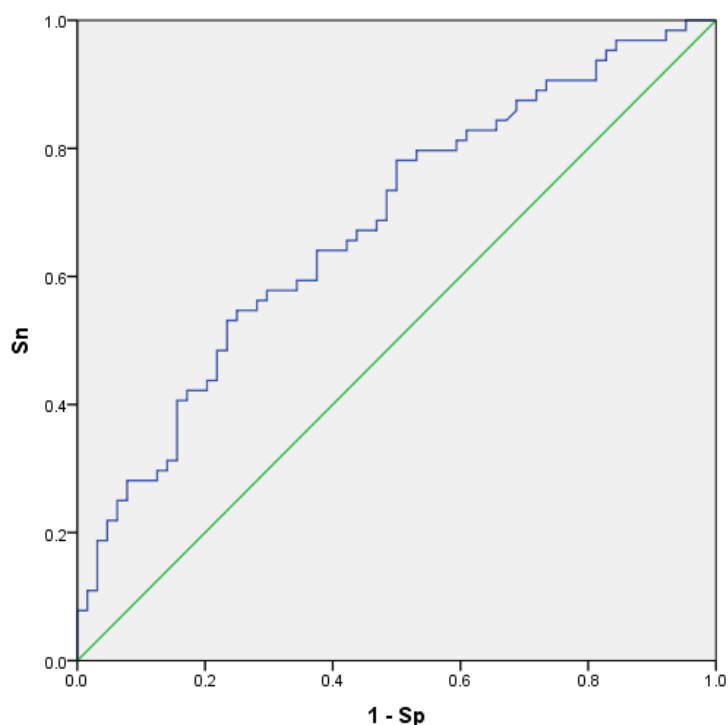
	\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
BPH	39,15	15,59	35,79	26,66	47,12	14,74	85,75
CaP	54,77	31,21	49,13	35,89	62,68	18,57	200,25

\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum



Grafikon 14. Grafički prikaz vrednosti PHI u grupama pacijenata sa i bez CaP

ROC analiza pokazala je da je PHI solidan marker za detekciju CaP (Grafikon 15). Uočeno je prisustvo određene površine, ali bez jasno definisanih prelomnih tačka. Bilo je moguće odrediti više tačaka i to isključivo na osnovu željenog odnosa senzitivnosti i specifičnosti (Tabela 18).



Grafikon 15. ROC analiza PHI u odnosu na prisustvo CaP

Tabela 18. Cut-off vrednosti za moguću kliničku primenu PHI u detekciji CaP

	Površina	p vrednost	Cut off	Sn	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-
PHI	0,680 (0,588-0,772)	<0,001	27,480	90,6	26,6	55,2	73,9	1,23	0,35
			41,670	64,1	62,5	63,1	63,5	1,71	0,58
			61,015	28,1	90,6	75,0	55,8	3,00	0,79

Cut off- Granična vrednost; Sn – senzitivnost; Sp- specifičnost; PPV – pozitivna prediktivna vrednost; NPV- negativna prediktivna vrednost; LR+ - pozitivni odnos verovatnoća; LR- - negativan odnos verovatnoća.

Mogući granične vrednosti, kada je u pitanju optimalan odnos senzitivnosti i specifičnosti je:

- Cut-off=47,045 za koju je Sn=0,547 a Sp=0,750
- Cut-off=41,670 za koju je Sn=0,641 a Sp=0,625
- Cut-off=35,655 za koju je Sn=0,781 a Sp=0,500

4.4. Rezultati kompleksnog regresionog modela za predikciju CaP

Da bi se utvrdilo koji biomarkeri na najbolji mogući način predviđaju, odnosno određuju prisustvo CaP, urađeni su univarijantni i multivarijantni regresioni modeli. Zavisna varijabla bila je CaP (dihotomna, sa dve kategorije, da i ne). Nezavisne varijable su prostata specifični antigen i njegovi derivati. Rezultati univarijantne analize prikazani su u Tabeli 19.

Tabela 19. Univarijantna analiza za predikciju karcinoma prostate

Prediktor	P vrednost	OR (95% IP)	Nagelkerke R²	H-L^a
tPSA	0,219	0,894 (0,749-1,069)	0,016	0,925
fPSA	0,001	0,247 (0,110-0,553)	0,148	0,025
%fPSA	0,002	0,920 (0,872-0,970)	0,111	0,604
p2PSA	0,737	1,004 (0,981-1,028)	0,001	0,548
%p2PSA	<0,001	3,016 (1,715-5,305)	0,207	0,574
PHI	0,001	1,037 (1,015-1,060)	0,146	0,993

OR – Odds Ratio (odnos šansi); IP – interval poverenja; R² – objašnjeni varijabilitet; ^aHosmer and Lemeshow test p vrednost;

Rezultati ove analize pokazali su da su fPSA, %fPSA, PHI značajni prediktori CaP. Među njima, najveći objašnjeni varijabilitet imao je %p2PSA, a veoma sličan imali su fPSA

i PHI, dok je kod %fPSA on bio nešto niži. Hosmer-Lemešov test ukazuje da su svi modeli kalibrisani.

Multivarijantna analiza urađena je da bi se otkrilo koja od kombinacija biomarkera na najbolji mogući način predviđa CaP. Modelovanje je rađeno u nekoliko koraka. Prvo su uzeti standardni biomarkeri tPSA, fPSA i %fPSA kao bazični, a zatim su u taj model dodavani p2PSA, %p2PSA i PHI. Rezultati multivarijante analize prikazani su u tabeli 20. Na osnovu multivarijantne analize utvrđeno je da je najbolja kombinacija kada se koristi bazni model (tPSA, fPSA i %fPSA) u kombinaciji sa %p2PSA a zatim p2PSA ili PHI.

Tabela 20. Multivarijantna analiza za predikciju karicnoma prostate

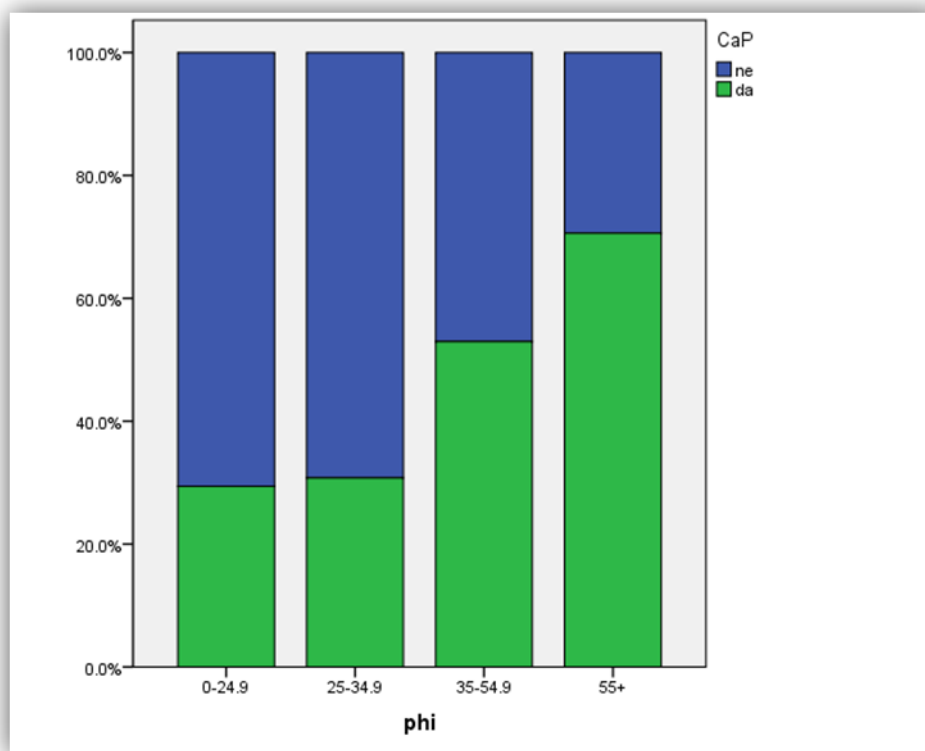
Prediktor	P vrednost	OR (95% IP)	Nagelkerke R²	H-L^a
tPSA	0,394	1,175 (0,811-1,702)		
fPSA	0,074	0,152 (0,019-1,198)	0,160	0,247
%fPSA	0,851	1,011 (0,901-1,135)		
tPSA	0,385	1,178 (0,814-1,705)		
fPSA	0,006	0,042 (0,004-0,407)	0,266	0,118
%fPSA	0,767	1,018 (0,907-1,142)		
p2PSA	0,007	1,086 (1,023-1,152)		
tPSA	0,939	1,015 (0,689-1,495)		
fPSA	0,131	0,208 (0,027-1,598)	0,268	0,358
%fPSA	0,744	1,019 (0,908-1,145)		
PHI	0,004	1,037 (1,012-1,064)		
tPSA	0,396	1,179 (0,806-1,725)		
fPSA	0,135	0,211 (0,027-1,623)	0,279	0,404
%fPSA	0,760	1,018 (0,906-1,145)		
%p2PSA	0,003	2,451 (1,361-4,414)		

OR – Odds Ratio (odnos šansi); IP – interval poverenja; R² – objašnjeni varijabilitet; ^aHosmer and Lemeshow test p vrednost;

Urađena je i analiza vrednosti PHI u odnosu na prisustvo CaP. Distribucija pacijenata po vrednostima PHI u odnosu na prisustvo CaP prikazana je u tabeli 21. Pri vrednostima PHI 0-24,9 kod 70,6% pacijenata dijagnostikovane su benigne bolesti prostate. Porastom vrednosti PHI rastao je i broj pacijenata sa CaP. U kategoriji PHI preko 55, procenat pacijenata sa CaP iznosio je 70,6%. Daljom analizom je registrovan trend porasta broja pacijenata sa CaP u odnosu na porast vrednosti PHI ($X^2=11,675$; $p=0,001$) (Grafikon 16).

Tabela 21. Vrednosti PHI kod pacijenata sa i bez CaP

		Ukupno			
		BPH	CaP		
PHI	0-24,9	N	12	5	17
		%	70,6%	29,4%	100,0%
	25-34,9	N	18	8	26
		%	69,2%	30,8%	100,0%
	35-54,9	N	24	27	51
		%	47,1%	52,9%	100,0%
	55+	N	10	24	34
		%	29,4%	70,6%	100,0%
Ukupno		N	64	64	128
		%	50,0%	50,0%	100,0%



Grafikon 16. Grafički prikaz vrednosti PHI kategorija u odnosu na prisustvo ili odsustvo CaP
(zelenom bojom označen CaP, a plavom bojom BPH)

4.5. Predikcija agresivnog karcinoma prostate (Glison skor ≥ 7) u odnosu na vrednosti PSA i njegovih derivata

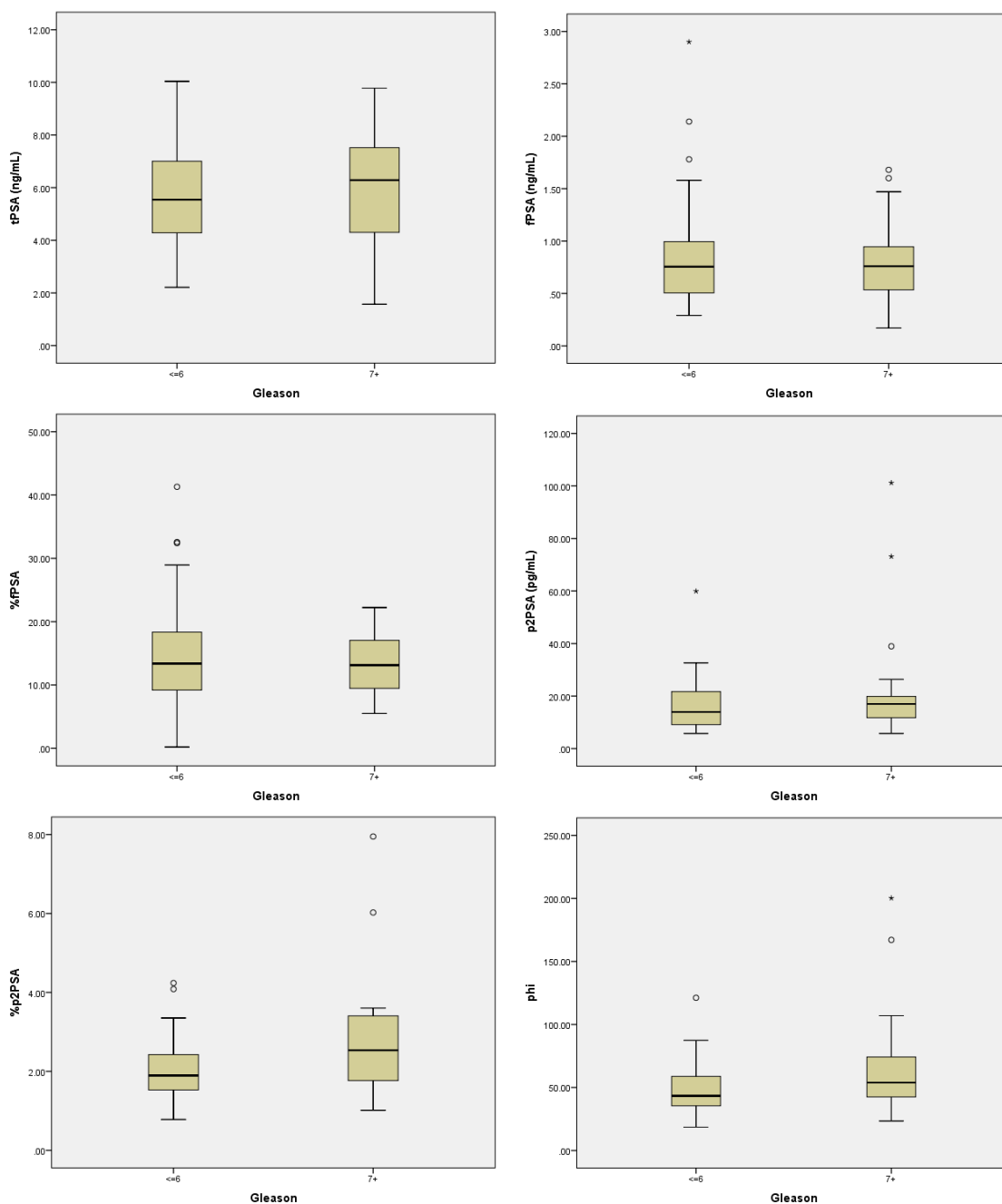
Od ukupnog broja analiziranih pacijenata sa CaP, 40 pacijenata (61,5%) imalo je Glison skor ≤ 6 , dok je 25 pacijenata (38,5%) imalo Glison skor ≥ 7 . U tabeli 22 prikazana je deskriptivna statistika ispitivanih parametara. Na osnovu t testa utvrđeno je da nema statistički značajne razlike između grupa u odnosu na starost pacijenata. Registrovana razlika bila je blizu konvencionalnog nivoa značajnosti. Ipak, klinički posmatrano, razlika je bila 3 godine u proseku.

