

Prostata specifični antigen (PSA) – biokemijske osobitosti

dr. sc. Ana-Maria Šimundić

Klinički zavod za kemiju, Odsjek za molekularnu dijagnostiku, Klinička bolnica "Sestre milosrdnice", Zagreb

Otkriće proteina specifičnog za prostatu (PSA) značilo je revoluciju u pristupu bolesniku s karcinomom prostate. PSA je daleko od idealnog tumorskog biljega, no po mišljenju mnogih relevantnih stručnjaka najbolji je postojeći tumorski biljeg uopće. Prvi test za određivanje koncentracije PSA u serumu uveden je u kliničku praksu prije dvadeset godina. Tada prihvaćen kao tumorski biljeg koji mnogo obećava zasjenio je sve prethodno korištene biljege i nametnuo se kao standard u dijagnostici karcinoma prostate. Početni zanos uvođenja PSA u kliničku praksu zamijenila je sumnja u njegovu stvarnu ulogu u dijagnostici i praćenju bolesnika s karcinomom prostate zbog nedostatne kliničke specifičnosti i osjetljivosti. Iz tog su razloga provedena mnoga temeljna i klinička istraživanja s ciljem optimiranja diskriminacijske učinkovitosti PSA. Kao rezultat takvih studija proizile su smjernice za upotrebu PSA kao tumorskog biljega u bolesnika s karcinomom prostate

Trenutačno najbolji biokemijski biljeg karcinoma prostate – PSA – ujedno je i najučestalije korišten biljeg za pretraživanje, postavljanje dijagnoze i praćenje bolesnika. Primjena PSA kao tumorskog biljega ima i svoja ograničenja, napose zbog nedostatne dijagnostičke specifičnosti. Tijekom posljednjih dvadesetak godina, od uvođenja PSA u kliničku praksu, brojni su istraživači proučavali fiziologiju tog biokemijskog pokazatelja. Razumijevanje strukturnih te fizikalno-kemijskih osobina PSA te njegove fiziološke uloge u ljudskom organizmu nezaobilazan je korak u nastojanjima da se optimira njegova diskriminacijska učinkovitost.

Biočemiske značajke PSA

Japanski su istraživači 1971. godine u sjemenoj tekućini identificirali protein koji su nazvali γ -seminoprotein.¹ Kasnijim istraživanjima izoliran je taj protein i okarakterizirane su njegove strukturne i funkcionalne značajke, a 1979. godine nazvan je prostata specifični antigen (PSA).² Prema svojoj gradi PSA je glikoprotein s relativno malim udjelom ugljikohidrata (7%), molekularne mase oko 30 kDa.

Prema svojoj funkciji, PSA je enzim koji se ubraja u skupinu serinskih proteinaza, enzima koji su u sisavaca nositelji mnogih važnih funkcija (probavni enzimi, koagulacijski faktori, komponente sustava komplementa i dr.). Prema hidrolitičkim osobitostima PSA je nalik kimotripsinu, što znači da hidrolizira peptidnu vezu u proteinskom lancu, na mjestu gdje se nalazi tirozin ili leucin. Porodica serinskih proteinaza obuhvaća čitav niz enzima različitog porijekla i funkcije, kojima je zajedničko prisustvo serina u aktivnom centru. Unutar porodice serinskih proteaza postoji strukturalna homologija, što evolucijski gledano govori o njihovom zajedničkom genetskom pretku, tj. jednom genu iz koga su svi ostali geni nastali djelomičnom ili potpunom duplikacijom i naknadnom preuređbom.

PSA pripada velikoj porodici kalikreina. Do sada je ukupno identificirano 15 gena za serinske proteinaze iz porodice kalikreina. Zanimljivo je da su svi ti geni locirani u neprekinutom slijedu na istom kromosomu (19q13.3-13.4). Svi 15 gena imaju sličnu organizaciju (5 eksona slične veličine) i visoki stupanj medusobne homologije. Zapis o strukturi PSA se nalazi na devetnaestom kromosomu, unutar skupine gena za kalikreine. PSA je treći gen u tom slijedu, pa ga mnogi autori nazivaju i kalikrein-3 (hKLK3), a pokazuje visok stupanj homologije (70-80%) s genima za humani kalikrein-1 (hKLK-1) i humani kalikrein-2 (hKLK-2).³

PSA stvaraju epitelne stanice acinusa i kanalića prostate. Epitelne stanice luče PSA u lumen prostatičnih kanalića. U sjemenoj tekućini PSA se nalazi u visokoj koncentraciji i sudjeluje u procesu likvefakcije sjemenog koagulum. Poznato je da se u sjemenoj tekućini predominantno nalazi jedan protein velike molekularne mase (semenogelin I) kojega PSA s velikim afinitetom cijepa na manje peptide.

