

PSA Değeri 4,0-10,0 ng/mL Arasında Olan Hastalarda İlk Biyopsi Öncesi ELISA Yöntemi ile Elde Edilen [-2] ProPSA ve Türevlerinin Prostat Kanseri Tanısındaki Etkinliği

Effectiveness of [-2] ProPSA and Derivatives Measured by ELISA Method in the Diagnosis of Prostate Cancer in Patients with PSA Between 4.0-10.0 ng/mL

Mustafa GÜRKAN YENİCE^a,
Alev KURAL^b,
Osman ÖZDEMİR^a,
Yavuz Onur DANACIOĞLU^a,
Yusuf ARIKAN^a,
Kamil Gökhan ŞEKER^c,
Ali İhsan TAŞÇI^a

^aÜroloji Kliniği,
^bBiyokimya Kliniği,
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
İstanbul, TÜRKİYE
^cÜroloji Kliniği,
Muş Devlet Hastanesi,
Muş, TÜRKİYE

Received: 19 Nov 2019
Received in revised form: 16 Dec 2019
Accepted: 17 Dec 2019
Available online: 20 Dec 2019

Correspondence:
Osman ÖZDEMİR
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
ozdemirosm2@gmail.com

ÖZET Amaç: Prostat kanseri [prostate cancer (PCa)] tanısında kullanılan proPSA (p2PSA, [-2] proPSA) ve türevlerinin immunoassay yöntemi yerine ELISA ile ölçüldüğünde etkinliğinin değerlendirilmesidir. **Gereç ve Yöntemler:** Prostat spesifik antijen (PSA) değeri 4-10 ng/mL arasında olan ve Şubat 2017-Eylül 2017 tarihleri arasında PCa şüphesi ile transrektal ultrasonografi (TRUS) eşliğinde prostat biyopsisi yapılan ardışık 79 hasta çalışmaya dâhil edildi. Hastalardan TRUS prostat biyopsisi öncesinde kan örnekleri alındı ve ELISA yöntemi ile hastaların p2PSA değerleri ölçüldü. Hastaların PSA, p2PSA, serbest PSA (fPSA) değerleri ile biyopsi patoloji sonuçları karşılaştırıldı. **Bulgular:** TRUS prostat biyopsisi yapılan 79 hastanın 24 (%30,38)'ünde PCa saptanırken, 55 (%69,62) hastada patoloji sonucu benign olarak sonuçlandı. PCa saptanan ve saptanmayan gruplar karşılaştırıldığında, hastaların PSA, fPSA, p2PSA, %fPSA, %p2PSA değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). İki grup arasında anlamlı fark olan tek değişkenin hasta yaşı olduğu izlendi ($p<0,05$). **Sonuç:** Literatürde, immunoassay yöntemiyle ölçüldüğünde anlamlılığı kanıtlanmış olan p2PSA ve %p2PSA değerleri, çalışmamızda kullandığımız ELISA kit ile çalışıldığında literatürün aksine anlamlı sonuçlar vermemektedir.

Anahtar Kelimeler: Prostat kanseri; ProPSA; immunoassay; ELISA

ABSTRACT Objective: To evaluate the efficacy of proPSA (p2PSA, [-2] proPSA) and derivatives used in the diagnosis of prostate cancer (PCa) when measured by ELISA instead of immunoassay method. **Material and Methods:** 79 consecutive patients with prostate specific antigen (PSA) values between 4-10 ng/mL and who underwent transrectal ultrasound (TRUS) guided prostate biopsy with suspected PCa between February 2017-September 2017 were included in the study. Blood samples were obtained from the patients before TRUS prostate biopsy and p2PSA values were measured with ELISA. PSA, p2PSA, free PSA (fPSA) values and pathological results were compared. **Results:** PCa was detected in 24 (30.38%) out of 79 patients who underwent TRUS prostate biopsy, while pathology result was benign in 55 (69.62%) patients. There was no significant difference in PSA, fPSA, p2PSA, %fPSA and %p2PSA values between the groups with and without PCa ($p>0.05$). The only significant difference between the two groups was patient age ($p<0.05$). **Conclusion:** The p2PSA and %p2PSA values, which were proven to be significant when measured by immunoassay method, do not yield significant results when measured with the ELISA kit we used in our study.