Tabela 22. Vrednosti Glison skor u grupama pacijenata sa CaP formiranih u odnosu na starost, vrednosti PSA i njegovih derivata

		\bar{x}	SD	Med	25 _{perc.}	75 _{perc.}	Min	Maks
Starost	<7	66,42	7,02	67,00	60,00	73,00	53,00	78,00
	≥7	63,48	5,55	63,00	60,00	67,00	51,00	74,00
tPSA (ng/mL)	<7	5,73	1,86	5,55	4,29	7,01	2,21	10,04
	≥7	5,95	2,18	6,27	4,48	7,37	1,57	9,78
fPSA (ng/mL)	<7	0,86	0,51	0,76	0,51	1,00	0,29	2,90
	≥7	0,79	0,38	0,77	0,54	0,96	0,17	1,68
%fPSA	<7	15,25	8,36	13,39	9,19	18,34	0,19	41,30
	≥7	13,75	5,08	14,58	9,91	17,57	5,51	22,22
%p2PSA	<7	2,04	0,79	1,90	1,53	2,43	0,78	4,24
	≥7	2,95	1,83	2,55	1,83	3,43	1,02	7,95
p2PSA (pg/mL)	<7	16,69	10,16	13,96	9,12	21,70	5,78	59,91
	≥7	24,13	23,85	17,31	12,98	19,91	5,75	101,21
PHI	<7	48,18	20,90	43,38	35,49	58,77	18,57	121,17
	≥7	65,75	41,55	53,88	42,47	74,23	23,44	200,25

\bar{x} - Aritmetička sredina; SD – standardna devijacija; Med - Medijana; Perc. – Percentil; Min-minimum; Maks -maksimum

Daljom analizom, ispitivana je razlika između grupa pacijenata (formiranih prema vrednostima Glison skora) u odnosu na vrednosti PSA i njegovih derivata. Na osnovu Mann-Whitney U testa utvrđeno je da razlike između grupa nisu bile značajne po tPSA, fPSA, %fPSA i p2PSA, ali je razlika po PHI bila na samoj granici konvencionalnog nivoa značajnosti te se ne sme prevideti (p=0,054). Razlika po %p2PSA se pokazala statistički značajna (p=0,020) (Grafikon 17).



Grafikon 17. Razlike vrednosti PSA i njegovih derivata u grupama pacijenata sa CaP formiranih u odnosu na vrednosti Glison skora

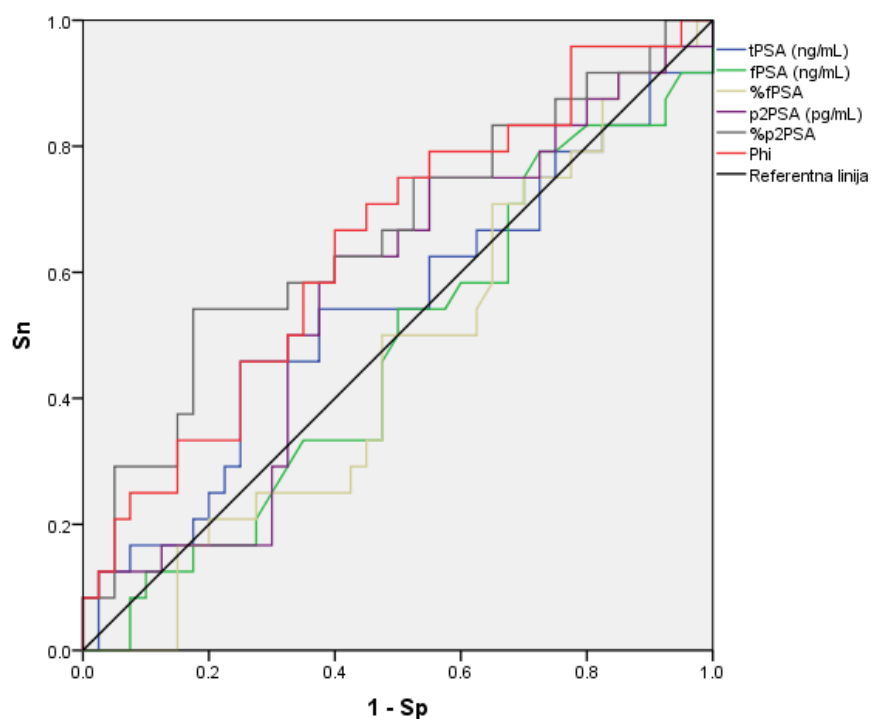
Rezultati ROC analize prikazani su u Tabeli 23. Na osnovu dobijenih rezultata zaključuje se da su samo razlike u vrednostima %p2PSA i PHI (koji je na samoj granici konvencionalnog nivoa značajnosti) u grupi pacijenata sa Glison skorom ≤ 6 u odnosu na

grupu pacijenata sa Glison skorom ≥ 7 bile statistički značajne. Naime, jedino ove dve varijable imale su površinu ispod krive (AUC) dovoljno veliku da bi ih proglasili značajnim (Grafikon 18).

Tabela 23. ROC analiza za agresivnost tumora

Glison ≤ 6 vs ≥ 7 (n=65)					
	Površina ispod krive	P vrednost	Cut off	Sn	Sp
tPSA	0,538 (0,389-0,687)	0,608	3,530	92,0	10,0
			5,275	64,0	45,0
			8,175	16,0	90
fPSA	0,520 (0,375-0,664)	0,793	0,400	90,0	16,0
			0,665	67,5	40,0
			1,525	10,0	92,0
%fPSA	0,529 (0,386-0,671)	0,701	6,825	90,0	8,0
			11,24	65,0	60,0
			21,95	15,0	92,0
p2PSA	0,581 (0,436-0,726)	0,275	7,770	92,0	15,0
			15,24	64,0	40,0
			28,41	16,0	90
PHI	0,645 (0,505-0,784)	0,054	31,33	91,7	22,5
			49,13	66,7	60,0
			76,38	25,0	90
%p2PSA	0,673 (0,534-0,812)	0,020	1,356	92,0	20,0
			2,495	56,0	17,5
			3,076	32,0	90

Cut off- Granična vrednost; Sn – senzitivnost; Sp – specifičnost



Grafikon 18. Grafički prikaz ROC analize za agresivnost tumora

Urađena je i logistička regresiona analiza sa agresivnijim oblikom CaP (Glison skor ≥ 7) kao zavisnom varijablom (Tabela 24).

Tabela 24. Univarijantna analiza za predikciju Glison skora ≥ 7 prema vrednostim PSA i njegovih derivata

Prediktor	P vrednost	OR (95% IP)	Nagelkerke R^2	H-L ^a
tPSA	0,663	1,058 (0,820-1,367)	0,004	0,946
fPSA	0,547	0,700 (0,220-2,232)	0,008	0,040
%fPSA	0,419	0,970 (0,902-1,044)	0,014	0,506
p2PSA	0,116	1,028 (0,993-1,063)	0,061	0,185
%p2PSA	0,024	1,880 (1,086-3,256)	0,150	0,869
PHI	0,052	1,021 (1,000-1,042)	0,102	0,983

OR – Odds Ratio (odnos šansi) IP – interval poverenja R^2 – objašnjeni varijabilitet ^aHosmer and Lemeshow test p vrednost

U ovoj analizi jedino su razlike u vrednostima %p2PSA bila statistički značajane dok su razlike u PHI bila na samoj granici konvencionalnog nivoa statističke značajnosti. Daljom analizom konstruisan je multivarijantni model na način koji je korišćen i za predikcija prisustva karcinoma prostate (Tabela 25). Modelovanje je rađeno u nekoliko koraka. Prvo su uzeti standardni biomarkeri tPSA, fPSA i %fPSA kao bazični, a zatim su u taj model dodavani p2PSA, %p2PSA i PHI. Najbolji model je onaj u kome su vrednosti %p2PSA inkorporirane u bazični model. U slučajevima kada su bazičnom modelu bile pridruživane vrednosti p2PSA i PHI, statistička značajnost nije bila dostignuta, ali je bila vrlo blizu konvencionalnog nivoa značajnosti. Zbog pokazanog statističkog trenda za očekivati je da bi u studiji sa većim brojem analiziranih pacijenata razlike u vrednostima p2PSA i PHI bile statistički značajne.

Tabela 25. Multivarijantna analiza za predikciju Glison skor ≥ 7

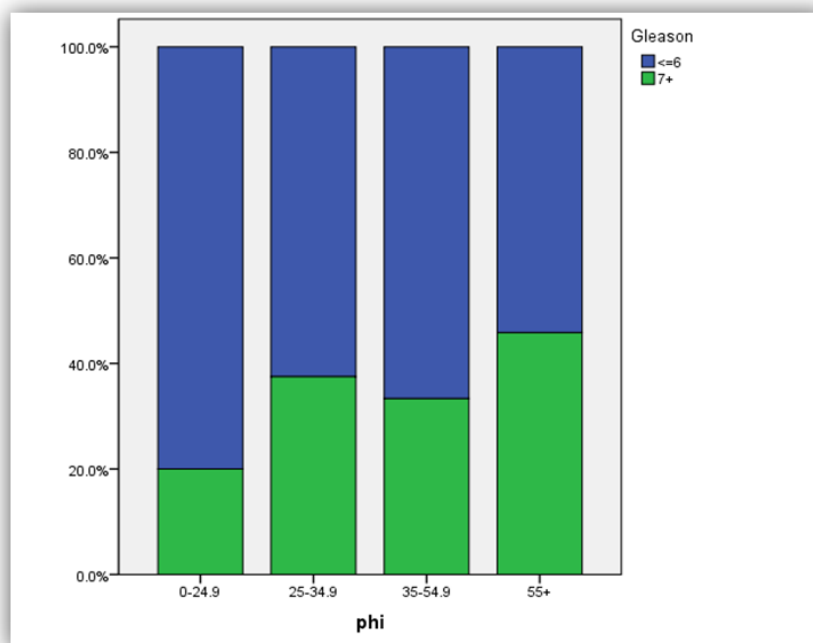
Prediktor	P vrednost	OR (95% IP)	Nagelkerke R²	H-L^a
tPSA	0,589	1,137 (0,714-1,809)		
fPSA	0,631	0,505 (0,031-8,201)	0,020	0,932
%fPSA	0,928	1,007 (0,857-1,185)		
tPSA	0,583	1,142 (0,711-1,835)		
fPSA	0,204	0,131 (0,006-3,013)	0,148	0,949
%fPSA	0,824	1,019 (0,864-1,202)		
p2PSA	0,058	1,059 (0,998-1,125)		
tPSA	0,879	1,039 (0,636-1,696)		
fPSA	0,600	0,461 (0,025-8,358)	0,116	0,554
%fPSA	0,828	1,019 (0,863-1,203)		
PHI	0,065	1,021 (0,999-1,044)		
tPSA	0,532	1,165 (0,721-1,882)		
PSA	0,614	0,477 (0,027-8,486)		
%fPSA	0,808	1,021 (0,864-1,205)	0,163	0,562
%p2PSA	0,027	1,848 (1,071-3,189)		

OR – Odds Ratio (odnos šansi) IP – interval poverenja R² – objašnjeni varijabilitet^a Hosmer and Lemeshow test p vrednost

Na kraju, analizirane su vrednosti PHI podeljene u četiri kategorije između grupe pacijenata sa Glison skorom ≤ 6 i grupe pacijenata sa Glison skorom ≥ 7 (Tabela 26). Procenat pacijenata sa Glison skorom ≥ 7 rastao je sa porastom vrednosti PHI. Broj pacijenata sa vrednostima PHI većim od 55 (četvrta kategorija) bio je dva puta veći u odnosu na broj pacijenata sa vrednostima PHI do 24,9 (prva kategorija). Ipak, statistikom analizom nije dobijena značajna razlika u učestalostima ($X^2=1,564$; $p=0,661$), kao ni razlika u trendu ($X^2=1,148$; $p=0,322$). Distribucija je i grafički prikazana (Grafikon 19).

Tabela 26. Distribucija pacijenata sa CaP podeljenih u grupe prema Glison skoru u odnosu na vrednosti PHI

		Glison skor		Ukupno	
		<7	≥ 7		
PHI	N	4	1	5	
	0-24,9	%	80,0%	20,0%	100,0%
	N	5	3	8	
	25-34,9	%	62,5%	37,5%	100,0%
	N	18	9	27	
	35-54,9	%	66,7%	33,3%	100,0%
	N	13	11	24	
	55+	%	54,2%	45,8%	100,0%
	Ukupno	N	40	24	64
		%	62,5%	37,5%	100,0%



Grafikon 19. Grafički prikaz distribucije pacijenata sa CaP podeljenih u grupe prema Glison skoru u odnosu na vrednosti PHI

Logističkom regresionom analizom procenjivan je rizik postojanja agresivnog CaP (Glison skor ≥ 7) u odnosu na vrednosti PHI. U ovoj analizi prva kategorija (vrednost PHI do 24,9) korišćena je kao referentna. Ova analiza nije dala statistički značajan rezultat, ali registrovano je postojanje trenda šansi u odnosu na kategorije PHI (Tabela 27). Rezultati ove analize pokazali su da je šansa da pacijent ima Glison skor ≥ 7 2,4 puta veća ukoliko je PHI u granicama 25-34,9 u odnosu na PHI u granicama 0-24,9. Ova šansa je 3,4 puta veća ukoliko pacijent ima PHI veći od 55.