Molekularni oblici PSA u cirkulaciji

PSA je prisutan u tkivu prostate u koncentraciji od približno 1 mg/cm³ tkiva. U serumu zdravih muškaraca u fiziološkim uvjetima nalazi se vrlo niska koncentracija PSA koji je prostatičnog porijekla. PSA dospijeva u serum samo u slučajevima kad je narušena mikroarhitektura tkiva prostatične žlezde, što biva uzrok prelaska PSA u okolini ekstracelularni prostor, otkud biva otplavljen limfom u sistemsku cirkulaciju i u vijek je pokazatelj traume ili bolesti prostate. PSA u serumu cirkulira u nekoliko različitih molekularnih oblika:⁴

- 70-90% PSA u cirkulaciji je kovalentnim vezama vezano na inhibitore proteinaza (a1-antikimotripsin, MM 50 kDa i a2-makroglobulin, MM 720 kDa) u veliki makromolekularni kompleks. Taj PSA nazivamo kompleksirani PSA (cPSA).

- Manji dio (10-30%) je slobodan (fPSA). Taj slobodni PSA predstavlja inaktivni oblik enzima, koji ne tvori kompleks s inhibitorima proteinaza. Inaktivacija PSA dogada se još u acinusima prostatične žlezde i rezultat je proteolitičkog cijepanja veza unutar molekule PSA, što narušava njenu 3D organizaciju te posljedično i funkciju.

Vezivanjem za inhibitore proteinaza potpuno se mijenjaju antigenske determinante PSA. Takav novi kompleksirani PSA ima drugačije antigenske značajke od slobodnog PSA, što je osnova na kojoj se temelje imunokemijske metode za određivanje slobodnog i kompleksiranog PSA u serumu. Važno je pritom imati na umu da svi testovi za određivanje cPSA mjeru isključivo PSA vezan za α_1 -antikimotripsin, a ne i PSA kompleksiran s α_2 -makroglobulinom.

Populacija slobodnog, tj. enzimski inaktivnog PSA se sastoji od nekoliko različitih molekularnih oblika: bPSA (28%), iPSA (39%) i proPSA (33%), koji su porijeklom iz različitih regija prostate. Kako je poznato da se benigna hiperplazija i karcinom prostate pretežito zbivaju u različitim regijama prostate, postavlja se pitanje nisu li možda različiti molekularni oblici koji se nalaze u serumu indikator različitih patoloških zbivanja na razini prostate.

Karcinom prostate pretežito nastaje i razvija se u vanjskoj, tzv.

perifernoj regiji prostate, koja je odgovorna za porijeklo proPSA u cirkulaciji. ProPSA je preteča PSA, odnosno međuproduct u nastanku zrelog, cjelevitog proteina i njegova povećana koncentracija u serumu ukazuju, s velikom vjerojatnosti na karcinom prostate. Prema rezultatima studije na 157 muškaraca s dokazanim karcinomom prostate, u kojih je srednja vrijednost koncentracije PSA bila u rasponu 4-10 ng/mL, udio proPSA u frakciji slobodnog PSA može biti i do 33% (SLIKA 1).^{5,6}

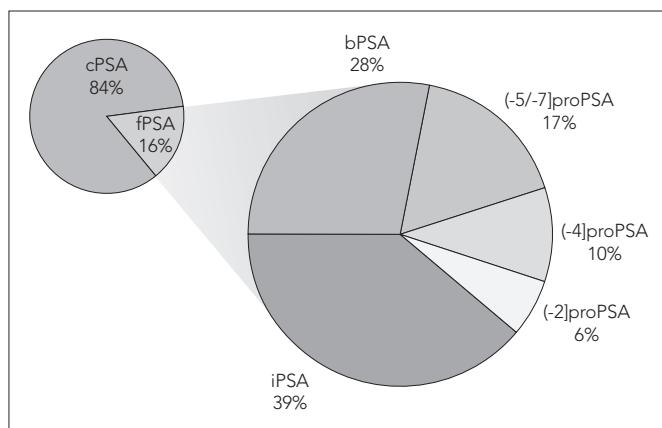
Naime, PSA nastaje u sekretornim stanicama acinusnog epitela kao inaktivni propeptid (244 aminokiselina) i kao takav se izlučuje u lumen kanaliča, gdje se od pro-peptidnog lanca odcepljuje oligopeptid dužine 7 aminokiselinskih ostataka. Nakon proteolitičke hidrolize pro-PSA molekule nastaje enzimski aktivnan, zreli PSA (237 aminokiselina). Za odcepljenje pro-peptidne sekvene (7 aminokiselina) odgovorna je serinska proteinaza hKLK-2.⁷ Takva post-translacijska modifikacija pro-peptidnog lanca je vrlo učestal način sinteze proteina, osobito enzima i može se smatrati na neki način sazrijevanjem proteinske molekule. Izvorno, proPSA sadrži 7 aminokiselinskih ostataka na početku peptidnog lanca [(-7]proPSA]. Postoje i "osakaćeni" (*truncated*) oblici proPSA s kraćim peptidnim sljedovima na početku lanca, kao što su to primjerice [(-5]proPSA], [(-4]proPSA) i [(-2]proPSA].