Keywords: Prostate cancer; ProPSA; immunoassay; ELISA

Prostat kanseri [prostate cancer (PCa)], erkek popülasyonunda saptanan 2. en sık kanser iken, kanser nedenli ölümlerin ise 5. en sık nedenidir.¹ Ortalama yaşam süresinin uzaması ve prostat spesifik antijen (PSA) testinin kullanımı ile birlikte PCa insidansı artmaktadır.² PSA'nın prostat kanseri taramasında yaygın olarak kullanılması, PCa'nın insidansını artırmakla birlikte, metastatik PCa tanısı ve PCa'ya bağlı ölümlerde belirgin düşüş izlenmesini sağlamıştır.³

Öte yandan PSA değeri PCa'ya spesifik değildir ve benign prostat hiperplazisi, kronik prostatit gibi benign durumlarda da yükselebilmektedir. Bu nedenle, PSA taraması gereksiz biyopsilere, aşırı tanı ve tedaviye yol açmaktadır.⁴ PSA'nın özgüllüğünü artırmak ve PCa tanısını geliştirmek için ise serbest PSA (fPSA), [-2] proPSA (p2PSA, proPSA) gibi PSA izoformları tanımlanmıştır.⁵ p2PSA (proPSA), %p2PSA, %fPSA değerlerinin ve Prostat Sağlık İndeksi [Prostate Health Index (PHI)] değerinin prostat kanseri tanısında standart PSA ölçümlerine göre daha anlamlı sonuçlar verdiği bildirilmiştir.⁶

Bu çalışmada, daha önceki yayınlarda etkinliği kanıtlanmış olan, standart olarak immünoassay yöntemleri ile çalışılan ProPSA değeri ve türevlerinin, farklı bir yöntem olan ELISA metodu ile değerlendirilmesi neticesinde elde edilen etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bildiğimiz kadarıyla daha önce ELISA yöntemi kullanılarak böyle bir çalışma yapılmamıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

ÇALIŞMA DİZAYNI VE HASTALAR

Bu çalışma, Şubat 2017-Eylül 2017 tarihleri arasında gerçekleştirilmiş gözlemsel, prospektif bir kohort çalışmasıdır. Çalışma için Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitimi ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan 2017-337 numaralı etik kurul onayı alındı ve çalışma Helsinki Deklarasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapıldı. Bu çalışma bir araştırma projesi olarak planlandı ve Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu kararı ile çalışmaya destek alındı. Çalışmada elde edilmiş olan değerler herhangi bir klinik karar aşamasında kullanılmadı. Tüm hastalara çalışma hakkında bilgi verildi ve hastalardan aydınlatılmış onam alındı. PCa şüphesi ile transrektal ultrasonografi (TRUS) prostat biyopsisi planlanan ardışık 79 hasta çalışmaya dâhil edildi. PSA değeri 4-10 ng/mL arasında olması, normal dijital rektal muayene bulguları olması dâhil edilme kriterleri olarak belirlenirken; aktif üriner enfeksiyon, akut prostatit, geçirilmiş endoskopik prostat cerrahisi, finasterid ya da dutasterid kullanımı, PCa tanısı olması, prostat bi-

yopsisi öyküsü olması dışlama kriterleri olarak kabul edildi.