Tabela 27. Odnos šansi postojanja Glison skor ≥ 7 u odnosu na vrednosti PHI

PHI	P vrednost	OR (95% IP)
0-24,9	0,679	1
25-34,9	0,512	2,400 (0,175-32,879)
35-54,9	0,560	2,000 (0,194-20,614)
55+	0,306	3,385 (0,328-34,919)

5. Diskusija

Porast učestalosti karcinoma prostate, koji se poslednjih decenija registruje u svim delovima sveta, nesumnjivo su svrstale ovo maligno oboljenje u jedno od najznačajnijih javno-zdravstvenih problema u muškoj populaciji. Ovaj porast incidencije CaP se pre svega pripisuje primeni masovnih skrining programa koji uključuju testiranje prostata specifičnog antigena (PSA) koji ima vrlo nepouzdanu prediktivnu sposobnost u razgraničavanju malignih od benignih promena prostate (Jaiswal S. i sar, 2015). Ovo je dovelo do niza pitanja o efektivnosti masovne primene raspoloživih biohemijskih pokazatelja, imajući u vidu visoku učestalost sporo progresivnih oblika karcinoma prostate. Poslednjih godina sve su aktuelnija istraživanja koja se bave identifikacijom najsenzitivnijih prostata-specifičnih tumor markera, kao i pronalaženjem najoptimalnije kombinacije ovih pokazatelja, koja bi imala visoku pozitivnu prediktivnu vrednost i malu mogućnost lažno negativnih nalaza.

Popularizacijom PSA skrininga, došlo je ne samo do značajnog povećanja incidencije, već i do istovremenog smanjenja mortaliteta od CaP (Catalona WJ. i sar, 1993). Pre PSA ere, većina CaP detektovala se na osnovu abnormalnog DRE, dok se danas većina karcinoma (60-75%) prezentuje kao nepalpabilni karcinom pri nivou PSA 2,5 – 10ng/mL (Diamandis EP., 2000, Gallina A. i sar, 2008). Uvođenjem PSA skrininga, 81% pacijenata sa *de novo* otkrivenim CaP imali su lokalizovani stadijum bolesti, uz istovremeno smanjenje incidencije metastatske bolesti za 75% (Newcomer LM. i sar, 1997). Detekcija sve većeg broja lokalizovanog CaP dovelo je i do poboljšanja petogodišnjeg preživljavanja pacijenata sa CaP koje sada iznosi preko 99%. Međutim, kod pacijenata sa uznapredovalim CaP petogodišnje preživljanje je i dalje nisko i ono iznosi oko 28% (Siegel R. i sar, 2014).

Uprkos nesumnjivog doprinosa PSA u ranoj detekciji karcinoma, vrlo brzo su se pojavile polemike o njegovoj sveprisutnoj širokoj upotrebi (eng. "*mass skreening*") (Loeb S., 2014). Sve relevantne organizacije i udruženja koja se bave ovom temom danas ne preporučuju opšti skrining kod muškaraca bez simptoma koji ukazuju na CaP (Chou R. i sar, 2011). Pojedini autori navode da još uvek ne postoje dokazi da masovni skrining može

da dovede do smanjenja smrtnosti od CaP (Ilić D. i sar, 2013, Schroder FH. i sar, 2014). Međutim, pojedini autori su mišljenja da sadašnje preporuke koje ne zagovaraju ovakvu politiku u pogledu skrininga mogu dovesti do povećanja broja pacijenata sa agresivnom formom CaP (Aufenberg G. i sar, 2014; Banerji JS. i sar, 2016).

Brojna epidemiološka istraživanja (Ploussard G. i sar, 2011) koja su se bavila incidencijom CaP pokazala su da nezanemarljiv broj otkrivenih i lečenih CaP pripada grupi klinički nesigifikantnih karcinoma, kod kojih radikalno lečenje verovatno nije bilo neophodno. Procenjeno je da se opštim skriningom suvišna dijagnoza (eng. *overdiagnosis*) uspostavi kod preko trećine pacijenata. Zbog toga se lečenje ovih pacijenata smatra preteranim (eng. *overtreatment*), jer ne utiče na ishod bolesti, a uzrokuje povećanje morbiditeta, troškova lečenja i pogoršanje kvaliteta života. Tokom vremena razvili su se novi terapijski pristupi u cilju smanjenja broja pacijenata koji su nakon radikalnih metoda lečenja bili suočeni sa posledicama, kao što su inkontinencija, erektilna disfunkcija i druge komplikacije. Prevažodno se sve više ističu mogućnosti aktivnog praćenja pacijenata (eng. *Active surveillance*) kao legitimne terapijske opcije kod dobro selektovanih bolesnika (Draisma G. i sar, 2009; Pomerantz M., 2015).

Na osnovu dosadašnjih iskustava u detekciji CaP ostaje otvoreno pitanje na koji način najpreciznije identifikovati onu grupu pacijenata koji bi imali najveću korist od individualne rane dijagnostike CaP uzimajući u obzir ravnotežu između potencijalnih posledica i koristi. Muškarci sa povećanim rizikom od CaP su oni preko 50 godina, ili oni sa porodičnom istorijom CaP i po očevoj i po majčinskoj liniji preko 45 godina starosti, kao i Afro-Amerikanci (Kamangar F. i sar, 2006; Albright F. i sar, 2015). Pored toga muškarci sa PSA većim od 1ng/mL u četrdesetim godinama ili PSA preko 2ng/mL u šezdesetim godinama su kandidati za ranu dijagnostiku s obzirom na povećani rizik od metastatskog CaP i smrtnog ishoda nekoliko decenija kasnije (Vickers AJ. i sar, 2013; Carlsson S. i sar, 2014).

Pojedini kalkulatori rizika mogu biti od koristi u identifikovanju pacijenata sa povećanim rizikom od CaP. Iz pojedinih kohortnih studija razvijeni su različiti kalkulatori

rizika kao što su: *Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT)*, *European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC)*, *Sunnybrook* kalkulator rizika kanadskog zdravstveno naučnog centra. Svi oni inkorporiraju slične parametre kao što su godine starosti, nalaz na DRE, rasu, familijarnu istoriju bolesti, eventualno predhodne biopsije, vrednosti PSA i fPSA i na osnovu ovih podataka proračunavaju koliki je rizik za postojanje CaP i njegove agresivne forme. Dosadašnja praksa je pokazala da nijedan od njih nije superioran u odnosu na druge (Louie KS. i sar, 2015).

Distribucija pacijenata sa i bez CaP u našoj studiji bila je skoro podjednaka kao i u većini studija sličnog dizajna (Lazzeri M. i sar, 2013; Boegemann M. i sar, 2016). Prosečna starost pacijenata uključenih u našu studiju bila je slična u obe grupe, sa tim da su pacijenti sa CaP bili u proseku stariji za godinu dana, ali ova razlika nije bila statistički značajna. Slično kao i u našoj studiji, i u drugim studijama prosečna starost pacijenata kretala se u opsegu od 60 do 69 godina i bez značajne razlike između grupa sa i bez CaP (Stephan C. i sar, 2013; Foley RW. i sar, 2016). Međutim, Lazzeri i saradnici su u multicentričnoj studiji na 646 pacijenata pokazali da su pacijenti sa CaP bili značajno stariji (razlika je iznosila nešto više od dve godine) (Lazzeri M. i sar, 2013). Generalno, smatra se da je uzrast najjači nemodifikujući faktor rizika za nastanak ovog malignog oboljenja, odnosno da verovatnoća njegovog nastanka linearno raste sa starošću, a naročito posle 50-te godine života. Naime, podaci iz literature ukazuju da su skoro svi pacijenti stariji od 50 godina, a da je čak 2/3 starije od 70 godina (Ries LAG. i sar, 2008). Ipak rezultati našeg istraživanja su u skladu sa zapažanjima mnogih autora koji su se poslednjih godina bavili ovom problematikom i koji su ukazali da je došlo do pomeranja uzrasne distribucije obolelih “u levo” (Stephan C. i sar, 2013; Foley RW. i sar, 2016). Smatra se da je osnovni razlog značajne demografske tranzicije koja se desila u grupi obolelih od CaP široka primena PSA, što se konsektivno odražava na rano otkrivanje tumora kod muškaraca u sve mlađoj životnoj dobi (Jemal A. i sar, 2008).

PSA je tumor marker sa najdužom istorijom u skriningu CaP. Iako su rezultati mnogobrojnih istraživanja pokazali da on nema dovoljnu prediktivnu moć u otkrivanju CaP, on i dalje ostaje nezaobilazan korak u dijagnostici ovog tumora u rutinskoj urološkoj

praksi (Duffy MJ., 2015). Rezultati naše studije pokazali su da su prosečne vrednost tPSA bile niže u grupi pacijenata sa karcinomom u odnosu na pacijente sa benignim bolestima prostate, ali su ove razlike bez statističke značajnosti. Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatom studije Stephan i saradnika koji su pokazali da ne postoji značajna razlika po pitanju prosečnih vrednosti PSA između ispitivanih grupa pacijenata, kao i da PSA ima najmanju pouzdanost u detektovanju CaP u odnosu na ostale ispitivane tumorske markere (Stephan C. i sar, 2013). ROC analiza je u svim studijama, kao i u našoj, pokazala da pri visokoj senzitivnosti ovaj marker ima izuzetno nisku specifičnost i obrnuto. Iako ROC analizom nismo uspeli da odredimo graničnu vrednost koja bi bila adekvatna naveli smo graničnu vrednost od 3,5 ng/mL za datu senzitivnost od 90%, pri čemu je specifičnost iznosila 10%. Većina autora navodi slične granične vrednosti PSA, pri istoj senzitivnosti od 90% (Lazzeri M. i sar, 2012; Ito K. i sar, 2013; Perdoni S. i sar, 2013). Značajno viša granična vrednost prijavljena je od strane Guazzoni i saradnika. U njihovoj studiji ona je iznosila 8,9 ng/ml pri istoj senzitivnosti od 90%. Međutim, specifičnost ovog markera bila je jako niska i iznosila je samo 5,1% (Guazzoni G. i sar, 2011). Najveću specifičnost u posmatranim studijama od 20,4% (pri senzitivnosti od 90%) prijavili su Ito i saradnici (Ito K. i sar, 2013). Ovako mala specifičnost PSA pri senzitivnosti od 90%, rezultuje velikim brojem lažno pozitivnih nalaza i dovodi do 75% nepotrebno urađenih biopsija (Postma R. i sar, 2005). Takođe, u okviru naše studije, ROC analizom pri senzitivnosti od 90%, pozitivna prediktivna vrednost (PPV) za tPSA iznosila je 50%, dok je negativna prediktivna vrednosti (NPV) iznosila 49,6%. Lazzeri i saradnici pri istoj senzitivnosti, navode PPV od 42,6% i NPV 70,6% (Lazzeri M. i sar, 2013). Kako su u obe studije identifikovane skoro identične granične vrednosti za tPSA, ovako različiti rezultati procene prediktivne vrednosti idu u prilog mišljenju da je tPSA nedovoljno precizan biološki marker za detekciju CaP.

Jasno je da ovakvi rezultati potiču iz činjenice da PSA nije tumor specifičan, nego prostata specifičan marker i da je određivanje optimalne granične vrednosti jako teško. Naime, rezultati istraživanja su pokazali da se kod oko četvrtine obolelih od CaP registruju niske vrednosti ovog markera, tj. vrednosti ispod 4ng/mL (Thompson IM. i sar, 2004). Posebno je u fokusu istraživača tzv. "siva zona" koja predstavlja vrednosti ovog markera u

rasponu od 4-10 ng/mL, zbog preklapanja sa benignim promenama u tkivu prostate (Oremek GM et al, 2003). Rezultati istraživanja su za ove vrednosti PSA pokazale pozitivnu prediktivnu vrednost od 15%. Ovakav veliki broj lažno pozitivnih nalaza rezultira u činjenici da se biopsijom prostate, u ovom rasponu PSA, karcinom dokaže kod tek svakog četvrtog pacijenta. Sa druge strane, uočeno je da ako su vrednosti PSA iznad 10 ng/mL, njegova pozitivna prediktivna vrednost raste do oko 62%, što i dalje ostavlja veliki prostor za lažno pozitivne nalaze (Agnihotri S. i sar, 2014).

Imajući u vidu nisku prediktivnu vrednost i pouzdanost PSA, jasno je da postoji potreba ka iznalaženju novih bioloških markera PSA koji bi bili senzitivniji i specifičniji u determinisanju malignih promena tkiva prostate. U tom smislu mi smo ispitivali i prognostičku vrednost fPSA. Naime, PSA u serumu cirkuliše u slobodnom i vezanom obliku. Uopšteno, smatra se da je 65-90% PSA vezano za alfa-1-antihimotripsin, a da se oko 10-35% PSA nalazi u slobodnom obliku (De Angelis G. i sar, 2007). Rezultati istraživanja, uključujući i naša, pokazuju da je udeo slobodnog PSA (fPSA) veći kod bolesnika sa benignim promenama u odnosu na one sa CaP (Tosoian J. & Loeb S., 2010). U našem istraživanju ROC analizom dobijena je velika površinu ispod krive, koja je značajno veća u odnosu na površinu dobijenu za vrednosti tPSA. Pri istoj senzitivnosti kao kod markera tPSA dobijena je daleko veća specifičnost i obrnuto. U drugim studijama vrednosti AUC za fPSA se kretao u rang 0,54-0,61, što su niže vrednosti u poređenju sa rezultatima naše studije (Jansen FH. i sar, 2010; Perdona S. i sar, 2013; Ng CF. i sar, 2014). Sve posmatrane studije pokazale su da fPSA ima veći AUC u odnosu na AUC za PSA, što ga čini boljim markerom za detekciju CaP. Izuzetak od ovih rezultata čine rezultati studije Stephana i saradnika koji nisu detektovali značajnu razliku u nivou fPSA između pacijenata sa i bez CaP (Stephan C. i sar, 2013).