U tkivu prostate zahvaćene karcinomom nalazi se izrazito bujanje sekrecijski aktivnih stanica, destrukcija bazalne membrane i normalne mikroarhitekture prostatične žlijezde. Posljedica toga je stvaranje većih količina PSA (u pro-PSA molekularnom obliku), koji zbog spomenutih promjena mikroarhitekture žlijezde izbjegava susret s proteolitičkim enzimima odgovornim za njegovo cijepanje, te u pro-peptidnom obliku dospijeva u sistemsku cirkulaciju. Isto tako, onaj udio PSA koji bi se u normalnim uvjetima u zdravoj prostati inaktivirao (posredovan hKLK-2), izbjegava tu proteolitičku inaktivaciju i dospijeva u sistemsku cirkulaciju u enzimski aktivnom obliku koji trenutačno biva kompleksiran s inhibitorima proteinaza (cPSA).

S druge strane, u benignoj hiperplaziji prostate (BPH) u kojoj dolazi do hiperplazije stanica unutarnje prijelazne zone (*transition zone*) prostate nalazi se apsolutni porast koncentracije iPSA (inaktivni PSA) i bPSA (benigni PSA) u serumu, odnosno njihov povećani udio u frakciji slobodnog PSA. Radi se o porastu broja stanica prostate (hiperplazija) uz očuvane funkcionalne i strukturne značajke žlijezde i intaktnu mikroarhitekturu i bazalnu membranu. Povećani broj funkcionalno sposobnih stanica izlučuje više PSA, uz očuvan mehanizam proteolitičke pregradnje pro-PSA u PSA i proteolitičke inaktivacije enzimski aktivnog PSA u inaktivn PSA. To je u potpunosti u skladu s nalazom povišene koncentracije fPSA u bolesnika s BPH.

Dakle, iz razloga navedenih prethodno u tekstu, u cirkulaciji bolesnika s karcinomom prostate očekuje se nalaz povišene koncentracije pro-PSA i kompleksiranog PSA (cPSA), dok je u bolesnika s BPH za očekivati porast koncentracije slobodnog PSA (fPSA). Drugim

Slika 1. Postotni udjeli molekularnih oblika slobodnog PSA (fPSA) u cirkulaciji bolesnika s karcinomom prostate



rijecima, omjer fPSA/ukupni PSA je niži u bolesnika s karcinomom prostate u usporedbi s bolesnicima s benignom hiperplazijom i zdravim muškarcima. Taj je fenomen iskorišten kao osnova za diskriminaciju bolesnika s karcinomom prostate i benignom hiperplazijom.

PSA u neprostatičnim tkivima

Za PSA se dugo mislio da je eksprimiran isključivo u tkivu prostate. U novije vrijeme zna se da se ekspresija PSA nalazi u brojnim tkivima, osobito onim hormonski aktivnim. To je za očekivati, s obzirom da je poznato kako se u promotoru gena za PSA nalaze regulatorne regije na koje se mogu vezati androgeni, progesterini i kortikosteroidi i na taj način kontrolirati razinu genske ekspresije.

PSA se nalazi u muškim i ženskim periuretralnim i perianalnim žlijezdama, u cistitisu, u zdravom endometriju i u mnogim tumorima, primjerice uretre, mjehura, penisa, parotida, bubrega, adrenalnih žlijezda, kolona, ovarija, pluća, jetre i dojke. U bolesnika s karcinomom dojke imunohistokemijski nalaz PSA u tkivu se povezuje s pozitivitetom receptora za estrogene i progesterone i korelira s dobrom prognozom, manjim tumorima te pomalo neočekivano s rezistencijom na terapiju s tamoksifenom.⁸ Postoje navodi u literaturi o određivanju PSA u aspiratu iz bradavice dojke, kao mogućem načinu procjene rizika za nastanak karcinoma dojke, pri čemu je u žena s rakom dojke češći nalaz niskog PSA.^{9,10}