SPESMEN VE LABORATUVAR ANALİZLERİ

PCa şüphesi ile günübürlük işlem ünitesine yönlendirilen ve TRUS prostat biyopsisi planlanan hastalardan biyopsi öncesi kan örnekleri alındı. Alınan kanlar santrifüj edildikten sonra -80°C'de dondurularak saklandı. Hasta sayısına ulaşıldıktan sonra YH Human Prostate-Specific Antigen Isoform [-2] proPSA (P2PSA) ELISA Kit (Shanghai Yehua Biological Technology Co., Ltd, Shanghai) kullanılarak hastaların [-2]proPSA, fPSA ve PSA değerleri ölçüldü. Ek olarak %fPSA ve %p2PSA oranları hesaplandı. %fPSA oranını hesaplamak için "(fPSA/PSA)×100" formülü kullanıldı. %p2PSA oranını hesaplamak için ise "ProPSA pg/mL/(fPSA ng/mL×1000)×100" formülü kullanıldı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sürekli değişkenlerin normal dağılım sınaması Kolmogorov Smirnov testi ile yapıldı. Normal dağılım sergileyen sürekli bağımsız değişkenlerde 2 grup karşılaştırması için bağımsız örneklem t-testi yapıldı. Normal dağılım varsayımını gerçekleştirilmeyen değişkenlerde, bağımsız 2 grup karşılaştırmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Yaş, total PSA, p2PSA, fPSA, %fPSA ve %p2PSA parametrelerinin tanısal etkinliğini kestirimde karakteristik işlem eğrisi [receiver operator curve (ROC)] analizi yapıldı. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Analizler NCSS 11 (Number Cruncher Statistical System, 2017 Statistical Software) programı ve MedCalc Statistical Software version 18 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belçika; <http://www.medcalc.org>; 2018) ile yapıldı.

BULGULAR

Çalışmaya dâhil olan hastaların ortalama yaşı 63,39±7,5 yıl ve ortalama prostat volümü 56,29±17,3 cc olarak saptandı. TRUS prostat biyopsisi yapılan 79 hastanın 24 (%30,38)'ünde PCa saptanırken, 55 (%69,62) hastada patoloji sonucu benign olarak sonuçlandı. PCa olan 24 hastanın 20 (%83,3)'si Glea-

son 6 (3+3), 2 (%8,3)'si Gleason 7 (3+4), 2 (%8,3)'si ise Gleason 7(4+3) adenokarsinom olarak saptandı.

PCa tanısı alanlar ve almayan hastalar karşılaştırıldığında, bu 2 grup arasında total PSA, p2PSA, fPSA, %fPSA ve %p2PSA ölçümleri için p değerleri sırasıyla 0,554, 0,112, 0,588, 0,193 ve 0,301 olarak hesaplandı ve bu ölçümlerin hiçbirinde anlamlı farklılık saptanmadı. Klinik olarak anlamlı fark bulunan tek parametrenin hasta yaşı olduğu saptandı ($p<0,05$). Kanser saptanan grupta hasta yaşının daha yüksek olduğu bulundu ($p<0,05$). Çalışma popülasyonundaki hasta karakteristikleri ve çeşitli PSA parametreleri Tablo 1'de verilmiştir.

ROC analizine göre, eğri altında kalan alan yaş, total PSA, p2PSA, fPSA, %fPSA ve %p2PSA için sırasıyla 0,640, 0,542, 0,613, 0,562, 0,592 ve 0,573 olarak hesaplandı. Bu değerlere bakıldığında çeşitli PSA varyasyonları içerisinde rakamsal olarak en yüksek değer proPSA (p2PSA)'ya ait olmakla birlikte, herhangi bir istatistiksel anlamlılık saptanmadı. ROC eğrileri Şekil 1'de verilmiştir. ROC analizi yapıldığında ise p2PSA, fPSA ve %fPSA ölçümlerinin p değerleri istatistiksel olarak anlamlı olarak saptanmadı ($p>0,05$).