Dalji korak u istraživačkim pokušajima identifikacije što optimalnijeg tumor markera prostate bila je analiza biološkog markera %fPSA. Prosečna vrednost %fPSA u našoj studiji bila je znatno manja kod pacijenata sa CaP, što je u saglasnosti i sa rezultatima drugih studija (Stephan C. i sar, 2013; Lazzeri M. i sar, 2013). Upoređujući površinu ispod krive korišćenjem ROC analize, vrednosti AUC za %fPSA bile su slične kao u

multicentričnoj studiji Fillela i saradnika (Fillela X. i sar, 2013). Rezultati ROC analize pokazali su da je %fPSA znatno bolji marker za detekciju CaP u odnosu na tPSA i fPSA. Takođe, za razliku od tPSA, u okviru naše studije bilo je moguće odrediti nekoliko graničnih vrednosti. Najoptimalnija granična vrednost bila je 16% pri skoro jednakoj senzitivnosti i specifičnosti od 70%. Brojne studije pokušale se da utvrde prag vrednosti %fPSA na osnovu kojeg je moguće napraviti razliku između pacijenata sa i bez CaP. Pri senzitivnosti od 90%, granična vrednost se kretala u rangu 23-32%, uz specifičnost od 9 do 22%. (Guazzoni G i sar, 2011; Lazzeri M. i sar, 2013; Ito K. i sar, 2013; Filella i sar, 2013; Ng CF. i sar, 2014). Specifičnost za ovaj marker u našoj studiji bila je znatno veća dostižući 40%, što je znatno bolji rezultat nego u gore navedenim studijama. Christensson i saradnici zaključili su da se pri graničnoj vrednosti od 18% značajno poboljšava mogućnost razlikovanja pacijenata sa i bez CaP, korišćenjem %fPSA u poređenju sa korišćenjem PSA testiranja (Christensen A. i sar, 1993). Istovremeno, drugi autori zaključuju da se korišćenjem graničnih vrednosti u rasponu od 14% do 28%, može izbeći 20-65% nepotrebnih biopsija prostate, uz senzitivnost od 70-95% (Pound CR. i sar, 1997; Partin AW. i sar, 1998; Vassela RL. i sar, 2000). U prospektivnoj multicentričnoj studiji Catalona i saradnika pokazano je da je pri graničnoj vrednosti od 25% detektovano 95% karcinoma čime je izbegnuto petina nepotrebnih biopsija prostate (Catalona WJ. i sar, 1998).

Pojedine studije su pokazale da je %fPSA u poređenju sa drugim derivatima PSA (PSAD, PSAV, PSAD tranzitorne zone) pokazao znatno uspešnijim markerom za detekciju CaP (Heidegger I. i sar, 2015). Prethodna istraživanja ukazuju na to da prediktivna vrednost PSA opada sa godinama dok se prediktivna vrednost %fPSA povećava kod starijih pacijenata (Vickers AJ. i sar, 2007). Takođe, pojedine studije su svojim analizama pokazale značaj %fPSA kao prediktivnog markera agresivnosti karcinoma, kao i biohemijskog markera recidiva bolesti (Shariat SF. i sar, 2006; Masieri L. i sar, 2012;). Ovaj zaključak nije potvrđen rezultatima naše studije u kojoj nismo uspeli da pokažemo da je %fPSA pouzadan biološki marker za predikciju agresivne forme CaP. I pored toga, ovaj marker iako nepravredno zanemaren od strane mnogih urologa ima svoj značaj u detekciji CaP i trebalo bi ga koristiti u odluci da li je potrebno preduzimati dalje dijagnostičke procedure.

Poslednjih godina sve se više ispituje prediktivni značaj izoformnog oblika slobodnog PSA, označenog kao p2PSA, čiji su početni rezultati pokazali moguću značajnu prognostičku vrednost u diskriminaciji malignih od benignih promena prostate (Abrate A. i sar, 2014). Rezultati naše studije ne potvrđuju ove pretpostavke. Naime, u našoj kohorti ispitivanih muškaraca prosečne vrednosti p2PSA bile su nešto veće u grupi pacijenata sa CaP, ali ova razlika nije bila značajna. Analiza ROC krive za predikciju CaP ukazala je da ovaj marker nema značajnu diskriminacionu moć. Pozitivna prediktivna vrednost ovog markera za senzitivnost od 90%, u našoj studiji, iznosila je 51,3%, dok je NPV iznosila 62,5%. Još niže prediktivne vrednosti imala je studija Lazzeria i saradnika gde je PPV iznosila 40,3%, a NPV 52,8% (Lazzeri i sar., 2013). Na osnovu ovih rezultata zaključili smo da se p2PSA pokazao kao najlošiji od svih ispitivanih bioloških markera, uključujući i tPSA. Ovi rezultati potvrđeni su i u još dve prethodno publikovane studije (Catalona WJ. i sar, 2011; Lazzeri M i sar, 2013). Nasuprot tome, u studiji Stephan i saradnika navode se niže prosečne vrednosti p2PSA u obe grupe pacijenata, ali sa značajnom razlikom između pacijenata sa i bez CaP (Stephan C. i sar, 2013). Takođe, p2PSA predstavlja bolji marker u odnosu na vrednosti PSA (Perdona S. i sar, 2013; Na R. i sar, 2014, Jansen FH. i sar, 2010). Ovako oprečni rezultati studija opravdavaju i stav da se ovaj marker ne koristi kao samostalan prediktor CaP, već bi njegova uloga bila u izračunavanju procentualnog odnosa prema slobodnom PSA (%p2PSA) i u PHI kao matematičkoj formuli. Do istog mišljenja došli su i Pecoraro V. i saradnici na osnovu analize rezultata 17 publikovanih studija koje su uključivale gotovo 7000 pacijenata. Oni kliničku primenu p2PSA vide pre kao pomoćni biološki marker za određivanje %p2PSA i PHI, nego kao nezavisni biološki marker za predikciju CaP (Pecoraro V. i sar.,2015).

Predmet naše analize bila je i vrednost %p2PSA. U okviru naše studije nismo mogli da odredimo adekvatnu graničnu vrednost. Graničnu vrednost 1,245%, pri senzitivnosti 90% (što se smatra klinički prihvatljivim) koristili smo radi poređenja naših rezultata sa rezultatima drugih studija. Rezultati naše studije pokazali su da je %p2PSA bio značajno viši u grupi pacijenata sa CaP u odnosu na pacijente sa BPH. Ovi rezultati su u korelaciji sa rezultatima drugih studija (Stephan C. i sar, 2013, Boegemann i sar, 2016).

Guazzoni i sar. navode graničnu vrednost za %p2PSA od 2,18%, pri senzitivnosti od 90,7% i specifičnosti od 32% (Guazzoni G. i sar, 2011), slično kao i rezultati od Mikolajcyk i saradnika (Mikolajcyk SD. i sar, 2004). Ove registrovane granične vrednosti su više od granične vrednosti naše studije koja pri senzitivnosti od 90% iznosi 1,245%. Myakubo i saradnici navode graničnu vrednost sličnu našoj (Myakubo M. i sar, 2011). Znatno niže granične vrednost pri istoj senzitivnosti bile su prisutne u studijama rađenim u Azijskoj populaciji. Ito i saradnici u svojoj studiji prijavljuju vrednost od 1,06% (Ito K. i sar, 2013). Još nižu graničnu vrednost od 0,99%, prijavili su Ng i saradnici (Ng CF. i sar, 2014). Meta analiza Filella i sar. (Filella X. i sar, 2013) pokazala je da pri senzitivnosti od 90%, specifičnost za %p2PSA iznosi 32% (u rangu 21%-49%) što je u saglasnosti sa rezultatima naše studije (34,4%). Ovaj rezultat potvrđen je i u meta-analizi Wang-a i saradnika (Wang W. i sar, 2014), koja je obuhvatila 16 studija i pokazala da je prosečna vrednost AUC za %2PSA bila ista kao i u prethodno navedenim studijama, uključujući i našu. Pozitivna prediktivna vrednost za %p2PSA u našoj studiji, za senzitivnost od 90% iznosila je 58,4%, dok je NPV iznosila 78,6%, što ukazuje na kliničku značajnost ovog markera. Do sličnih rezultata došli su i Lazzeri i saradnici kod kojih je NPV iznosila 77%, a PPV 44,7% (Lazzeri M i sar, 2013). Ovim je pokazano da je %p2PSA mnogo bolji marker za detekciju CaP, dostižući veću senzitivnost i specifičnost u odnosu na standardno korišćene markere (PSA i fPSA).

Sledeći, multikomponentni korak u otkrivanju mogućeg senzitivnijeg pokazatelja CaP jeste i određivanje PHI, što je bio i jedan od ciljeva našeg istraživanja. Prosečna vrednost PHI, u našoj studiji, bila je daleko veća kod pacijenata sa CaP (54,77) nego u grupi pacijenata sa benignim bolestima prostate (39,15). Stephan i saradnici navode prosečnu vrednost od 52,1 kod pacijenata sa karcinomom i 34,7 bez karcinoma, što su nešto niže vrednosti od naše studije (Stephan C i sar, 2013). U grupi pacijenata Azijskog porekla u kome su vrednosti PSA iznosile od 10 do 20 ng/mL (što u slučaju azijskih populacija predstavlja sivu zonu PSA) vrednosti PHI bile su znatno više. Prosečna vrednost PHI kod pacijenata sa CaP iznosila je 97,15, dok je prosečna vrednost PHI kod pacijenata sa BPH bila približno ista kao i kod pacijenata iz Evrope (Yu GP. i sar, 2016).

ROC analizom pokazali smo da je PHI znatno bolji marker za detekciji CaP od PSA i fPSA, ali da je slabiji u odnosu na %2PSA. Ni za PHI nismo uspjeli da odredimo jasnu graničnu vrednost, ali zbog poređenja sa drugim studijama izabrali smo 27,48, pri senzitivnosti od 90,6% i specifičnosti od 26,6%. Pri istoj senzitivnosti Miyakubo i saradnici prijavili su graničnu vrednost od 24,9. Ova određena vrednost slična je našoj, pri istoj senzitivnosti, ali pri nešto višoj specifičnosti (33%) (Miyakubo M. i sar. 2011). Catalona WJ. i saradnici prijavili su nešto nižu graničnu vrednost koja je iznosila 21,1 pri specifičnosti od 26% (Catalona WJ, 2001). Poređenjem sa multicentričnom studijom Stephanana i saradnika (Stephan C. i sar, 2013) u kojima su se vrednosti AUC za PHI kretale u rasponu od 0,72 do 0,74, u našoj studiji vrednosti AUC su se pokazale kao nešto niže.

Pojedine studije su pokazale da PHI i %p2PSA imaju slične performanse u detekciji CaP kod pacijenata sa PSA u granicama 2-10ng/mL (Guazzoni G. i sar, 2011). Guazzoni i saradnici pokazali su da je AUC za %p2PSA i PHI bio vrlo sličan u obe grupe pacijenata u ovim opsezima PSA. Meta analiza Filella i sar. pokazala je da je diskriminaciona moć %p2PSA u razlikovanju pacijenata sa i bez CaP mnogo veća nego %fPSA i PSA, kao što je to slučaj i u našoj studiji (Filella X. i Gimenez N., 2013). Pokazalo se i da je AUC za %p2PSA u našoj studiji bio veći nego u većini proučavanih studija obuhvaćenih ovom meta analizom. Svi ovi rezultati ukazuju na to da je %p2PSA odličan marker i da ima veću specifičnost od PSA i %fPSA u detekciji CaP u rangu PSA 2-10ng/mL, kao što smo i mi potvrdili u našoj studiji.

Novije studije pokazuju da PHI i %p2PSA mogu da ukažu na postojanje agresivne forme CaP. Upotreba ovih bioloških markera omogućila bi bolju diferencijaciju agresivnih formi od niskorizičnih CaP, a time bi se smanjila suvišna dijagnostika i nesvršishodno lečenje (Lazzeri M. i sar, 2014, Fossati N. i sar, 2015; Foley RW i sar, 2016; Le BV. i sar, 2010).

Našom studijom pokazali smo da sa porastom vrednosti PHI statistički značajno raste i broj pacijenata sa CaP. U prvoj kategoriji PHI kao referentnoj (0-24,9), skoro dve

trećine pacijenata (70,6%) bilo je sa dijagnozom benignih bolesti prostate. Sa porastom vrednosti PHI procentualno je rastao i broj pacijenata sa CaP. Pri vrednostima PHI većim od 55, CaP bio je prisutan kod 70,6% pacijenata. Na ovaj način smo pokazali da postoji značajna korelacija povišenih vrednosti PHI i pojave CaP. Isti dizajn studije korišćen je i u multicentričnoj studiji Catalona WJ i saradnika (Catalona WJ. i sar, 2011). Oni su zaključili da za individualnu procenu rizika verovatnoća postojanja karcinoma varira i da zavisi od PHI. Ukoliko je PHI preko 55 verovatnoća postojanja karcinoma iznosila je 52%, a relativni rizik od pozitivne biopsije je bio 4,7 puta veći nego kod pacijenata kod kojih je vrednost PHI bila ispod 25. Ako je PHI manji od 25, pri senzitivnosti 90%, verovatnoća postojanja karcinoma iznosila je samo 11%.