Uzroci varijabilnosti koncentracije PSA u serumu

Na koncentraciju biokemijskih sastojaka u serumu utječu brojni čimbenici, koji se mogu podijeliti na predanalitičke, analitičke i poslijeanalitičke. Predanalitički su čimbenici najčešći izvor pogrešaka laboratorijskih rezultata, a prema svojoj naravi mogu biti biološki i metodološki.¹¹ Biološki čimbenici općenito se dijele na:

- kratkotrajne (metabolički, stres, tjelesni napor, hemodinamski, položaj tijela, dnevni ritam i neki drugi)
- dugotrajne (genetski, spol, rasa, dob, način prehrane, opći uvjeti života, cikličke promjene kao što su godišnje doba i menstrualni ciklus, tjelesni ustroj i neke navike poput pušenja, alkoholizma i sredstava ovisnosti).

Budući da na dugotrajne čimbenike nije moguće ili je vrlo teško utjecati, iznimno ih je bitno prepoznati i imati na umu pri procjeni značenja i vjerodostojnosti laboratorijskih nalaza. Kratkotrajni se čimbenici s druge strane mogu mijenjati, smanjiti, odnosno u potpunosti ukloniti standardizacijom predanalitičkih postupaka pri pripremi bolesnika.

Dobro je poznato da serijskim određivanjem koncentracije PSA u jedne osobe rezultati mogu značajno fluktuirati. Ta je fluktuacija posljedica analitičke i biološke varijabilnosti. O analitičkom aspektu, tj. o tome kako i zašto različite metode vrlo često daju različite rezultate, raspravlja se u odjeljku Standardizacija metoda za određivanje koncentracije PSA. Biološka varijabilnost, odnosno inherenata fluktuacija koncentracije PSA oko homeostatičke točke svakog pojedinca odavno je poznata i u literaturi ekstenzivno obradena. Paradoksalno je pritom da preporuke o korištenju PSA kao tumorskog biljega u postavljanju dijagnoze i praćenju bolesnika ne sadrže preporuke o tome kako interpretirati pojedinačni rezultat, odnosno serijsko određivanje rezultata, u kontekstu biološke varijabilnosti. Prepoznavši to kao svoj imperativ, Europska je grupa za tumorske biljge (eng. European Group on Tumor Markers, EGTM) na temelju iscrpnog pregleda dosadašnjih saznanja objavljenih u literaturi izradila dokument koji je prepoznat kao svojevrsna smjernica za interpretaciju izmjerenih koncentracija PSA uz uvažavanje utjecaja biološke varijabilnosti na dobivene rezultate.¹² Sažeto na nekoliko bitnih činjenica:

- najveći doprinos u varijaciji koncentracije PSA ima biološka varijabilnost
- biološka varijacija tPSA u muškaraca >50 godina iznosi 20% (u koncentracijskom rasponu 0,1-20 µg/L)
- nema razlike u biološkoj varijabilnosti koncentracije PSA između zdravih muškaraca u dobi >50 godina i bolesnika s karcinomom prostate iste dobi (u koncentracijskom rasponu 0,1-20 µg/L)

• analitička varijabilnost (CV_a) metoda za određivanje PSA je bitno niža od biološke i njen je doprinos u ukupnoj varijabilnosti rezultata minoran

• ejakulacija i intenzivan fizički napor (tjelovježba) nemaju značajan utjecaj na koncentraciju PSA

• odluku o tome je li biopsija prostate indicirana ili ne, na temelju jednog rezultata PSA potrebno je interpretirati uz 95%-tni interval pouzdanosti, koji uvažava rasap vrijednosti oko srednje vrijednosti (homeostatska točka)

Prethodno se 95%-tni interval pouzdanosti može izračunati na temelju niza mjerjenja istog analita (dakle, u ovom slučaju PSA) u iste osobe u razmacima duljim od mjesec dana te određuje granice unutar kojih se s 95%-tom vjerojatnosti nalazi rezultat dobiven jednim mjerjenjem. Pritom treba voditi računa o tome da se u svim uzorcima PSA određuje istom metodom u istom laboratoriju kako bi se sva varijabilnost rezultata mogla pripisati isključivo biološkoj varijabilnosti.

Biopsiju ne bi trebalo indicirati ukoliko je za dobivenu koncentraciju tPSA, granica 95%-toga intervala pouzdanosti ispod granične vrijednosti na temelju koje se donosi odluka o biopsiji.