TARTIŞMA

PSA kullanımı ile PCa'nın erken dönemde tanınması artmış ve PCa'ya bağlı ölümlerde belirgin

azalma izlenmiştir. Ancak, PCa tanısında kullanılan PSA'nın spesifik olmaması, gereğinden fazla prostat biyopsisi ve aşırı tedavi gibi sonuçlara yol açmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri, Avrupa ve Asya'da yapılmış çalışmalarla başta %p2PSA ve PHI olmak üzere, PSA derivasyonlarının PCa tanısında standart testlere göre daha başarılı sonuçlar verdiği gösterilmiştir.⁷⁻⁹

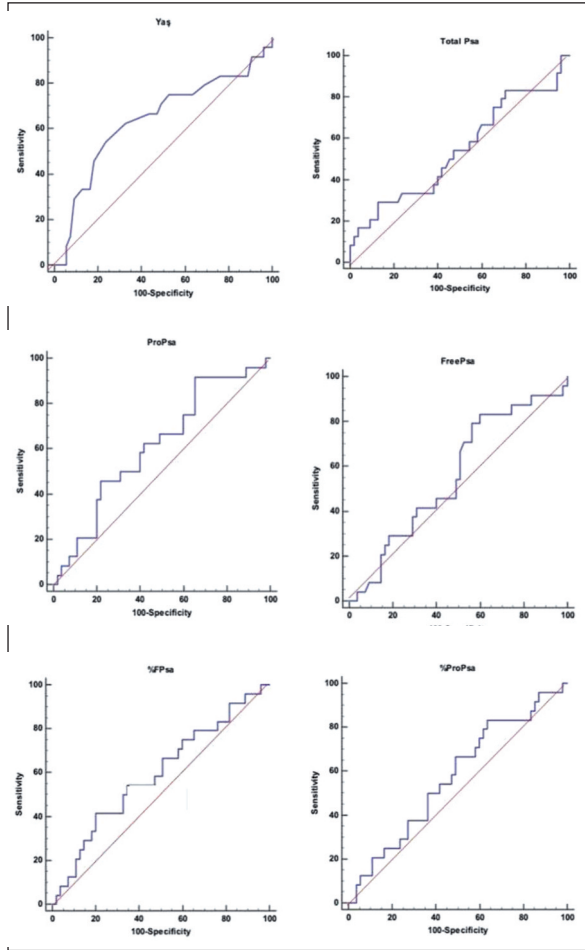
Lazzeri ve ark.nın 2013 yılındaki multisentrik çalışmasında, PSA değeri 2-10 ng/ml olan hasta grubunda p2PSA ve varyantlarının PCa'yı öngörmedeki etkisi gösterilmiştir. PSA, fPSA, %fPSA, p2PSA, %p2PSA ve PHI değerleri karşılaştırılarak en güçlü prediktörlerin %p2PSA ve PHI olduğu bildirilmiştir.⁸ Bir başka çalışmada ise Loeb ve ark., PHI değerinin yalnızca PCa'yı tanımada değil, klinik anlamlı PCa tanısında da PSA, p2PSA ve fPSA'dan daha etkili sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.¹⁰

p2PSA ve bunun diğer parametrelerle formülize edilmiş hâli olan PHI değeri, şu ana kadar yapılmış çalışmalarda immünoassay yöntemi ile ölçülmüş ve hesaplanmıştır. Çalışmamızda ise p2PSA değeri, standart kullanım olan immünoassay yöntemi yerine YH-ProPSA ELISA yöntemi ile ölçülerek literatürde yer edinmiş olan bu PSA çeşitlerinin farklı metotlarla da başarılı sonuçlar verip vermeyeceği araştırılmak istendi. ELISA yöntemi

TABLO 1: PSA derivasyonlarının benign ve malign gruplar arasındaki karşılaştırılması.