Rezultati naše studije pokazali su da su fPSA, %fPSA, %p2PSA i PHI, imali značajnu prognostičku vrednost u identifikaciji pacijenata sa CaP, što je u saglasnosti sa studijom Lazzeri i saradnici (Lazzeri M. i sar, 2013).

Istovremeno, u cilju kontrolisanja potencijalnih pridruženih faktora i identifikacije onih koji imaju nezavisnu prognostičku vrednost za identifikaciju pacijenata sa CaP korišćena je multivarijantna regresiona jednačina. U multivarijantnoj analizi, bazični model sačinjavale su vrednosti PSA, fPSA, %fPSA, a potom su dodavane vrednosti drugih ispitivanih markera (p2PSA, %p2PSA, PHI), i na taj način procenjivana je njihova nezavisna prediktivna moć. Drugim rečima, na ovaj način smo sagledavali da li ulazak ovih varijabli u multivarijantni regresioni model poboljšava njegovu prediktornu vrednost. Rezultati ovakvog metodološkog pristupa u našem istraživanju su pokazali da se najbolji rezultati dobiju kada se bazični model koristi u kombinaciji sa %p2PSA, a potom p2PSA i PHI. Ostale studije koje su primenjivale isti bazični model pokazale su da se uključanjem vrednosti PHI, kao i p2PSA, dobija najbolja prediktivna moć modela u dijagnostici CaP, dok je nešto lošiji rezultat dobijen uključivanjem %p2PSA u model, što se razlikovalo od naše studije (Lughezzani G. i sar, 2014; Lazzeri M. i sar, 2013). Ovim se pokazalo da korišćenjem p2PSA u multivarijantnim modelima, može značajno da se predvidi postojanje CaP, za razliku od njegove uloge kao samostalnog markera u univarijantnom modelu gde nije pokazao značajnu prediktivnu vrednost.

Kada smo analizirali kliničku vrednost ispitivanih biomarkera u detekciji agresivne forme CaP ($GS \geq 7$) pokazalo se da su samo PHI i %p2PSA imali statističku značajnost. Odnosno, upotrebom jedino ova dva markera, od svih drugih ispitanih, može se napraviti razlika između pacijenata sa agresivnom formom CaP i klinički nesignifikantnima karcinomom. Korišćenjem ROC analize nismo mogli da odredimo njihovu jasnu graničnu vrednost, ali zbog poređenja rezultata sa drugim studijama uzeli smo da je pri senzitivnosti od 92% granična vrednost za %p2PSA 1,3%, a za PHI pri istoj senzitivnosti 31,3. Naši nalazi su u saglasnosti sa studijom Lazzeri i saradnika, koji su takođe pokazali da samo ova dva markera mogu da indentifikuju pacijente sa agresivnom formom CaP, s tim što se u njihovoj studiji PHI pokazao nešto boljim markerom u odnosu na %p2PSA (Lazzeri M. i sar, 2013).

U okviru naše studije, multivarijantna regresiona analiza za predikciju agresivne forme CaP (bazični model sa drugim parametrima) pokazala je da samo %p2PSA ima visoku statističku značajnost, a da su modeli koji su uključivali PHI i p2PSA bili blizu konvencionalne značajnosti. Lazzeri i sar. su takođe pokazali ulogu ovako konstruisanih modela u predikciji agresivnih formi karcinoma (Lazzeri i sar, 2013). Kod njih podjednako dobro pokazali su se p2PSA i PHI, a nešto lošije %p2PSA. Ovim modelima se pokazalo da se uključivanjem p2PSA može povećati prediktivnost agresivnih formi, ali da p2PSA sam po sebi nema nikakvu dijagnostičku vrednost, kako za detekciju karcinoma, tako ni za predviđanje njegove agresivnosti. Naime, on figurira samo kao jedan od parametara u izračunavanju PHI i %p2PSA.

U studiji Foley i saradnika, u kojoj je učestvovalo 250 pacijenata, upoređivana su dva modela kreirana na osnovu multivarijantne logističke regresije, prvi koji je uključivao PSA i drugi sa PHI (Folye RW i sar, 2016). U oba modela u obzir su uzimane i godine starosti, nalaz na DRE, porodična istorija CaP i prethodna negativna biopsija prostate. Svaki model je bio podešen da može da predvidi postojanje karcinoma i njegovu agresivnost. Od ukupnog broja pacijenata 45% je imalo CaP, od toga 31% agresivnu formu ($GS \geq 7$ i veći). Pokazalo se da je PHI imao najveću prediktornu sposobnost za detekciju CaP na biopsijskom nalazu. Superiornost PHI u odnosu na PSA pokazala se i u predviđanju

agresivnosti karcinoma. Svi drugi pojedinačni biomarkeri bili su inferiorniji u predviđanju karcinoma i njegove agresivnosti u odnosu na kombinaciju koju predstavlja PHI, ali je od svih njih %p2PSA imao najveći AUC za predviđanje karcinoma prostate (0,683) i agresivne forme karcinoma. Da bi procenili klinički značaj PHI, model sa PHI je upoređen sa PSA modelom i PCPT modelom (kalkulator rizika) korišćenjem ROC analize gde se pokazala superiornost PHI modela u odnosu na druga dva u predikciji CaP. Takođe superiornost PHI modela nad PSA i PCPT modelom se pokazala i u predikciji agresivnosti karcinoma. Pokazalo se i da je PHI model znatno bolji u predikciji karcinoma i agresivnosti nego PHI kao samostalan marker (Foley RW. i sar, 2016).

Deskriptivna statistička analiza u našoj studiji pokazala je da je najveći broj pacijenata (62%) imalo nesignifikantni karcinom (Glison skor <7), dok je 38% pacijenata imalo agresivniju formu karcinoma (Glison skor ≥ 7). Klasifikacijom pacijenata u grupe na osnovu vrednosti PHI pokazali smo da je u grupi pacijenata sa PHI od 0 do 24,9, čak 80% pacijenata imalo nesignifikantni karcinom (Glison skor <7), a samo 20% agresivniji oblik (Glison skor ≥ 7). Sa rastom PHI kategorije pokazalo se da raste i procenat pacijenata sa agresivnim oblikom karcinoma, tako da je u kategoriji PHI preko 55, ovaj procenat bio duplo veći u odnosu na prvu kategoriju. Odnosno, pokazalo se da sa porastom PHI, raste i mogućnost postojanja agresivnije forme karcinoma. Stephan i saradnici su dobili slične rezultate, broj otkrivenih agresivnih formi karcinoma rastao je sa porastom vrednosti PHI, čineći otprilike 50% svih otkrivenih karcinoma, kada je vrednost PHI bila preko 50. Klasifikacijom pacijenata u grupe na osnovu PHI, pokazuje se sve veća verovatnoća za postojanje CaP. Procenjeno je da je vrednost PHI pri sensitivnosti 90% iznosila 40, a da je najefikasnija vrednost PHI bila 49,5 što je u saglasnosti sa našim rezultatima. Isti autor zaključuje da ovakve prelomne tačke nisu mogle sa sigurnošću da naprave razliku Glisona 3+4 i Glisona 4+3. Naime sa izabranom graničnom vrednošću od 40, oko 84% tumora sa Glisonom 4+3 bilo je iznad ove vrednosti, a samo 18% ispod vrednosti 40. Ukoliko se koristi prelomna tačka od 49,5 za PHI, 76% Glison 4+3 tumora je bilo iznad, a 47% tumora sa Glison 3+4 ispod ove granične vrednosti (Stephan C. i sar, 2013).

Jedan od ciljeva naše studije je bio i da pokušamo da procenimo rizik od postojanja agresivnijih formi karcinoma (Glison skor ≥ 7), u odnosu na vrednosti PHI korišćenjem logističke regresione analize, ali bez statističke značajnosti zbog malog uzorka. U istim kategorijama pacijenata gde smo prvu kategoriju PHI od 0-24,9 uzeli kao referentnu, pokazalo se da će pacijenti imati rastući relativni rizik od postojanja agresivnog karcinoma sa porastom kategorija. U sledećoj kategoriji PHI od 25- 34,9 procenjeni rizik bio je skoro 2,5 puta veći, a u kategoriji 35-54,9 2 puta veći. Na kraju, u kategoriji PHI većoj od 55 rizik da će pacijenti imati agresivnu formu karcinoma bio je 3,4 puta veći nego u grupi pacijenata sa PHI manjim od 25. Na osnovu dobijenih rezultata zaključili smo da će pacijenti sa PHI manjim od 25 imati 3,4 puta manji rizik od agresivnije forme karcinoma. Na isti način, procenjen je rizik od postojanja agresivne forme CaP i u studiji Catalona i saradnika (Catalona WJ. i sar, 2011.). U toj multicentričnoj studiji je bilo uključeno 892 pacijenta. Catalona i saradnici su dokazali da je sa porastom PHI rastao i relativni rizik od postojanja karcinoma u istim kategorijama PHI koje smo i mi koristili (1,6 puta u drugoj kategoriji, za 3 puta u trećoj kategoriji i 4,7 puta za kategoriju PHI preko 55). U istim rangovima rastao je i rizik za postojanje agresivnije forme karcinoma (Glison skor ≥ 7). Takođe, pokazano je da sa porastom PHI raste i procenat karcinoma sa Glison skor ≥ 7 nađenog na biopsiji i da porast po rangovima iznosi od 26,2%, na 28,2% zatim na 30,01% i na kraju 42,1% za PHI preko 55. Pri senzitivnosti 95% sa manjom graničnom vrednošću od 21,3 procenjuje se da će biti propušteno 25% karcinoma sa Glison skorom ≥ 7 . Svi ovi rezultati su bili konzistentni za celu ispitivanu populaciju bez obzira na godine starosti i etničku pripadnost, pa je zaključeno da je PHI koristan marker za detekciju karcinoma i stepen njegove agresivnosti.

6. Zaključci

Na osnovu dobijenih rezultata moguće je izvesti sledeće zaključke:

1. Prosečna vrednost fPSA bila je značajno niža kod pacijenata sa karcinomom prostate u odnosu na grupu pacijenata bez ovog oboljenja. Takođe, rezultati ROC analize pokazali su više prelomnih tačaka u zavisnosti od željene senzitivnosti i specifičnosti. Prelomna tačka za vrednost 1,035ng/mL, pri kojoj je senzitivnost analize (Sn) iznosila 60,9%, a specifičnost (Sp) 81,5%, pozitivna prediktivna vrednost (PPV) iznosila je 75%, a negativna prediktivna vrednost (NPV) 67,5%.
2. Prosečna vrednost %fPSA bila je značajno niža u posmatranoj grupi bolesnika sa karcinomom prostate. Rezultati ROC analize pokazali su više prelomnih tačaka. Pri najboljem odnosu Sn (68,8) i Sp (64,6%) granična vrednost iznosila je 16,050%. Pri Sn od 90% i Sp 40%, granična vrednost bila je 11,4%, a PPV 59,85% i NPV 81,3%.
3. Kao najbolji marker u izvedenoj studiji pokazao se %p2PSA čije je prosečna vrednost bila značajno viša u grupi pacijenata sa malignim oboljenjem prostate. Rezultati ROC analize pokazali su tri značajne prelomne tačke: za vrednost 1,245%, PPV iznosila je 58,4%, a NPV 78,6%, pri Sn 90,8% i Sp 34,4%; za vrednost 1,673%, PPV iznosila je 68,1%, dok je NPV bila 71,9%, pri Sn 75,4% i Sp 64,1%. Za prelomnu tačku 2,368%, PPV iznosila je 82,4%, a NPV 61,1%, pri Sn 43,1% i Sp 90,6%.
4. Međusobni matematički odnos tri ispitivana markera PSA, fPSA i p2PSA, odnosno PHI, pokazao je značajno više prosečne vrednosti kod pacijenata sa karcinomom prostate u odnosu na pacijente sa benignim bolestima prostate. Rezultati ROC

analize pokazali su više prelomnih tačaka: vrednost 47,045, za koju je Sn 54,7%, a Sp 75%; vrednost 41,670, za koju je Sn 64,1%, a Sp 62,5%; i vrednost 35,655, za koju je Sn 78,1%, a Sp 50,0%. Rezultati analize su takođe ukazali i na potencijalne vrednosti uz koje bi se identifikovale i odgovarajuće prediktivne vrednosti ovog markera: za vrednost PHI 27,480, PPV iznosi 55,2%, dok je NPV 73,9%, dok je za prelomnu tačku PHI 41,670, PPV iznosi 63,1%, dok je NPV 63,55%. Za prelomnu tačku PHI 61,015, PPV iznosi 75,0%, a NPV iznosi 55,8%.

5. Analiza prediktivnosti prisustva karcinoma prostate pokazala je da su fPSA, %fPSA, %p2PSA i Phi, imali statistički značajnu prognostičku vrednost.
6. Kod analiziranih pacijenata sa karcinomom prostate podeljenih u grupe prema vrednostima PHI registrovan je statistički trend porasta njihovog broja u odnosu na rastuće vrednosti PHI. Skoro dve trećine pacijenata (70,6%) sa karcinomom prostate, imalo je vrednosti $\text{Phi} \geq 55$, nasuprot 29,4% pacijenata sa vrednostima $\text{PHI} < 25$.
7. U grupama pacijenata sa karcinomom prostate formiranih na osnovu vrednosti Glison skora ($\text{GS} < 7$ i $\text{GS} \geq 7$) registrovana je značajna razlika u vrednostima %p2PSA. Odnosno, jedino se na osnovu ovog markera može napraviti diskriminacija pacijenata sa klinički nesignifikantnim karcinomom i njegovom agresivnijom formom (Glison skor ≥ 7). ROC analizom određene su tri prelomne tačke pri željenoj senzitivnosti i specifičnosti. Za Sp 92% i Sn 20% prelomna tačka iznosi 1,356%; za Sp 56% i Sn 20% prelomna tačka je 2,459%; i za Sp 32% i Sn 90% prelomna tačka iznosi 3,076%.
8. Rezultati univarijantne regresione analize pokazali su da su jedino vrednosti %p2PSA bile značajan prediktor karcinoma prostate čiji je Glison skor ≥ 7 .

