

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zdravotně sociální fakulta  
Katedra laboratorních metod a informačních systémů

Bakalářská práce

Klinický význam stanovení prostatického  
specifického antigenu a jeho volné frakce  
pro detekci karcinomu prostaty

Vypracovala: Michaela Bursíková  
Vedoucí práce: MUDr. Milan Svoboda

České Budějovice 2014

## Abstrakt

V současné době je stanovení prostatického specifického antigenu (PSA) a volného prostatického specifického antigenu (fPSA) využíváno k cílené detekci časných stádií karcinomu prostaty, spolu s dalšími parametry slouží také ke sledování průběhu již prokazaného onemocnění a efektu léčby.

Cílem bakalářské práce je vypracovat rešerši na téma karcinom prostaty a benigní hyperplazie prostaty, popsat metody stanovení PSA a fPSA. Zpracovat naměřená data a vyhodnotit, ve které věkové skupině je nejvyšší počet požadavků na vyšetření PSA a zda jsou pacienti při zvýšené hodnotě PSA (dle věkové specifikace) dále laboratorně vyšetřováni. Naměřená data jsou dále zpracována ve třech vyslovených hypotézách.

Teoretická část se zabývá poznatky o anatomické stavbě prostaty a fyziologických funkcích prostatické tkáně v organizmu. V této části jsou popsána onemocnění, která mohou prostatu postihovat. Pozornost je věnována onemocněním, která mohou způsobit elevaci laboratorně stanoveného prostatického specifického antigenu a jeho volné frakce. Mezi tato onemocnění patří záněty prostaty (prostatitidy), benigní hyperplazie prostaty a karcinom prostaty. Dále je popsána etiologie onemocnění, klinické příznaky, stádia onemocnění a diagnostický postup u pacientů, kteří přicházejí s podezřením na karcinom prostaty.

V teoretické části je také popsáno laboratorní stanovení prostatického specifického antigenu, volného prostatického specifického antigenu a podmínky, které mohou ovlivnit preanalytickou a analytickou fázi jejich vyšetření. Jsou uvedeny i některé nové biochemické parametry, které by mohly v budoucnu doplnit nebo nahradit stávající laboratorní markery karcinomu prostaty. Tyto nové metody je však nutné podrobit dalším studiím.

Následuje popis analytických systémů, které jsou vhodné k laboratornímu měření prostatického specifického antigenu a volného prostatického specifického antigenu. Je vysvětlen jejich princip měření a postup, jak probíhá analýza samotná.

V závěru teoretické části jsou zmíněny možnosti sledování trendů laboratorních hodnot PSA u pacientů, kteří mají histologicky potvrzenou diagnózu karcinomu

prostaty v bioptickém vzorku. Ke sledování nárůstu hodnot PSA se používá sledování PSA velocity (PSAV) a doubling time (čas zdvojení nárůstu PSA). Tyto metody neslouží k určení diagnózy karcinomu prostaty, mají pouze prognostický význam.

Praktická část byla provedena v Klinických laboratořích Tábor a.s. Měření probíhalo v průběhu tří let (2011 – 2013) a byl vytvořen rozsáhlý soubor dat, který zahrnuje 11 357 vyšetření PSA a 2 074 fPSA. Výsledky jsou zaznamenány v příslušných grafech a tabulkách.

Všechny naměřené hodnoty byly rozděleny do šesti skupin podle věku vyšetřovaných pacientů. V první skupině pacientů do 39 let bylo změřeno 243 PSA a 13 fPSA. V dalších věkových skupinách počet vyšetření postupně vzrůstal až do 69 let, v sedmém a osmém deceniu se počet vyšetření postupně snižoval. Počet provedených vyšetření v jednotlivých skupinách byl následující: 40 až 49 let – 1305 PSA a 93 fPSA, 50 až 59 let – 3462 PSA a 519 fPSA, 60 až 69 let – 3852 PSA a 785 fPSA, 70 až 79 let – 1941 PSA a 495 fPSA, nad 80 let – 554 PSA a 162 fPSA. Data PSA vyšetření byla v každé skupině rozdělena podle cut-off hodnot, na PSA pod cut-off (v normě) a nad cut-off (mimo normu). Cut-off hodnota je pro každou věkovou skupinu rozdílná a zvyšuje se se vzrůstajícím věkem.