Biopsija je indicirana ukoliko je, za dobivenu koncentraciju tPSA, granica 95%-toga intervala iznad granične vrijednosti na temelju koje se donosi odluka o biopsiji.

Samo za ilustraciju, prema rezultatima EGTM studije 95%-tni interval pouzdanosti za koncentraciju PSA:

- 2,9 µg/L iznosi +34% (3,9 µg/L)
- 6,1 µg/L iznosi -33% (4,1 µg/L)

Što to znači? Ako liječnik mora na temelju jednog nalaza PSA (2,9 µg/L) donijeti odluku o tome hoće li bolesnika uputiti na biopsiju ili ne, mora imati na umu da taj isti muškarac može samo mjesec dana kasnije imati PSA vrijednost 3,9 µg/L. Pritom treba znati da se ne radi o porastu koncentracije PSA nego o njegovoj biološkoj varijabilnosti. Isto tako, izmjeri li se u jednog muškarca u intervalu od mjesec dana dva puta koncentracija PSA, može se dogoditi da u jednom mjerjenju rezultat bude 6,1 µg/L, a u drugom 4,1 µg/L, pri čemu i ovdje opaženu promjenu treba pripisati isključivo biološkoj varijabilnosti i ne uvažavati je kao stvarnu promjenu koncentracije PSA.

Da bi se promjenu koncentracije PSA proglašilo klinički značajnom, ona bi trebala iznositi ~30-50% (odnosno biti veća od biološke varijabilnosti). Samo u tom slučaju može se smatrati da se uistinu radi o stvarnoj promjeni koncentracije, odnosno da se ne radi o biološkoj varijabilnosti. To je vrlo bitno pri praćenju bolesnika s karcinomom prostate u kojih liječnika zanima dinamika promjene koncentracije PSA u serumu, tijekom vremena.

PSA kao tumorski biljeg

Idealan tumorski biljeg ne postoji, niti za karcinom prostate, niti za bilo koji drugi tumor. PSA je daleko od idealnog tumorskog biljega, no po mišljenju mnogih relevantnih stručnjaka najbolji je postojeći tumorski biljeg uopće.

Prvi test za određivanje koncentracije PSA u serumu uveden je u kliničku praksu prije dvadeset godina.¹³ Tada prihvaćen kao tumorski biljeg koji mnogo obećava zasjenjuje sve prethodno korištene biljege i nametnuo se kao standard u dijagnostici karcinoma prostate. Početni zanos uvodenja PSA u kliničku praksu zamjenila je sumnja u njegovu stvarnu ulogu u dijagnostici i praćenju bolesnika s karcinomom prostate zbog nedostatne kliničke specifičnosti i osjetljivosti. Iz tog su razloga provedena mnoga temeljna i klinička istraživanja s ciljem optimizacija diskriminacijske učinkovitosti PSA.

Kao rezultat takvih studija proizile su smjernice za upotrebu PSA kao tumorskog biljega u bolesnika s karcinomom prostate:

• U listopadu ove godine objavljena je najnovija verzija obnovljene smjernice iz 2001. godine Europskog urološkog udruženja (European Association of Urology (EAU) za karcinom prostate. Ove su smjernice dostupne na web stranici EAU: <http://www.uroweb.org>¹⁴

• Nacionalna je akademija kliničkih biokemičara (eng. National Academy of Clinical Biochemistry, NACB) sredinom ove godine objavila radnu verziju smjernica i preporuka za korištenje tumorskih

biljega za karcinom prostate (eng. *Draft Guidelines for the use of Tumor Markers in Prostate Cancer*). Taj je dokument dostupan široj stručnoj javnosti na web stranici: <http://www.nacb.org/> i otvoren je za raspravu.

U nastavku teksta osvrnut će se samo na neke najvažnije trenutačno vrijedeće postulate, prema najrecentnijim preporukama relevantnih tijela.

PSA i dalje ostaje kao tumorski biljeg izbora u ranoj detekciji karcinoma prostate i preporučuje se u kombinaciji s palpatornim nalazom. Prema EAU ostaje sporna granična vrijednost PSA. Za mlade muškarce preporuča se niža granična vrijednost od <2,5-3,0 µg/L. Prema NACB granična vrijednost i dalje je 4,0 µg/L, te se ne podržava korištenje graničnih vrijednosti prilagođenih prema dobi.