7. Literatura

- Abrate A, Lughezzani G, Gadda GM, et al. Clinical use of [-2] proPSA (p2PSA) and its derivatives (%p2PSA and Prostate Health Index) for the detection of prostate cancer: a review of the literature. *Korean J Urol.* 2014;55(7):436-45.
- Agnihotri S, Mittal RD, Kapoor R, et al.. Raising cut-off value of prostate specific antigen (PSA) for biopsy in symptomatic men in India to reduce unnecessary biopsy. *Indian J Med Res.* 2014; 139(6):851-6.
- Albright F, Stephenson RA, Agarwal N et al. Prostate cancer risk prediction based on complete prostate cancer family history. *Prostate.* 2015; 75(4):390-8.
- Arnold M, Karim-Kos HE, Coebergh JW et al. Recent trends in incidence of five common cancers in 26 European countries since 1988: Analysis of the European Cancer Observatory. *Eur J Cancer,* 2015; 51(9):1164-87.
- Auffenberg G, Meeks JJ. Application of the 2013 American Urological Association early detection of prostate cancer guideline: who will we miss? *World J Urol.* 2014; 32(4):959-64.
- Banerji JS, Wolff EM, Massman JD 3rd et al. Prostate Needle Biopsy Outcomes in the Era of the U.S. Preventive Services Task Force Recommendation against Prostate Specific Antigen Based Screening. *J Urol.* 2016; 195(1):66-73.
- Bangma CH, Wildhagen MF, Yurdakul G, et al. The value of (-7, -5) pro-prostate-specific antigen and human kallikrein-2 as serum markers for grading prostate cancer. *BJU Int.* 2004; 93(6):720-4.

- Bazinet M, Meshref AW, Trudel C, et al. Prospective evaluation of prostate-specific antigen density and systematic biopsies for early detection of prostatic carcinoma. *Urology* 1994; 43(1):44-51.
- Beebe-Dimmer JL, Faerber GJ, Morgenstern H, et al. Body composition and serum prostate-specific antigen: review and findings from Flint Men's Health Study. *Urology* 2008; 71:554-60.
- Benson MC, Whang IS, Pantuck A, et al. Prostate specific antigen density: a means of distinguishing benign prostatic hypertrophy and prostate cancer. *J Urol.* 1992; 147(3 Pt 2):815-6.
- Bertoli G, Cava C, Castiglioni I. MicroRNAs as Biomarkers for Diagnosis, Prognosis and Theranostics in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci.* 2016; 17(3). pii: E421.
- Bhindi B, Margel D, Hamilton RJ et al. The impact of the use of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the risk of prostate cancer detection on biopsy. *Urology.* 2014;84(5): 1073-80.
- Bjurlin MA, Carter HB, Schellhammer P, et al. Optimization of initial prostate biopsy in clinical practice: sampling, labeling and specimen processing. *J Urol* 2013; 189:2039-46.
- Boegemann M, Stephan C, Cammann H, et al. The percentage of prostate-specific antigen (PSA) isoform [-2]proPSA and the Prostate Health Index improve the diagnostic accuracy for clinically relevant prostate cancer at initial and repeat biopsy compared with total PSA and percentage free PSA in men aged ≤ 65 years. *BJU Int.* 2016; 117(1):72-9.
- Brawley OW. Trends in Prostate Cancer in the United States. *Journal of the National Cancer Institute Monographs.* 2012; 2012(45):152-156.

- Cancer Registry of Central Serbia, Institute of Public Health of the Republic of Serbia 1999-2009. Available at: <http://www.batut.org.rs/> Accessed: January 12, 2016.
- Carlsson S, Assel M, Sjoberg D, et al. Influence of blood prostate specific antigen levels at age 60 on benefits and harms of prostate cancer screening: population based cohort study. *BMJ*. 2014; 348:g2296.
- Carter HB, Ferrucci L, Kettermann A, et al. Detection of life-threatening prostate cancer with prostate-specific antigen velocity during a window of curability. *J Natl Cancer Inst*. 2006; 98(21):1521-7.
- Carter HB, Partin AW, Luderer AA, et al. Percentage of free prostate-specific antigen in sera predicts aggressiveness of prostate cancer a decade before diagnosis. *Urology* 1997; 49:379-84.
- Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, et al. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA*.1992; 267(16):2215-20.
- Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG et al. Serum pro prostate specific antigen improves cancer detection compared to free and complexed prostate specific antigen in men with prostate specific antigen 2 to 4 ng/ml. *J Urol*. 2003; 170(6 pt 1):2181-5.
- Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG et al. Serum pro-prostate specific antigen preferentially detects aggressive prostate cancers in men with 2 to 4 ng/ml prostate specific antigen. *J Urol* 2004; 171(6 Pt 1):2239-44.
- Catalona WJ, Partin AW, Sanda MG et al. A multicenter study of (-2)pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific

antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *J Urol*. 2011; 185(5):1650-5.

- Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA*. 1998; 279(19):1542-7.
- Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB, et al. Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol*. 1994; 152(6 Pt 1):2031-6.
- Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *JAMA*. 1993; 270(8):948-54.
- Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med*. 1991; 324:1156–61.
- Center MM, Jemal A, Lortet-Tieulent J, et al. International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur Urol*. 2012; 61(6):1079-92.
- Chen H, Yu H, Wang J, et al. Systematic enrichment analysis of potentially functional regions for 103 prostate cancer risk-associated loci. *Prostate*. 2015; 75(12):1264-76.
- Chou R, Croswell JM, Dana T, et al. Screening for prostate cancer: a review of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*, 2011;155(11): 762-71.

- Christensson A, Björk T, Nilsson O, et al. Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol* 1993; 150:100-5.
- Cohen P, Graves H, Peehl DM, et al. Prostate specific antigen (PSA) is an insulin-like growth factor binding protein-3 protease found in seminal plasma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 75(4):1046-53.
- Cooner WH, Mosley BR, Rutherford CL Jr, et al. Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen. *J Urol* 1990; 143:1146-52.
- D'Amico AV, Renshaw AA, Sussman B, et al. Pretreatment PSA velocity and risk of death from prostate cancer following external beam radiation therapy. *JAMA.* 2005; 294(4):440-7.
- De Angelis G, Rittenhouse HG, Mikolajczyk SD, et al. Twenty Years of PSA: From Prostate Antigen to Tumor Marker. *Rev Urol.* 2007; 9(3):113-23.
- De Angelis, R, Sant M, Coleman MP, et al. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EUROCORE-5-a population-based study. *Lancet Oncol.* 2014; 15(1):23-34.
- de Vries SH, Raaijmakers R, Blijenberg BG et al. Additional use of [-2] precursor prostate-specific antigen and 'benign' PSA at diagnosis in screen-detected prostate cancer. *Urology* 2005; 65(5):926--30.
- Diamandis EP. Prostate-specific antigen: a cancer fighter and a valuable messenger? *Clin Chem.* 2000; 46(7):896-900.
- Djavan B, Milani S, Remzi M. Prostate biopsy: who, how and when - an update. *Can J Urol* 2005; 12(1):44-8, discussion 99-100.

- Djavan B, Zlotta A, Kratzik C, et al. PSA, PSA density, PSA density of transition zone, free/total PSA ratio, and PSA velocity for early detection of prostate cancer in men with serum PSA 2.5 to 4.0 ng/mL. *Urology* 1999; 54:517–22.
- Dong F, Kattan MW, Steyerberg EW et al. Validation of pretreatment nomograms for predicting indolent prostate cancer: efficacy in contemporary urological practice. *J Urol*. 2008. 180(1):150-4.
- Donovan J, Hamdy F, Neal D et al. Prostate Testing for Cancer and Treatment (ProtecT) feasibility study. *Health Technol Assess*. 2003; 7(14):1-88.
- Draisma G, Etzioni R, Tsodikov A, et al. Lead time and overdiagnosis in prostate-specific antigen screening: importance of methods and context. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101:374-83.
- Duffy MJ. Use of Biomarkers in Screening for Cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2015; 867:27-39.
- Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2005; 29(9):1228-42.
- Epstein JI, Zelefsky MJ, Sjoberg DD et al. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur Urol*, 2016; 69(3):428-35.
- Epstein, JI, Herawi M. Prostate needle biopsies containing prostatic intraepithelial neoplasia or atypical foci suspicious for carcinoma: implications for patient care. *J Urol*, 2006; 175(3Pt 1):820-34.

- Ercole CJ, Lange PH, Mathisen M, et al. Prostatic specific antigen and prostatic acid phosphatase in the monitoring and staging of patients with prostatic cancer. *J Urol* 1987; 138:1181-4.
- Esposito K, Chiodini P, Capuano A, et al. Effect of metabolic syndrome and its components on prostate cancer risk: metaanalysis. *J Endocrinol Invest.* 2013; 36(2):132-9.
- Etzioni RD, Ankerst DP, Weiss NS, et al. Is prostate-specific antigen velocity useful in early detection of prostate cancer? A critical appraisal of the evidence. *J Natl Cancer Inst.* 2007; 99(20):1510-5.
- Filella X, Giménez N. Evaluation of [-2] proPSA and Prostate Health Index (PHI) for the detection of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51(4):729-39.
- Foley RW, Gorman L, Sharifi N, et al. Improving multivariable prostate cancer risk assessment using the Prostate Health Index. *BJU Int.* 2016; 117(3):409-17.
- Fossati N, Lazzeri M, Haese A et al. Clinical performance of serum isoform [-2]proPSA (p2PSA) and its derivatives, namely %p2PSA and PHI (Prostate Health Index) in men younger than 60 years of age: results from a multicentric European study. *BJU Int.* 2015; 115(6):913-20.
- Fowke J, Signorello L, Chang S, et al. Effects of obesity and height on prostate-specific antigen (PSA) and percentage of free PSA levels among African-American and Caucasian men. *Cancer* 2006; 107:2361-7.
- Fowler JE, Bigler SA, Kilambi NK, et al. Relationships between prostatespecific antigen and prostate volume in black and white men with benign prostate biopsies. *Urology* 1999; 53:1175-8.

- Franzen S, Giertz G, Zajicek J. Cytological diagnosis of prostatic tumours by transrectal aspiration biopsy: a preliminary report. *Br J Urol.* 1960; 32:193-6.
- Füzéry AK, Levin J, Chan MM, et al. Translation of proteomic biomarkers into FDA approved cancer diagnostics: issues and challenges. *Clin Proteomics* 2013; 10:13.
- Gallina A, Chun FK, Suardi N et al. Comparison of stage migration patterns between Europe and the USA: an analysis of 11 350 men treated with radical prostatectomy for prostate cancer. *BJU Int.* 2008; 101(12):1513-8.
- Glass AS, Cary KC, Cooperberg MR. Risk-based prostate cancer screening: who and how? *Curr Urol Rep.* 2013; 14(3):192-8.
- Graefen M, Karakiewicz PI, Cagiannos I, et al. Percent free prostate specific antigen is not an independent predictor of organ confinement or prostatespecific antigen recurrence in unscreened patients with localized prostatecancer treated with radical prostatectomy. *J Urol* 2002; 167:1306-9.
- Gronberg H. Prostate cancer epidemiology. *Lancet.* 2003; 361:859-64.
- Guazzoni G, Lazzeri M, Nava L et al. Preoperative prostate-specific antigen Isoform p2PSA and its derivatives, %p2PSA and prostate health index, predict pathologic outcomes in patients undergoing radical prostatectomy for prostate cancer. *Eur Urol.* 2012; 61(3):455-66.
- Guazzoni G, Nava L, Lazzeri M et al. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA significantly improves the prediction of prostate cancer at initial extended prostate biopsies in patients with total PSA between 2.0 and 10 ng/ml: results of a prospective study in a clinical setting. *Eur Urol.* 2011; 60(2):214-22.

- Guess HA, Heyse JF, Gormley GJ. The effect of finasteride on prostate-specific antigen in men with benign prostatic hyperplasia. *Prostate* 1993; 22:31-7.
- Guo CC, Epstein JI. Intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy: Histologic features and clinical significance. *Mod Pathol.* 2006; 19(12):1528-35.
- Haas GP, Delongchamps N, Brawley OW et al. The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies. *Can J Urol.* 2008; 15(1):3866-71.
- Haider A, Zitzmann M, Doros G et al. Incidence of prostate cancer in hypogonadal men receiving testosterone therapy: observations from 5-year median followup of 3 registries. *J Urol.* 2015; 193(1):80-6.
- Heidegger I, Klocker H, Pichler R, et al. PSA Isoforms' Velocities for Early Diagnosis of Prostate Cancer. *Anticancer Res.* 2015; 35(6):3567-70.
- Heidegger I, Klocker H, Steiner E et al. [-2] pro-PSA is an early marker for prostate cancer aggressiveness. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2014; 17:70-04.
- Hemminki K. Familial risk and familial survival in prostate cancer. *World J Urol.* 2012; 30(2):143-8.
- Hirama H, Sugimoto M, Ito K et al. The impact of baseline [-2] proPSA-related indices on the prediction of pathological reclassification at 1 year during active surveillance for low-risk prostate cancer: the Japanese multicenter study cohort. *J Cancer Res. Clin. Oncol.* 2014; 140:257-63.
- Hodge KK, McNeal JE, Terris M, et al. Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol.* 1989; 142:71-4, discussion 74-5.