Byly vysloveny tři hypotézy. První vycházela z předpokladu, že pokud bude zjištěna zvýšená hodnota věkově specifického PSA, budou pacienti odesláni ke kontrolnímu laboratornímu vyšetření. Tato hypotéza se nepotvrdila. Ani v nejexponovanějších věkových skupinách nepřesáhlo procento opakovaných odběrů 50 %. Na tomto faktu se mimo jiné faktory mohla podílet i skutečnost, že pacienti mohli být odesláni přímo na specializované pracoviště, kde byl proveden kontrolní odběr.

Druhá hypotéza vycházela z předpokladu, že pacienti s nezvýšeným věkově specifickým PSA budou mít poměr fPSA/PSA více než 0,20. Překvapivým zjištěním bylo vysoké procento pacientů (43,08 - 67,61 %), kteří přes normální věkově specifickou hodnotu PSA měli poměr fPSA/PSA pod 0,20. Pokud bychom neprovedli dělení podle věkově specifických cut-off hodnot a provedli bychom stanovení fPSA u všech pacientů s hodnotami PSA v rozmezí mezi 2 - 10  $\mu\text{g/l}$ , procento pacientů s patologickým poměrem fPSA/PSA by bylo ještě výrazně vyšší. Mohlo by tak být

laboratorně odhaleno více rizikových pacientů ohrožených karcinomem prostaty ve velmi časně fázi onemocnění. I tato hypotéza byla vyvrácena.

Třetí hypotéza se týkala pacientů s patologickým věkově specifickým PSA. Předpokládalo se, že bude požadováno doplnění vyšetření fPSA. Hypotéza se nepotvrdila. Nejčastěji bylo vyšetření fPSA požadováno ve věkových skupinách od 50 do 59 let a od 60 do 69 let, kdy je prováděna cílená detekce časných stádií karcinomu prostaty.

## **Abstract**

Currently, the determination of prostate-specific antigen (PSA) and free prostate-specific antigen (fPSA) has been used for a targeted detection of early stages of prostate cancer; together with other parameters this method enables the monitoring of the course of the already diagnosed disease and the treatment effect.

The goal of the Bachelor's Thesis is to execute the literature search concerning prostate cancer and benign prostatic hyperplasia and to describe methods for determination of PSA and fPSA. In addition, to process the measured data and to assess in which age group the number of requests for PSA testing is highest and whether the patients with a higher value of PSA (based on the age specification) undergo any other laboratory tests. The measured data are further processed in terms of three formulated hypotheses.

The theoretical part of the thesis deals with findings concerning the anatomical structure and physiological functions of prostatic tissue in a human organism. In this part, diseases, which may affect prostate, are described. The focus is on diseases, which may cause the elevation of laboratory-determined prostate-specific antigen and its free fraction. These diseases include prostatitides, benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. In addition, the etiology of the disease, its clinical symptoms, stages and the diagnostic procedure in the patients coming with a suspicion of prostate cancer are described.

The theoretical part also contains the laboratory method used to determine prostate-specific antigen, free prostate-specific antigen and conditions which might affect pre-analytical and analytical phases of their testing. Furthermore, some new biochemical parameters, which may supplement or replace the existing laboratory markers of prostate cancer in the future are provided. However, these new methods must be tested in additional studies.

The aforementioned part is followed by a description of the analytical systems available for the laboratory measurement of prostate-specific antigen and free prostate-

specific antigen. The principle of the measurement and the procedure of the analysis as such are explained as well.

In the conclusion of the theoretical part, I provide an outline of the possibilities to monitor trends in PSA laboratory values in patients who were diagnosed with prostate cancer based on their bioptic samples histology. For the monitoring of an increase in PSA values, the monitoring of PSA velocity (PSAV) and doubling time (time necessary for PSA increase to double) are used. These methods are not to diagnose prostate cancer; they are important from the prognostic point of view only.