Kao rezultat nastojanja da se poboljša dijagnostička specifičnost PSA kao tumorskog biljega u detekciji karcinoma prostate predložene su mnoge njegove izvedenice (vidi članak u istom broju "Medixa": Kontroverze u dijagnostici karcinoma prostate, prim. mr. sc. dr. Dalibor Čičin-Šain). NACB ne podržava primjenu niti jedne od tih izvedenica osim određivanja udjela slobodnog PSA u ukupnoj koncentraciji PSA (%fPSA). Najveća vrijednost određivanja %fPSA je u rasponu koncentracija 4-10 µg/L jer se pokazalo kako se na taj način smanjuje broj nepotrebnih biopsija.

Možda najsnažniji dokaz, koji tome govori u prilog, podastire rad objavljen 1998. godine u časopisu JAMA¹⁵ koji daje prikaz velike prospektivne multicentrične studije, koja je uključila 773 ispitanika u dobi 50-75 godina s negativnim palpatornim nalazom i koncentracijom PSA u rasponu od 4 do 10 µg/L. Cilj istraživanja bio je razviti smjernice za primjenu koncentracije fPSA u procjeni rizika od karcinoma prostate. Temeljeno na opaženim rezultatima, autori u zaključku navode da određivanje udjela slobodnog PSA treba rabiti kao pomoćni parametar pri donošenju odluke o indiciranosti biopsije. Preporučena granična vrijednost prema autorima je 25%. Uz tu graničnu vrijednost detektira se 95% karcinoma prostate uz 20% manje nepotrebnih biopsija (TABLICA 1).

U muškaraca u kojih je palpatorni nalaz negativan, a koncentracija PSA u rasponu 4-10 µg/L, treba odrediti % fPSA. Pojedinačni pozitivni rezultat određivanja koncentracije PSA uvijek treba provjeriti mjerjenjem koncentracije PSA u ponovno izvađenom uzorku.

I EAU i NACB su sukladne u stavu da PSA i dalje ima bitnu ulogu u svim aspektima pristupa i obrade bolesnika s dijagnosticiranim karcinomom prostate: od procjene raširenosti i uznapredovalosti karcinoma prostate, do izbora optimalne terapije, procjene prognозe i praćenja uspješnosti terapije.

Za procjenu stadija karcinoma prostate u kombinaciji s kliničkim pregledom i Gleason scoreom, preporučuje se uzeti u obzir i koncentraciju PSA. Sva tri pokazatelja zajedno imaju najvišu prediktivnu vrijednost za procjenu uznapredovalosti karcinoma i indikiranosti radikalne prostatektomije.

Nakon uspješnog kirurškog zahvata koncentracija PSA je nemjerljiva. Trajno povišena koncentracija PSA ukazuje na postojanje

Tablica 1. Vjerojatnosti za karcinom prostate procijenjene na temelju izmjerenih koncentracija ukupnog PSA i % fPSA u muškaraca s negativnim palpatornim nalazom. Iz tablice se vidi kako se porastom postotka fPSA smanjuje vjerojatnost za karcinom prostate

	VJEROJATNOST ZA KARCINOM PROSTATE (uz negativan palpatorni nalaz)	VJEROJATNOST ZA KARCINOM PROSTATE (za konc. PSA 4-10 µg/L)
	%fPSA	
0-2 µg/L	1 %	0-10 %
2-4 µg/L	15 %	10-15 %
4-10 µg/L	25 %	15-20 %
>10 µg/L	> 50 %	20-25 %
		>25 %
		56 %
		28 %
		20 %
		16 %
		8 %

rezidualne bolesti. Najveća vrijednost PSA kao tumorskog biljega je upravo u praćenju uspješnosti terapije.

Porast koncentracije PSA nakon radikalne prostatektomije je biokemijski pokazatelj recidiva i u pravilu se pojavljuje godinama prije drugih znakova bolesti. Razdoblje unutar kojeg se koncentracija PSA udvostručuje, uz gradus tumora (Gleason score) i razdoblje proteklo do biokemijskog recidiva, treba rabiti kao prognostički pokazatelj koji govori o tome kada će se pojavitи metastaze.

Dakle, praćenje uspješnosti terapije je domena najznačajnije kliničke primjene PSA kao tumorskog biljega. Koncentracija PSA je prijeko potreban podatak koji govori o učinkovitosti terapije, po-muze utvrditi vjerojatnost postojanja rezidualne bolesti (lokalno ili udaljene), ukazuje na recidiv i pojavu metastaza prije no što je to moguće utvrditi drugim konvencionalnim dijagnostičkim postupcima.

Standardizacija metoda za određivanje koncentracije PSA

Komercijalno dostupne metode namijenjene za određivanje koncentracije PSA u serumu su imunoanalize. Većina njih je prilagodena za rad na automatskim analizatorima.