- Honda SA, Goldstein AP, Morita T et al. Prostate specific antigen concentrations in serum in acute illnesses. *Clin Chem*. 1996; 42(11):1785-8.
- Huang WY, Hayes R, Pfeiffer R, et al. Sexually transmissible infections and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17:2374-81.
- Hugosson J, Carlsson S, Aus G, et al. Mortality results from the Goteborg randomised population-based prostate-cancer screening trial. *Lancet Oncol* 2010; 11:725-32.
- Ilic D, Neuberger MM, Djulbegovic M, et al. Screening for prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; 1:CD004720.
- Ito K, Miyakubo M, Sekine Y et al. Diagnostic significance of [-2]pro-PSA and prostate dimension-adjusted PSA-related indices in men with total PSA in the 2.0-10.0 ng/mL range. *World J Urol*. 2013; 31(2):305-11.
- Jaiswal S, Sarmad R, Arora S, et al. Prostate Cancer for the Internist. *N Am J Med Sci*. 2015; 7(10):429-35.
- Jani AB, Johnstone PA, Liauw SL, et al. Age and grade trends in prostate cancer (1974-2003): a Surveillance, Epidemiology, and End Results Registry analysis. *Am J Clin Oncol*. 2008; 31(4):375-8.
- Jansen FH, Roobol M, Jenster G, et al. Screening for prostate cancer in 2008 II: the importance of molecular subforms of prostate-specific antigen and tissue kallikreins. *Eur Urol*. 2009; 55(3):563-74.
- Jansen FH, van Schaik RHN, Kurstjens J et al. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA in combination with total PSA and free PSA improves diagnostic accuracy in prostate cancer detection. *Eur Urol*. 2010; 57(6):921-7.

- Jemal A, Thun MJ, Ries LA, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100(23):1672-94.
- Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *J Clin Oncol.* 2006; 24(14):2137-50.
- Khan MA, Partin AW, Rittenhouse HG et al. Evaluation of proprostate specific antigen for early detection of prostate cancer in men with a total prostate specific antigen range of 4.0 to 10.0 ng/ml. *J Urol.* 2003; 170(3):723-6.
- Kirkali Z, Kirkali G, Esen A. Effect of ejaculation on prostate-specific antigen levels in normal men. *Eur Urol* 1995; 27:292-4.
- Kirolos MM. Statistical review and analysis of the relationship between serum prostate specific antigen and age. *J Urol.* 1997; 158(1):143-5.
- Kronz JD, Shaikh AA, Epstein JI. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia with adjacent small atypical glands on prostate biopsy. *Hum Pathol.* 2001; 32(4):389-95.
- Lazzeri M, Haese A, de la Taille A, et al. Serum isoform [-2]proPSA derivatives significantly improve prediction of prostate cancer at initial biopsy in a total PSA range of 2-10 ng/ml: a multicentric European study. *Eur Urol.* 2013; 63(6):986-94.
- Le BV, Griffin CR, Loeb S, et al. [-2]Proenzyme prostate specific antigen is more accurate than total and free prostate specific antigen in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective prostate cancer screening study. *J Urol.* 2010; 183(4):1355-9.

- Lein M, Brux B, Jung K, et al. Elimination of serum free and total prostatespecific antigen after radical retropubic prostatectomy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35:591-5.
- Lein M, Semjonow A, Graefen M et al. A multicenter clinical trial on the use of (-5, -7) pro prostate specific antigen. *J Urol* 2005; 174(6):2150-3.
- Li YH, Elshafei A, Li J, et al. Potential benefit of transrectal saturation prostate biopsy as an initial biopsy strategy: decreased likelihood of finding significant cancer on future biopsy. *Urology*. 2014; 83:714-8.
- Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000; 343:78-85.
- Lilja H, Christensson A, Dahlén U, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem*. 1991; 37:1618-25.
- Lilja H, Weiber H. Synthetic protease inhibitors and post-ejaculatory degradation of human semen proteins. *Scand J Clin Lab Invest* 1984; 44:433-8.
- Lilja H. A kallikrein-like serine protease in prostate fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest*. 1985; 76(5):1899-903.
- Lilja H. Prostate-specific antigen: molecular forms and the human kallikrein gene family. *Br J Urol* 1997; 79(1):44-8.
- Loeb S, Catalona WJ. The Prostate Health Index: a new test for the detection of prostate cancer. *Ther Adv Urol*. 2014; 6(2):74-7.

- Loeb S, Kettermann A, Ferrucci L, et al. PSA doubling time versus PSA velocity to predict high-risk prostate cancer: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Eur Urol.* 2008; 54(5):1073-80.
- Loeb S, Vellekoop A, Ahmed HU et al. Systematic review of complications of prostate biopsy. *Eur Urol.* 2013; 64(6):876-92.
- Loeb S. Guideline of guidelines: prostate cancer screening. *BJU Int.* 2014; 114(3):323-5.
- Lughezzani G, Lazzeri M, Haese A, et al. Multicenter European external validation of a prostate health index-based nomogram for predicting prostate cancer at extended biopsy. *Eur Urol.* 2014; 66(5):906-12.
- Makarov DV, Isharwal S, Sokoll LJ et al. Pro-prostate-specific antigen measurements in serum and tissue are associated with treatment necessity among men enrolled in expectant management for prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15:7316-21.
- Masieri L, Minervini A, Vittori G, et al. The role of free to total PSA ratio in prediction of extracapsular tumor extension and biochemical recurrence after radical prostatectomy in patients with PSA between 4 and 10 ng/ml. *Int Urol Nephrol* 2012; 44:1031-8.
- McCormac RT, Rittenhous HG, Finlay JA, et al. Molecular forms of prostate-specific antigen and human kallikrein gene family: A new era. *Urology.* 1995; 45(5):729-44.
- McNeal JE. Anatomy of the prostate and morphogenesis of BPH. *Prog Clin Biol Res* 1984; 145:27-53.

- Mejak SL, Bayliss J, Hanks SD. Long distance bicycle riding causes prostatespecific antigen to increase in men aged 50 years and over. PLoS One 2013; 8:e56030.
- Meng FJ, Shan A, Jin L, et al. The expression of a variant prostate-specific antigen in human prostate. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11:305-9.
- Merrimen JL, Jones G, Walker D et al. Multifocal high grade prostatic intraepithelial neoplasia is a significant risk factor for prostatic adenocarcinoma. J Urol. 2009; 182(2):485-90.
- Mikolajczyk SD, Catalona WJ, Evans CL et al. Proenzyme forms of prostate-specific antigen in serum improve the detection of prostate cancer. Clin Chem. 2004; 50(6):1017-25.
- Mikolajczyk SD, Grauer LS, Millar LS et al. A precursor form of PSA (pPSA) is a component of the free PSA in prostate cancer serum. Urology. 1997; 50(5):710-4.
- Mikolajczyk SD, Marker KM, Millar LS, et al. A truncated precursor form of prostate-specific antigen is a more specific serum marker of prostate cancer. Cancer Res 2001; 61:6958-63.
- Mikolajczyk SD, Marks LS, Partin AW, et al. Free prostate-specific antigen in serum is becoming more complex. Urology 2002; 59:797-802
- Mikolajczyk SD, Millar LS, Marker KM et al. Seminal plasma contains 'BPSA,' a molecular form of prostate-specific antigen that is associated with benign prostatic hyperplasia. Prostate 2000; 45(3):271-6 (a).
- Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ et al. 'BPSA,' a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. Urology. 2000; 55(1):41-5 (b).

- Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ et al. A precursor form of prostate-specific antigen is more highly elevated in prostate cancer compared with benign transition zone prostate tissue. *Cancer Res.* 2000; 60(3): 756-9 (c).
- Mistry K, Cable G. Meta-analysis of prostatespecific antigen and digital rectal examination as screening tests for prostate carcinoma. *J Am Board Fam Pract* 2003; 16:95-101.
- Miyakubo M, Ito K, Yamamoto T, et al. Diagnostic significance of [-2]proPSA, total and transition zone prostate volume adjusted PSA-related indices in Japanese men with total PSA in the 2.0 to 10.0 ng/ml range. *Eur Urol Suppl.* 2011; 10:65.
- Miyakubo M, Ito K, Yamamoto T, et al. Proprostate-specific antigen: its usefulness in the era of multiple-core prostate biopsy. *Int J Urol.* 2009; 16(6):561-5.
- Monne M, Croce CM, Yu H, et al. Molecular characterization of prostate-specific antigen messenger RNA expressed in breast tumors. *Cancer Res.* 1994; 54(24):6344-7.
- Na R, Ye D, Liu F, et al. Performance of serum prostate-specific antigen isoform [-2]proPSA (p2PSA) and the prostate health index (PHI) in a Chinese hospital-based biopsy population. *Prostate.* 2014; 74(15):1569-75.
- Netto GJ. Molecular Updates in Prostate Cancer. *Surg Pathol Clin.* 2015; 8(4):561-80.
- Newcomer LM, Stanford JL, Blumenstein BA, et al. Temporal trends in rates of prostate cancer: declining incidence of advanced stage disease, 1974 to 1994. *J Urol* 1997; 158(4):1427-30.

- Ng, CF, Chiu PK, Lam NY et al. The Prostate Health Index in predicting initial prostate biopsy outcomes in Asian men with prostate-specific antigen levels of 4–10 ng/mL. *Int Urol Nephrol*. 2014; 46(4):711-7.
- Nikolić Z, Savić Pavićević D, Brajušković G. Genetic Association Studies on Prostate Cancer. In: Mohan R, ed. *Prostate Cancer – Advances in Diagnosis, Treatment and Care of Patients*. InTECH 2016. ISBN 978-953-51-4753-4.
- Nogueira L, Corradi R, Eastham, JA. Prostatic specific antigen for prostate cancer detection. *International braz j urol*.2009; 35(5):521-531.
- Nurmikko P, Pettersson K, Piironen T, et al. Discrimination of prostate cancer from benign disease by plasma measurement of intact, free prostate-specific antigen lacking an internal cleavage site at Lys145-Lys146. *Clin Chem*. 2001; 47:1415-23.
- Onur R, Littrup PJ, Pontes JE, et al. Contemporary impact of transrectal ultrasound lesions for prostate cancer detection. *J Urol* 2004; 172:512-4.
- Oremek GM, Sapoutzis N, Eden F, et al. Complexed PSA in routine diagnosis. *Anticancer Res*. 2003;23(2A):975-7.
- Pannek J, Marks LS, Pearson JD, et al. Influence of finasteride on free and total serum prostate specific antigen levels in men with benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 1998; 159:449-53.
- Partin AW, Brawer MK, Subong ENP, et al. Prospective evaluation of percent free-PSA and complexed-PSA for early detection of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 1998; 1:197-203.
- Pecoraro V, Roli L, Plebani M, et al. Clinical utility of the (-2)proPSA and evaluation of the evidence: a systematic review. *Clin Chem Lab Med*. 2015. pii: /j/cclm.ahead-of-print/cclm-2015-0876/cclm-2015-0876.xml.

- Peehl D. Prostate specific antigen, role and function. *Cancer* 1995; 75:2021-6.
- Peltola MT, Niemelä P, Väisänen V, et al. Intact and internally cleaved free prostate-specific antigen in patients with prostate cancer with different pathologic stages and grades. *Urology* 2011; 77:1009.e1-8.
- Perdonà S, Bruzzese D, Ferro M, et al. Prostate health index (phi) and prostate cancer antigen 3 (PCA3) significantly improve diagnostic accuracy in patients undergoing prostate biopsy. *Prostate*. 2013; 73(3):227-35.
- Peter J, Unverzagt C, Krogh TN, et al. Identification of precursor forms of free prostate-specific antigen in serum of prostate cancer patients by immunosorption and mass spectrometry. *Cancer Res* 2001; 61:957-62.
- Piironen T, Petterson K, Suonapaa M et al. In vitro stability of free prostate specific antigen (PSA) and prostate specific antigen (PSA) complexed to a1-antichymotrypsin in blood samples. *Urology*. 1996; 48(6A Suppl):81-7.
- Pinthus JH, Pacik D, Ramon J. Diagnosis of prostate cancer. *Recent Results Cancer Res*. 2007; 175:83-99.
- Ploussard G, Epstein JI, Montironi R et al. The contemporary concept of significant versus insignificant prostate cancer. *Eur Urol*. 2011; 60(2):291-303.
- Pomerantz M. Active Surveillance: Pathologic and Clinical Variables Associated with Outcome. *Surg Pathol Clin*. 2015; 8(4):581-5.
- Postma R, Schroder FH. Screening for prostate cancer. *Eur J Cancer* 2005; 41:825-33.
- Pound CR, Partin AW, Eisenberger MA, et al. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy. *JAMA*. 1999; 281(17):1591-7.

- Pound CR, Walsh PC, Epstein JI, et al. Radical prostatectomy as treatment for prostate-specific antigen-detected stage T1c prostate cancer. *World J Urol* 1997; 15:373-7.
- Purohit RS, Shinohara K, Meng MV, et al. Imaging clinically localized prostate cancer. *Urol Clin North Am* 2003; 30:279-93.
- Rebbeck TR, Devesa SS, Chang BL, et al. Global patterns of prostate cancer incidence, aggressiveness, and mortality in men of African descent. *Prostate Cancer* 2013; 2013:560857
- Rhodes T, Jacobson DJ, McGree ME et al. Distribution and associations of (-2) proenzyme-prostate specific antigen in community dwelling black and white men. *J Urol*. 2012; 187(1):92-6. (a)
- Rhodes T, Jacobson DJ, McGree ME et al. Longitudinal changes of benign prostate-specific antigen and (-2)proprostate-specific antigen in seven years in a community-based sample of men. *Urology*. 2012; 79(3):655-61. (b)
- Richie JP, Catalona WJ, Ahmann FR et al. Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate specific antigen and digital rectal examination. *Urology*. 1993; 42(4):365-74.
- Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005. Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2008.
- Roddam AW, Duffy MJ, Hamdy FC, et al. NHS Prostate Cancer Risk Management Programme. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2-10 ng/ml: systematic review and meta-analysis. *Eur Urol*. 2005; 48(3):386-99.