The practical part was executed in Klinické laboratoře Tábor, a.s. The measurements were performed over a period of three years (2011 - 2013) and an extensive data set, which includes 11 357 PSA tests and 2 074 fPSA tests, was collected. The results are depicted in the respective diagrams and tables.

All the measured values were divided into six groups depending on the age of the tested patients. In group one of patients younger than 39 years, 243 PSA and 13 fPSA were measured. In the remaining age groups, the number of tests increased gradually up to the age of 69 years; in the seventh and eighth decades of age the number of tests gradually decreased. The number of tests executed in individual groups was as follows: 40 to 49 years – 1 305 PSA and 93 fPSA, 50 to 59 years – 3 462 PSA and 519 fPSA, 60 to 69 years – 3 852 PSA and 785 fPSA, 70 to 79 years – 1 941 PSA and 495 fPSA, above 80 years – 554 PSA and 162 fPSA. Dates of PSA tests were divided in each group depending on the cut-off values, into below cut-off PSA (values corresponding with the standard) and above cut-off PSA (values exceeding the limits of the standard). The cut-off value is different for each age group and increases with increasing age.

Three hypotheses were formulated. The first hypothesis was based on the prerequisite that in case an increased value of age-specific PSA is found out, the patients will be asked to undergo reference laboratory testing. This hypothesis was not proven. Not even in the most exposed age groups the percentage of repeated sampling did not exceed 50 %. This fact may be, together with other factors, a consequence of the alternative when patients are asked to undergo reference testing directly in a specialized clinic.

The other hypothesis was based on the prerequisite that in the patients with a non-increased age-specific PSA the fPSA/PSA ratio will exceed 0,20. I was surprised to discover the high percentage of patients (43,08 – 67,61 %) who had the fPSA/PSA ratio lower than 0,20 despite their standard age-specific PSA value. If we did not divide patients according to their age-specific cut-off values and executed the determination of fPSA in all patients with the PSA values ranging from 2 to 10  $\mu\text{g/l}$ , the percentage of patients with the pathological fPSA/PSA ratio would be even considerably higher. This could result in a greater number of patients exposed to the risk of prostate cancer revealed in very early stages of the disease. Even this hypothesis was disproven.

The third hypothesis concerned patients with pathological age-specific PSA. We expected that a supplementation of fPSA tests will be requested. The hypothesis was not proven. In most cases fPSA tests were requested in age groups from 50 to 59 years and 60 to 69 years when targeted detection of early stages of prostate cancer is executed.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 05. 05. 2014

.....

Michaela Bursíková



## **Poděkování**

Děkuji za vedení práce MUDr. Milanu Svobodovi, za odborné konzultace paní Mgr. Lucii Pitálkové a MUDr. Daně Šináglové. Dále děkuji paní Janě Špačkové za poskytnutí podmínek k tomu, abych mohla studovat formou kombinovaného studia, rodičům, manželovi a dětem za podporu ve studiu. Bez trpělivosti, ochoty pomoci v nelehkých chvílích a podpory všech jmenovaných by tato práce nemohla vzniknout. Děkuji.