Različite metode vrlo često daju različite rezultate. Drugim riječima, za isti uzorak seruma dvije različite metode od dva proizvođača dat će različite koncentracije. Štoviše, ta je razlika moguća i s drugim pakiranjem istog reagensa (drugi lot). Mnogi su razlozi koji dovode do toga: različiti kalibratori, fizikalno-kemijske specifičnosti imunokemijske reakcije, učinci matriksa (uzorak u kojem se ispituju koncentracija nekog analita), analitička preciznost, osjetljivost i dr.

Nadalje, antitijela koja se koriste u različitim metodama mogu biti razvijena na različite epitope i zbog toga s drugačijim afinitetom reagirati s ciljnom molekulom, analitom čija se koncentracija određuje. Kako je već prethodno u tekstu izneseno, PSA se u cirkulaciji pojavljuje u različitim molekularnim oblicima, pri čemu isto antitijelo može različito reagirati s različitim oblicima PSA. Prema tome reagiraju li antitijela s istim ili različitim afinitetom prema slobodnom i kompleksiranom PSA metode se dijele na:

- ekvimolarne
- ne-ekvimolarne

Ekvimolarne metode su one koje sadrže antitijela koja se s istim afinitetom vežu kako za slobodni tako i za kompleksirani PSA. Ukoliko pak antitijela reagiraju s različitim afinitetom prema slobodnom i kompleksiranom PSA, radi se o ne-ekvimolarnim metodama.

Zašto je važno je li metoda ekvimolarna ili ne? Razlog je jednostavan: da bi se bilo što bliže istini, odnosno stvarnoj vrijednosti koncentracije PSA. Ne-ekvimolarne metode podcjenjuju odnosno precjenjuju stvarne koncentracije PSA i njegovim molekularnim obliku, što u praksi znači lažno pozitivne i lažno negativne rezultate. Učinak ne-ekvimolarnih metoda je najizraženiji u uzorcima koji sadrže visoki postotak slobodnog PSA. Za liječnika je to uzrok lošeg kliničkog odlučivanja, tj. pogrešno donesenih odluka, a za bolesnika nepotrebnu biopsiju ili propust da se prezna karcinom prostate u ranom stadiju.

Upravo spomenuti razlozi heterogenosti metoda za određivanje koncentracije PSA potaknuli su vodeće svjetske stručne udruge na promišljanje o potrebi njihove standardizacije.¹⁶ Što je zapravo standardizacija? U kontekstu medicinske biokemije standardizacija obuhvaća sve postupke kojima se rezultat mjerjenja nastoji približiti istini, odnosno smanjiti odstupanje od istine (*bias*), tj. stvarne vrijednosti mјerenog analita. Standardizacija je iznimno bitna stoga što ona omogućuje usporedbu rezultata: longitudinalnu i transverzalnu. Longitudinalna usporedba omogućuje praćenje koncentracije nekog parametra u iste osobe tijekom vremena i od iznimnog je značenja u praćenju bolesnika s karcinomom prostate. Transverzalna usporedba je, s druge strane, međusobna usporedba rezultata pojedinog analita dobivenih mјerenjem koncentracije istog analita u različitim osoba. I jedno i drugo je nemoguće ukoliko različite metode ne daju usporedive rezultate.

Da bi se omogućila usporedivost, Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) je u suradnji s International Federation of Clinical Chemistry 2000. godine proizvela dva međunarodna standarda prema

kojima bi se sve metode trebale kalibrirati: 100% slobodan PSA i smjesa cPSA i fPSA u omjeru 90:10.^{17,18} Uvođenje standarda će u skoroj budućnosti svakako dovesti do veće podudarnosti rezultata, uključujući proizvođači reagensa budu koristili taj materijal za kalibriranje svojih metoda za određivanje koncentracije PSA. Iako to nije rješenje za svu varijabilnost rezultata, ipak se radi o velikom napretku u združenim naporima stručnjaka i znanstvenika diljem svijeta za većom uniformnosti rezultata.

Do nekih budućih značajnijih promjena i pomaka, na svakom laboratoriju ostaje i dalje da ustanovi vlastite referentne vrijednosti za svaku metodu. Na liječniku je da bude svjestan svih uzroka i razloga heterogenosti rezultata i oprezan pri pokušajima kako longitudinalne tako i transferzalne usporedbe.