	Toplam n=79 Ort.+SS Med. (min.-maks.)	Benign n=55 Ort.+SS Med. (min.-maks.)	Malign n=24 Ort.+SS Med. (min.-maks.)	p
Yaş (yıl)	63,39±7,54 65- (46-75)	62,73±7,36 62- (47-75)	64,92±7,87 67- (46-75)	0,048
Total Psa	6,28±2,57 5,77- (4-9,9)	6±1,37 5,71- (4-9,28)	6,92±4,16 5,91- (4,04-9,9)	0,554
ProPsa	109,96±135,73 67,17- (1,7-659,89)	98,72±126,26 61,73- (1,7-659,89)	135,72±155,09 79,92- (3,22-636,8)	0,112
FreePsa	1,36±0,59 1,26- (0,49-3,05)	1,33±0,61 1,23- (0,55-3,05)	1,41±0,56 1,27- (0,49-2,79)	0,588
%fPsa	19,78±34,7 9,58- (0,76-236,33)	21,74±37,99 10,05- (0,76-236,33)	15,29±25,79 6,62- (1,01-125,62)	0,193
%proPsa	9,41±11,89 6,28- (0,12-69,83)	8,9±12,17 5,46- (0,12-69,83)	10,59±11,39 7,45- (0,27-47,17)	0,301

PSA: Prostat spesifik antijen.



RESİM 1: Değişkenlerin karakteristik işlem eğrisi analiz grafikleri.

ile çalışıldığında, p2PSA değerleri ile PCa arasında, literatürdeki yayınların aksine bir bağlantı saptanmadı.⁷⁻¹⁰ Ek olarak, p2PSA'dan yola çıkılarak hesaplanan %p2PSA değeri ile %fPSA ve fPSA değerlerinde de PCa ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Çalışmamızda, PCa olan ve olmayan grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı tek farklılığın hasta yaşı olduğu görüldü.

Literatürde ayrıca, PSA bazlı ölçümlerin değerlendirilmesinde standardizasyonun önemi bildirilmiştir. 2013 yılında yayımlanmış olan bir çalışmada, PHI değeri, Dünya Sağlık Örgütü [World Health Organization (WHO)] standardizasyonu kullanılarak prospektif ve multisentrik olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, WHO ve Hybritech standartları kullanılarak yapılan ölçümlerde PSA ve fPSA değerleri arasında farklılıklar olduğu belirtilmiş ve yine aynı çalışmada, p2PSA için uluslararası bir standart olmadığı bildirilmiştir.¹¹

Çalışmamızdaki sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmamasındaki en önemli faktörün p2PSA değerinin standart kullanımda olan immünoassay yöntemi yerine ELISA yöntemi ile çalışılması olduğu düşünülmektedir. Öte yandan, çalışma dâhilinde PCa tanısı konmuş olan 24 hastanın 20'sinde Gleason 6 (3+3) adenokarsinom saptandığına dikkat edilmelidir. Tanı alan hastaların %83'ünün klinik anlamlı PCa olmamasının da sonuçlarımızın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasına yol açmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın kısıtlayıcı yönlerinden biri, hasta sayısının az olması olarak gösterilebilir. Bir diğer kısıtlayıcı yönü ise p2PSA için kullanılan ELISA kitin sadece p2PSA ölçümü için kullanılabilmesi, fPSA ve PSA değerlerinin ise aynı kan örneği ile ancak farklı cihazlarla çalışılmış olmasıdır. Ayrıca, çalışma kohortunun yüksek oranda Gleason 6 (3+3) adenokarsinom içermesi, bu sonuçlar üzerinden ELISA yöntemi hakkında kesin çıkarımlar yapılmasına engel olabilmektedir. Çalışmanın güçlü tarafları ise prospektif bir çalışma olması ve toplanan kan örneklerinin bekleme süresinin kısa olması olarak gösterilebilir. Çalışmanın diğer bir güçlü yanı ise daha önce ELISA yöntemi kullanılarak böyle bir çalışma yapılmış olmasıdır.