## SEZNAM ZKRATEK

|         |  |
|---------|--|
| ACT     | $\alpha_1$ - antichymotrypsin            |
| Ag      | antigen                                  |
| ALP     | alkalická fosfatáza                      |
| BHP     | benigní hyperplazie prostaty             |
| BPSA    | benigní prostatický specifický antigen   |
| CaP     | karcinom prostaty                        |
| CT      | počítačový tomograf                      |
| Cut-off | limitní hodnota                          |
| DRV     | digitální rektální vyšetření             |
| EIA     | enzymoimunoanalýza                       |
| FIA     | fluoroimunoanalýza                       |
| FN      | fakultní nemocnice                       |
| fPSA    | volný prostatický specifický antigen     |
| GS      | Gleasonovo skóre                         |
| IPSA    | neaktivní prostatický specifický antigen |
| IRMA    | imunometrická analýza                    |
| kD      | kilodalton                               |
| LIA     | luminiscenční imunoanalýza               |
| LIS     | laboratorní informační systém            |
| LUTS    | Lower Urinary Tract Symptoms             |
| NMR     | magnetická rezonance                     |
| PACP    | prostatická kyselá fosfatáza             |
| PHI     | index zdravé prostaty                    |
| PIN     | prostatická intraepitelová neoplazie     |
| PSA     | prostatický specifický antigen           |
| PSAD    | PSA denzita                              |
| PSADT   | čas zdvojení PSA (PSA doubling time)     |
| PSAD-TZ | PSA denzita tranzitorní zóny             |

|      |   |
|------|---|
| SMS  | Sample Managment System – robotické<br>rameno |
| TRUS | transrektální ultrasonografie                 |
| USG  | ultrasonografické vyšetření                   |

# OBSAH

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. ÚVOD .....</b>  | <b>15</b> |
| <b>2. TEORETICKÁ ČÁST .....</b>   | <b>16</b> |
| 2.1 PROSTATA.....   | 16        |
| 2.1.1 <i>Anatomie prostaty</i> .....                                    | 16        |
| 2.1.2 <i>Fyziologie prostaty</i> .....                                  | 16        |
| 2.1.3 <i>Onemocnění prostaty</i> .....                                  | 17        |
| 2.1.3.1 <i>Záněty prostaty (prostatitidy)</i> .....                     | 17        |
| 2.1.3.2 <i>Benigní hyperplazie prostaty</i> .....                       | 17        |
| 2.1.3.2.1 <i>Etiologie benigní hyperplazie prostaty</i> .....           | 17        |
| 2.1.3.2.2 <i>Příznaky onemocnění benigní hyperplazie prostaty</i> ..... | 17        |
| 2.1.3.3 <i>Karcinom prostaty</i> .....                                  | 18        |
| 2.1.3.3.1 <i>Etiologie karcinomu prostaty</i> .....                     | 19        |
| 2.1.3.3.2 <i>Příznaky onemocnění karcinomu prostaty</i> .....           | 19        |
| 2.1.3.3.3 <i>Klinická stádia karcinomu prostaty</i> .....               | 20        |
| 2.1.3.3.4 <i>Diagnostický postup</i> .....                              | 21        |
| 2.2 <i>VYŠETŘENÍ PROSTATY</i> .....                                     | 211       |
| 2.2.1 <i>Digitální rektální vyšetření</i> .....                         | 211       |
| 2.2.2 <i>Laboratorní vyšetření</i> .....                                | 22        |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 2.2.2.1   | Prostatický specifický antigen .....             | 22        |
| 2.2.2.1.1 | Preanalytická fáze.....                          | 23        |
| 2.2.2.1.2 | Odběr a skladování vzorku.....                   | 24        |
| 2.2.2.2   | Volný prostatický specifický antigen .....       | 24        |
| 2.2.2.2.1 | Preanalytická fáze.....                          | 24        |
| 2.2.2.3   | Poměr fPSA/PSA.....                              | 24        |
| 2.2.2.4   | Kyselá fosfatáza.....                            | 25        |
| 2.2.2.5   | PSA denzita a PSA denzita tranzitorní zóny ..... | 25        |
| 2.2.2.6   | Nové metody.....                                 | 25        |
| 2.2.2.6.1 | [-2] proPSA .....                                | 26        |
| 2.2.2.6.2 | Index zdravé prostaty .....                      | 26        |
| 2.2.2.7   | Typy metod stanovení.....                        | 26        |
| 2.2.3     | <i>Transrektální ultrasonografie</i> .....       | 28        |
| 2.2.4     | <i>Biopsie</i> .....                             | 28        |
| 2.3       | MONITOROVÁNÍ PRŮBĚHU ONEMOCNĚNÍ.....             | 288       |
| 2.3.1     | <i>PSA velocita</i> .....                        | 29        |
| 2.3.2     | <i>Doubling time</i> .....                       | 29        |
| <b>3.</b> | <b>PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....                      | <b>30</b> |
| 3.1       | METODIKA PRÁCE .....                             | 30        |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| 3.1.1     | <i>Charakteristika souboru dat</i> ..... | 30        |
| 3.1.2     | <i>Preanalytická fáze</i> .....          | 30        |
| 3.1.3     | <i>Analytická fáze</i> .....             | 31        |
| 3.1.4     | <i>Immolute 2000</i> .....               | 33        |
| 3.1.5     | <i>Pracovní hypotézy</i> .....           | 34        |
| <b>4.</b> | <b>VÝSLEDKY</b> .....                    | <b>35</b> |
| <b>5.</b> | <b>DISKUZE</b> .....                     | <b>42</b> |
| <b>6.</b> | <b>ZÁVĚR</b> .....                       | <b>44</b> |
| <b>7.</b> | <b>SEZNAM LITERATURY</b> .....           | <b>47</b> |
| <b>8.</b> | <b>KLÍČOVÁ SLOVA</b> .....               | <b>51</b> |