Zaključak

Potraga za idealnim biljegom karcinoma prostate i dalje traje. U tijeku su velika istraživanja u obliku randomiziranih kontroliranih kliničkih pokusa čiji je cilj procjena opravdanosti dosadašnje primjene PSA kao tumorskog biljega. Takve su studije najviše dokazne snage i njihovi će rezultati biti čvrsti argument za promjenu postojeće doktrine. Paralelno traju i bazična istraživanja kojima se ispituju i neki novi potencijalni biljezi s nadmoćnjom diskriminacijskom učinkovitosti u odnosu na postojeće. Ta su istraživanja dio tzv. proteomike, tj. globalne analize genske ekspresije, a temelje se na metodama molekularne biologije. Vrlo je vjerojatno da će PSA zadržati svoje mjesto u sklopu dijagnostičkog pristupa bolesniku s karcinomom prostate; ili u nekoj od prethodno u tekstu raspravljenih izvedenica koncentracije PSA, ili kao dio panela s nekim drugim proteinskim biljegom,¹⁹ odnosno dijagnostičkom metodom. Do tada PSA sasvim sigurno ostaje tumorski biljez izbora koji ima svoju nepobitnu vrijednost kako u ranoj dijagnostici karcinoma prostate, tako i u raslojavanju rizika, prognozi te predikciji ishoda preventivnih i terapijskih mjera. M

LITERATURA

- Hara M, Koyanagi Y, Inoue T, et al. Some physicochemical characteristics of "γ-semiprotein", an antigenic component specific for human seminal plasma. Nippon Hoigaku Zasshi 1971; 25:322-4.
- Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, et al. Purification of a human prostate-specific antigen. Invest Urol 1979; 17:159-63.
- Kim J, Coetzee GA. Prostate specific antigen gene regulation by androgen receptor. J Cell Biochem 2004; 93:233-41.
- Tietz NW, Burtis CA, Ashwood ER, Border B. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. 5th ed. Saunders (W.B.) Co Ltd., 2001.
- Mikolajczyk SD, Rittenhouse HG. Pro PSA: a more cancer specific form of prostate specific antigen for the early detection of prostate cancer. Keio J Med 2003; 52:86-91.
- Mikolajczyk SD, Catalona WJ, Evans CL, Linton HJ, Millar LS, Marker KM, Katir D, Amirkhan A, Rittenhouse HG. Proenzyme forms of prostate-specific antigen in serum improve the detection of prostate cancer. Clin Chem 2004; 50:1017-25.
- Langlois M, Blaton V. PSA and other biomarkers for early detection, diagnosis and monitoring of prostate cancer. In Topic E. New trends in diagnosis, monitoring and management of tumor diseases: handbook. 4th FESCC Continuous Postgraduate Course in Clinical Chemistry. Dubrovnik: Medicinska naklada, 2004.
- Sauter ER, Klein G, Wagner-Mann C, Diamandis EP. Prostate-specific antigen expression in nipple aspirate fluid is associated with advanced breast cancer. Clin Detect Prev 2004; 28:27-31.
- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results. Frankfurt/Main, Germany: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998.
- Sauter ER, Lininger J, Magklara A, Hewett JE, Diamandis EP. Association of kallikrein expression in nipple aspirate fluid with breast cancer risk. Int J Canc 2004; 108:588-91.
- Topic E, Primorac D, Janković S. Medicinsko-biokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada, 2004.
- Soletormos G, Semjonow A, Sibley PE, Lamerz R, Petersen PH, Albrecht W, Bialk P, Gion M, Junker F, Schmid HP, Van Poppel B. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice. Clin Chem 2005; 51:1342-51.
- Shah JB, Reese AC, McKiernan JM, Benson MC. PSA updated: still relevant in the new millennium?. European Urology 2005; 47:427-32.
- Aus G, Abbot CC, Bolla M, Heidenreich A, Schmidt HP, Poppel H, Wolff J, Zattoni F. EAU Guidelines on Prostate Cancer. European Urology 2005; 48:546-51.
- Catalona WJ, et al. Use of the percentage of free prostate specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic diseases. A prospective multicenter clinical trial. JAMA 1998; 279:1542-7.
- Stenman UH. Immunoassay Standardization: Is it Possible, Who is Responsible, Who is Capable? Clin Chem 2001; 47:815-20.
- First International Standards for Free PSA and PSA (90:10) Clin Chem 2000; 46:1310-7.
- Chan DW, Sokoll LJ. WHO First International Standards for Prostate-specific Antigen: The Beginning of the End for Assay Discrepancies? Clin Chem 2000; 46:1291-2.
- Mikolajczyk SD, Song Y, Wong JR, Matson RS, Rittenhouse HG. Are multiple markers the future of prostate cancer diagnostics? Clin Biochem 2004; 37:519-28.