- Roobol, M.J., et al. A risk-based strategy improves prostate-specific antigen-driven detection of prostate cancer. *Eur Urol*, 2010; 57:79.
- Scattoni V, Lazzeri M, Lughezzani G et al. Head-to-head comparison of prostate health index and urinary PCA3 for predicting cancer at initial or repeat biopsy. *J Urol*. 2013; 190:496-501.
- Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al. ERSPC Investigators. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet*. 2014; 384(9959):2027-35.
- Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J Med* 2012; 366:981-90.
- Schröder FH, van der Maas P, Beemsterboer P, et al. Evaluation of the digital rectal examination as a screening test for prostate cancer. Rotterdam section of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:1817-23.
- Seaman EK, Whang IS, Cooner W, et al. Predictive value of prostate-specific antigen density for the presence of micrometastatic carcinoma of the prostate. *Urology*. 1994; 43(5):645-8.
- Selnaes KM., et al. Peripheral zone prostate cancer localization by multiparametric magnetic resonance at 3 T: unbiased cancer identification by matching to histopathology. *Invest Radiol*, 2012; 47:624.
- Sensabaugh GF. Isolation and characterization of a semen-specific protein from human seminal plasma: a potential new marker for semen identification. *J Forensic Sci* 1978; 23:106-15.

- Shariat SF, Abdel-Aziz KF, Roehrborn CG, et al. Pre-operative percent free PSA predicts clinical outcomes in patients treated with radical prostatectomy with total PSA levels below 10 ng/ml. *Eur Urol* 2006; 49:293-302.
- Shimizu H, Ross RK, Bernstein L, et al. Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles county. *Br J Cancer*. 1991; 63(6):963-6.
- Shinohara K, Wheeler TM, Scardino PT. The appearance of prostate cancer on transrectal ultrasonography: correlation of imaging and pathological examinations. *J Urol* 1989; 142:76-82.
- Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin*. 2014; 64(1):9-29.
- Simsek U, Kutlu S, Yavascaouglu I et al. Seasonal variation of prostatic acid phosphatase and prostatic specific antigen in patients without prostatic malignancy. *Eur Urol*. 1992; 21(1):111-4.
- Smeenge M, Barentsz J, Cosgrove D et al. Role of transrectal ultrasonography (TRUS) in focal therapy of prostate cancer: report from a Consensus Panel. *BJU Int*. 2012; 110(7):942-8.
- Sobin LH, G.M, Wittekind C, TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer. 7th edn. 2009.
- Sokoll LJ, Chan DW, Mikolajczyk SD et al. Proenzyme PSA for the early detection of prostate cancer in the 2.5–4.0 ng/ml total PSA range: preliminary analysis. *Urology*. 2003; 61(2):274-6.
- Sokoll LJ, Sanda MG, Feng Z et al. A prospective, multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network study of (-2)proPSA: improving

prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2010; 19(5):1193-200.

- Sokoll LJ, Wang Y, Feng Z, et al. (-2)proenzyme prostate specific antigen for prostate cancer detection: a National Cancer Institute early detection research network validation study. *J Urol* 2008; 180(2):539-43.
- Sottile A, Ortega C, Berruti A et al. A pilot study evaluating serum pro-prostate-specific antigen in patients with rising PSA following radical prostatectomy. *Oncol Lett.* 2012; 3(4):819-24.
- Stamey TA, Yang N, Hay AR et al. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med.* 1987; 317(15):909-16.
- Stephan C, Jung K, Lein M et al. PSA and other tissue kallikreins for prostate cancer detection. *Eur J Cancer.* 2007; 43(13):1918-26.
- Stephan C, Kahrs AM, Cammann H et al. A (-2)proPSA-based artificial neural network significantly improves differentiation between prostate cancer and benign prostatic diseases. *Prostate.* 2009; 69(2):198-207.
- Stephan C, Meyer HA, Kwiatkowski M et al. A (-5, -7) proPSA based artificial neural network to detect prostate cancer. *Eur Urol.* 2006; 50(5):1014-20.
- Stephan C, Meyer HA, Paul EM et al. Serum (-5, -7) proPSA for distinguishing stage and grade of prostate cancer. *Anticancer Res* 2007; 27(4A):1833-6.
- Stephan C, Rittenhouse H, Cammann H, et al. New markers and multivariate models for prostate cancer detection. *Anticancer Res.* 2009; 29(7):2589-600.

- Stephan C, Vincendeau S, Houlgatte A et al. Multicenter evaluation of (-2) proprostate-specific antigen and the prostate health index for detecting prostate cancer. *Clin Chem.* 2013; 59(1):306-14.
- Stephenson RA, Stanford JL. Population-based prostate cancer trends in the United States: patterns of change in the era of prostate-specific antigen. *World J Urol.* 1997; 15:331-5.
- Steuber T, Nurmikko P, Haese A, et al. Discrimination of benign from malignant prostatic disease by selective measurements of single chain, intact free prostate specific antigen. *J Urol* 2002; 168:1917-22.
- Takenaka A, Hara R, Ishimura T et al. A prospective randomized comparison of diagnostic efficacy between transperineal and transrectal 12-core prostate biopsy. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2008; 11(2):134-8.
- Tchetgen MB, Song JT, Strawderman M, et al. Ejaculation increases the serum prostate-specific antigen concentration. *Urology* 1996; 47:511-6.
- Terris MK, Macy M, Freiha FS. Transrectal ultrasound appearance of prostatic granulomas secondary to bacillus Calmette-Guérin instillation. *J Urol* 1997; 158:126-7.
- The European Association of Urology (EAU). Guidelines on Prostate Cancer. Available at: http://uroweb.org/wp-content/uploads/09-Prostate-Cancer_LR.pdf.
- Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98:529-34.
- Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM, et al. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. *N Engl J Med.* 2003; 349(3):215-24.

- Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med*. 2004; 350(22): 2239-46.
- Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med*. 2004; 350(22):2239-46.
- Toi A, Neill M, Gina A, et al. The continuing importance of transrectal ultrasound identification of prostatic lesions. *J Urol* 2007; 177:516-20.
- Tosoian J, Loeb S. PSA and beyond: the past, present, and future of investigative biomarkers for prostate cancer. *ScientificWorldJournal* 2010; 10:1919-31.
- Tosoian JJ, Loeb S, Feng Z et al. Association of [-2] proPSA with biopsy reclassification during active surveillance for prostate cancer. *J Urol*. 2012; 188:1131-6.
- van Hove A, Savoie PH, Maurin C et al. Comparison of image-guided targeted biopsies versus systematic randomized biopsies in the detection of prostate cancer: a systematic literature review of well-designed studies. *World J Urol* 2014; 32(4):847-58.
- Varghese SL, Grossfeld GD. The prostatic gland: malignancies other than adenocarcinomas. *Radiol Clin North Am* 2000; 38:179-202.
- Végvári A, Rezeli M, Welinder C, et al. Identification of prostate-specific antigen (PSA) isoforms in complex biological samples utilizing complementary platforms. *J Proteomics* 2010; 73:1137-47.

- Vessella RL, Lange PH, Partin AW, et al. Probability of prostate cancer detection based on results of a multicenter study using the AxSYM free PSA and total PSA assays. *Urology* 2000; 55:909-14.
- Vickers AJ, Cronin AM, Aus G et al. A panel of kallikrein markers can reduce unnecessary biopsy for prostate cancer: data from the European Randomized Study of Prostate Cancer Screening in Goteborg, Sweden. *BMC Med.* 2008;6:19.
- Vickers AJ, Savage C, O'Brien MF, et al. Systematic review of pretreatment prostate-specific antigen velocity and doubling time as predictors for prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2009; 27(3):398-403.
- Vickers AJ, Ulmert D, Serio AM, et al. The predictive value of prostate cancer biomarkers depends on age and time to diagnosis: towards a biologically-based screening strategy. *Int J Cancer.* 2007; 121(10):2212-7.
- Vickers AJ, Ulmert D, Sjoberg DD et al. Strategy for detection of prostate cancer based on relation between prostate specific antigen at age 40-55 and long term risk of metastasis: case-control study. *BMJ.* 2013; 346:f2023.
- Volkin D, Turkbey B, Hoang AN, et al. Multiparametric MRI and subsequent MR/ultrasound fusion-guided biopsy increase the detection of anteriorly located prostate cancers. *BJU Int* 2014; 114:E43-9.
- Wang MC, Papsidero LD, Kuriyama M, et al. Prostate antigen: a new potential marker for prostatic cancer. *Prostate* 1981; 2:89-96.
- Wang W, Wang M, Wang L, et al. Diagnostic ability of %p2PSA and prostate health index for aggressive prostate cancer: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2014; 4:5012.

- Webber MM, Waghray A, Bells D. Prostate specific antigen, a serin protease, facilitates human prostate cancer cell invasion. *Clin Cancer Res.* 1995; 1(10):1089-94.
- Wu K, Hu FB, Willett WC, et al. Dietary patterns and risk of prostate cancer in U.S. men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15:167–71.
- Yin M, Bastacky S, Chandran U, et al. Prevalence of incidental prostate cancer in the general population: a study of healthy organ donors. *J Urol.* 2008; 179(3):892-5,
- Yousef GM, Diamandis EP. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev* 2001; 22:184-204.
- Yu GP, Na R, Ye DW, et al. Performance of the Prostate Health Index in predicting prostate biopsy outcomes among men with a negative digital rectal examination and transrectal ultrasonography. *Asian J Androl.* 2016. doi: 10.4103/1008-682X.172823.
- Yu H, Harris RE, Gao YT, et al. Comparative epidemiology of cancers of the colon, rectum, prostate and breast in Shanghai, China versus the United States. *Int J Epidemiol.* 1991; 20(1):76-81.
- Zaytoun OM, Anil T, Moussa AS et al. Morbidity of prostate biopsy after simplified versus complex preparation protocols: assesment of risk factors. *Urology* 2011; 77: 910-4
- Zeegers MP, Jellema A, Ostrer H. Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: a meta-analysis. *Cancer* 2003; 97:1894-903.

BIOGRAFIJA

Dr Ivan Vuković je rođen 21.01.1970. u Beogradu.

Osnovnu školu i VIII beogradsku gimnaziju (sadašnja III), završio je sa odličnim uspehom.

Studije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisao je 1988. godine, iste započeo 1989. godine, a diplomirao 1995. godine sa prosečnom ocenom 9,70.

Obavezan lekarski staž obavio je na klinikama Medicinskog fakulteta u Beogradu, a potom položio stručni ispit za lekare sa odličnom ocenom.

Od 1996. godine zaposlen je na Institutu za Urologiju i Nefrologiju, KCS u Beogradu, kada je i započeo specijalizaciju iz urologije. U stalni radni odnos na Urološkoj klinici, KCS primljen je 2000. godine.

Specijalistički ispit iz urologije položio je decembra 2001. godine sa odličnom ocenom.

Magistarsku tezu " Funkcionalna anatomija kontinentnih rezervoara beške" odbranio je na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2007. godine.

U zvanje kliničkog asistenta na predmetu hirurgija sa anesteziologijom (urologija) je izabran 2012.godine, a reizabran 2015 godine.

Polaznik je većeg broja međunarodnih kurseva i sastanaka od kojih su najznačajniji iz oblasti laparoskopske urologe (Antalya, 2006; Hamburg, 2007), i robotske hirurgije (Atina 2008).

Na stručnom usavršavanju u laparoskopskoj operativnoj tehnici u urologiji, u Opštoj Bolnici Slovenj Gradec u Slovenji, boravio je u nekoliko navrata od 2008 - 2010 godine.

Kao predavač učestvovao je na međunarodnim i domaćim skupovima.

Kao autor i koautor objavio je više radova u domaćim i stranim časopisima.

Aktivni je član Udruženja Urologa Srbije, Evropske asocijacije Urologa (European Association of Urology) i Američkog Udruženja Urologa (American association of Urology).

Posедуje aktivno znanje Engleskog jezika.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Vuković I. Ivan

broj upisa

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

„Značaj serumske izoforme prostata specifičnog antigena i njegovih derivata u ranom otkrivanju karcinoma prostate”

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 01.06.2016.

Vuković Ivan

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Ivan I. Vuković

Broj upisa

Studijski program

Naslov rada **Značaj serumske izoforme prostata specifičnog antigena i njegovih derivata u ranom otkrivanju karcinoma prostate**

Mentor Prof. Dr Aleksandar Vuksanović

Potpisani Ivan I. Vuković

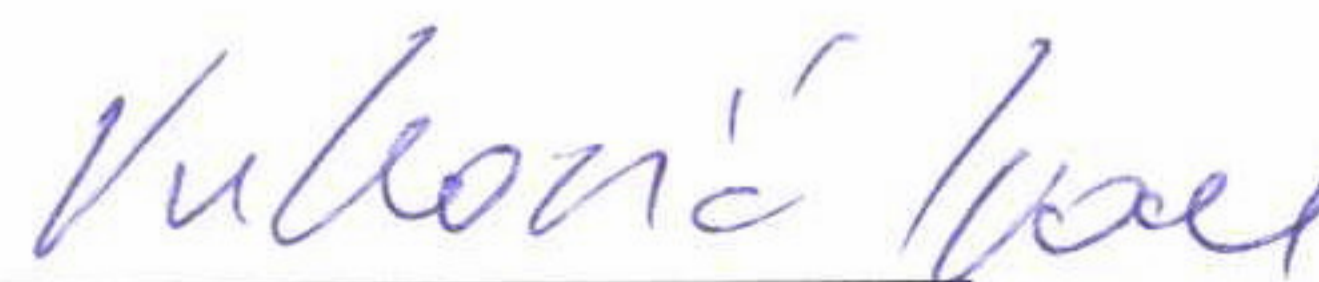
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 01.06.2016



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Značaj serumske izoforme prostata specifičnog antigena i njegovih derivata u ranom otkrivanju karcinoma prostate

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 01.06.2016.