# 1. ÚVOD

Karcinom prostaty je v České republice jedním z nejčastějších onkologických onemocnění u mužů ve věku nad padesát let. Mortalita tohoto karcinomu má stagnující charakter díky včasné diagnostice, ke které významnou měrou přispívá i laboratorní vyšetřování prostatického specifického antigenu (PSA) a jeho volné frakce (fPSA). Cílené vyšetřování se provádí u mužů s pozitivní rodinnou anamnézou a také u mužů nad 50 let.

V této práci jsem se zaměřila na laboratorní vyšetření PSA a fPSA. Seznámila jsem se s metodikou stanovení a provedla jednotlivá měření.

Cílem bakalářské práce je vypracovat rešerši na téma karcinom prostaty a benigní hyperplazie prostaty, popsat metody stanovení PSA a fPSA. Zpracovat naměřená data a vyhodnotit, ve které věkové skupině je nejvyšší počet požadavků na vyšetření PSA a zda jsou pacienti při vyšší hodnotě PSA (dle věkové specifikace) dále laboratorně vyšetřováni. Naměřená data budou dále zpracována ve třech vyslovených hypotézách.

## **2. TEORETICKÁ ČÁST**

### **2.1 PROSTATA**

#### **2.1.1 Anatomie prostaty**

Prostata (předstojná žláza) je žláza s vnější sekrecí, srdčitého tvaru o rozměrech 3 x 4 x 2 cm. Její hmotnost je cca 20 g. Obkružuje močovou trubici a přiléhá ke stěně konečníku. Je tvořena 30 – 50ti tubuloalveolárními žlázami (které jsou vystlány jednovrstevným cylindrickým epitelem), hladkou svalovinou a vazivovým stromatem. Jednotlivé části jsou členěny na histologické zóny (dle Mc Neala). Podle polohy a podle vývojového původu žláz rozlišujeme periferní, centrální, periuretrální, přechodnou zónu a přední nežláznatou zónu. Nejobjemnější je periferní zóna, která zaujímá zhruba 70 % celkového objemu prostaty a produkuje největší část sekretu. Právě v této oblasti mohou být prokázány maligní buňky, ze kterých vzniká karcinom prostaty. Centrální zóna tvoří zhruba 25 % objemu prostaty. Třetí a nejméně objemnou částí je přechodná (tranzitorní) zóna. V této části dochází nejčastěji ke zvětšení prostaty v důsledku zvýšení počtu jejích buněk a vzniká onemocnění benigní hyperplazie prostaty (8, 23, 38, 10, 37).