SONUÇ

Literatürde, immünoassay yöntemiyle ölçüldüğünde anlamlılığı kanıtlanmış olan p2PSA ve %p2PSA değerleri, çalışmamızda kullandığımız ELISA kit ile çalışıldığında literatürün aksine anlamlı sonuçlar vermemektedir. ELISA yöntemi kullanılarak ölçülen p2PSA değerlerinin PCa teşhisinde etkin biçimde kullanılabilmesi için farklı ELISA kitlerinin kullanıldığı geniş serili randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Teşekkür

Makalenin yazım aşamasında ProPSA ELISA Kit alımında Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu'ndan destek alınmıştır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, her-

hangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Mustafa Gürkan Yenice, Osman Özdemir, Ali İhsan Taşçı; **Tasarım:** Mustafa Gürkan Yenice, Alev Kural, Yavuz Onur Danacıoğlu; **Denetleme/Danışmanlık:** Kamil Gökhan Şeker, Yusuf Arıkan, Ali İhsan Taşçı; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Osman Özdemir, Alev Kural, Mustafa Gürkan Yenice; **Analiz ve/veya Yorum:** Mustafa Gürkan Yenice, Alev Kural, Yavuz Onur Danacıoğlu; **Kaynak Taraması:** Osman Özdemir, Yusuf Arıkan, Kamil Gökhan Şeker, Ali İhsan Taşçı; **Makalenin Yazımı:** Osman Özdemir, Yusuf Arıkan, Yavuz Onur Danacıoğlu; **Eleştirel İnceleme:** Mustafa Gürkan Yenice, Kamil Gökhan Şeker, Ali İhsan Taşçı; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Osman Özdemir, Alev Kural, Ali İhsan Taşçı; **Malzemeler:** Mustafa Gürkan Yenice, Alev Kural, Osman Özdemir.

KAYNAKLAR

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424. [Crossref] [PubMed]
- Center MM, Jemal A, Lortet-Tieulent J, Ward E, Ferlay J, Brawley O, et al. International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur Urol.* 2012;61(6):1079-92. [Crossref] [PubMed]
- Schröder F, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J Med.* 2012;366(11):981-90. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Loeb S, Bjurlin MA, Nicholson J, Tammela TL, Penson DF, Carter HB, et al. Overdiagnosis and overtreatment of prostate cancer. *Eur Urol.* 2014;65(6):1046-55. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Mikolajczyk S, Catalona W, Evans C, Linton H, Millar L, Marker K, et al. Proenzyme forms of prostate-specific antigen in serum improve the detection of prostate cancer. *Clin Chem.* 2004;50:1017-25. [Crossref] [PubMed]
- Boegemann M, Stephan C, Cammann H, Vincendeau S, Houlgatte A, Jung K, 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. [Crossref] [PubMed]
- Catalona WJ, Partin AW, Sanda MG, Wei JT, Klee GG, Bangma CH, 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. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Lazzeri M, Haese A, de la Taille A, Paulou Redorta J, McNicholas T, Lughezzani G, et al. Serum isoform [-2]proPSA derivatives significantly improve prediction of prostate cancer at initial biopsy in a total PSA range of 2-10ng/ml: a multicentric European Study. *Eur Urol.* 2013;63(6):986-94. [Crossref] [PubMed]
- Ng CF, Chiu PK, Lam NY, Lam HC, Lee KW, Hou SS. 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. [Crossref] [PubMed]
- Loeb S, Sanda MG, Broyles DL, Shin SS, Bangma CH, Wei JT, et al. The prostate health index selectively identifies clinically significant prostate cancer. *J Urol.* 2015;193(4):1163-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Loeb S, Sokoll LJ, Broyles DL, Bangma CH, van Schaik RH, Klee GG, et al. Prospective multicenter evaluation of the Beckman Coulter Prostate Health Index using WHO calibration. *J Urol.* 2013;189(5):1702-6. [Crossref] [PubMed] [PMC]