#### **2.1.2 Fyziologie prostaty**

Správná funkce prostaty je za fyziologických podmínek silně ovlivněna testosteronem, který udržuje prostatu v aktivitě. Prostatické žlázy produkují čirý, slabě kyselý sekret (pH 6,4), který obsahuje látky nutné k výživě a pohybu spermií. Sekret tvoří 10 - 30 % ejakulátu a obsahuje bílkoviny (fibrinogen a profibrinolysin, imunoglobuliny), kyselou fosfatázu, další proteázy a prostatický specifický antigen (PSA), polyaminy (spermin a spermidin), prostaglandiny, kyselinu citronovou, zinek, fosfátové a vápníkové ionty (38).

Hlavní funkcí PSA je zkapalnění ejakulátu, čímž dochází ke zvýšení pohyblivosti spermií. Ochranu spermií, aby v kyselém vaginálním prostředí nehynuly, zajišťují alkalické látky, které jsou součástí sekretu semenných váčků (18).



### **2.1.3 Onemocnění prostaty**

Nejčastějšími onemocněními prostaty jsou záněty, benigní hyperplazie a nádory.

#### **2.1.3.1 Záněty prostaty (prostatitidy)**

Akutní prostatitida se projevuje bolestí v podbřišku, na hrázi, v konečníku, mikčními obtížemi, febriliemi, a elevací PSA. Návrat hodnot PSA k normálním hodnotám nastává po přeléčení po 6 – 8 týdnech. Nejčastějším původcem akutní prostatitidy je *Escherichia coli*.

Chronická prostatitida má podobné, ale déletrvající klinické příznaky. Přidružují se recidivující infekce močových cest a přítomnost krve ve spermatu. Původcem chronické prostatitidy bývá nejčastěji *Chlamydia trachomatis* a *Ureaplasma urealyticum* (24, 26, 22).

#### **2.1.3.2 Benigní hyperplazie prostaty**

Benigní hyperplazie prostaty (BHP) je onemocnění, při kterém dochází k uzlovitému zbytnění prostatické tkáně. Frekvence výskytu je přímo úměrná vzrůstajícímu věku pacientů. V osmém deceniu postihne zhruba 80 % mužů (24).

##### **2.1.3.2.1 Etiologie benigní hyperplazie prostaty**

Přesný mechanismus vedoucí k rozvoji BHP není znám. Význam se přisuzuje hormonům, především androgenům. Uvažuje se i o vlivu sedavého způsobu života. (24).

##### **2.1.3.2.2 Příznaky onemocnění benigní hyperplazie prostaty**

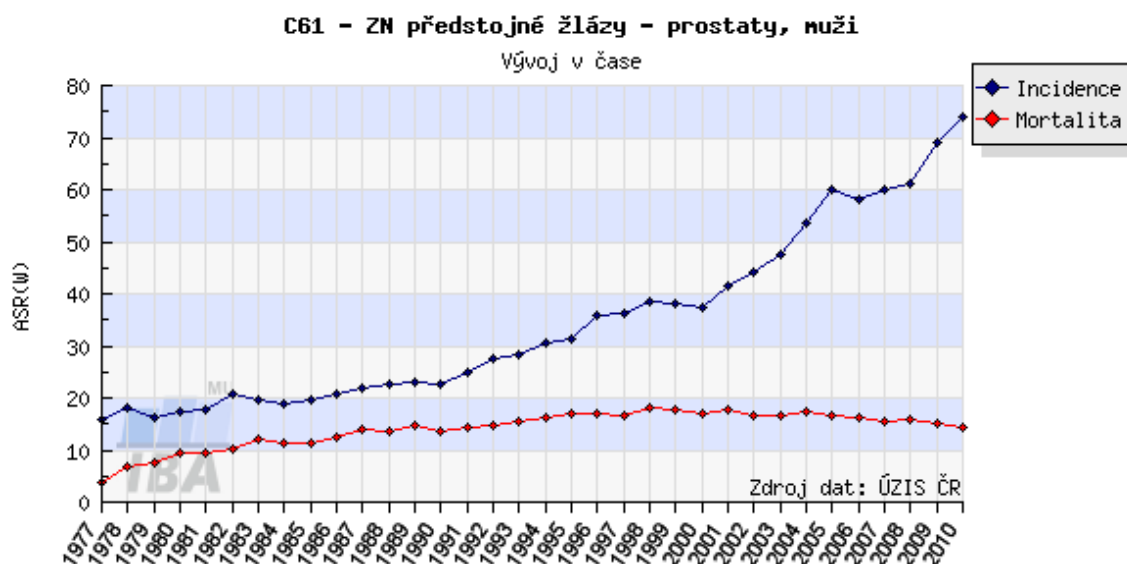
Protože hyperplastická tkáň způsobuje obstrukci (útlak močové trubice), může docházet k městnání moči v močovém měchýři. To může mít za následek vznik zánětů močového měchýře, močových kamenů, reflux moči až hydronefrózu, záněty ledvin. Pacienti nejčastěji přichází s mikčními potížemi jímacími (dříve označované jako iritativní) jako je nykturie a pollakisurie nebo elevakuačními (dříve obstrukčními), kdy pacienti uvádějí pocit neúplného vyprázdnění, přerušovanou mikci, slabý proud moči a nutnost tlačit (14,24).

Pacienti přicházející se souborem mikčních potíží (LUTS), jsou vyšetřeni urologem a to komplexně, protože příznaky LUTS nejsou typické jen pro BHP, ale i pro další

vážná urologická onemocnění (tumor močového měchýře, tumor prostaty, cystolithiázu, neurogení močový měchýř, kontraktura hrdla močového měchýře, striktury uretry, apod.). Pacienti s těmito příznaky jsou vyšetřeni komplexně – anamnéza, fyzikální vyšetření (per rectum), laboratorní vyšetření (moč chemicky a močový sediment, moč kultivačně, u vybraných pacientů PSA). U BHP hladina PSA zpravidla nepřesahuje 4 µg/l. Zobrazovací metody jako USG prostaty, USG postmikčního rezidua, uroflowmetrie doplňují celkový obraz o stavu pacienta (8).

### 2.1.3.3 Karcinom prostaty

Karcinom prostaty (CaP) je typické onemocnění mužů vyššího věku, ale nejsou řídké případy prvního záchytu onemocnění již před 50. rokem života. Nejčastějším histologicky prokázaným typem je adenokarcinom (až v 95 % případů) (2). V době diagnózy CaP jsou téměř dvě třetiny pacientů zcela bez příznaků (3). V České republice je mortalita na CaP dlouhodobě stabilizovaná, bohužel stále je vysoký počet pacientů diagnostikován až v pokročilém stádiu onemocnění. Index mortalita / incidence je pro Českou republiku uváděn 0,46, což znamená ne zcela uspokojivou situaci ve srovnání s vyspělými zeměmi (2).



Analyzovaná data: N (inc) = 92 123; N (mor) = 32 531

Obr. 1: Vývoj mortality a incidence karcinomu v čase. Zdroj: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR.

### **2.1.3.3.1 Etiologie karcinomu prostaty**

Mechanismus vzniku onemocnění není dosud jednoznačně objasněn. S největší pravděpodobností se jedná o multifaktoriální etiologii. Pro vznik a vývoj karcinomu prostaty je nutná přítomnost androgenů (14, 9, 24). Jsou známé některé rizikové faktory, které mohou přispívat ke vzniku onemocnění. Riziko karcinomu prostaty se výrazně zvyšuje s pozitivní rodinnou anamnézou. U mužů mladších 65 let stoupá riziko onemocnění až šestkrát, pokud mají bratra, kterému byl diagnostikován CaP před 65 rokem života (12). Až jedenáctkrát vyšší je riziko, pokud jsou postiženi dva a více příbuzných v první linii (14). Za potencionálně rizikové faktory se považuje kouření a strava bohatá na živočišné tuky.

Frekvence výskytu v různých geografických oblastech se významně liší. Vyšší výskyt je u Afroameričanů nebo ve Skandinávii, naopak Japonsko a některé asijské země vykazují výskyt CaP nízký. Na tomto faktu se podílí nejen etnické a geografické odlišnosti, ale i nepřesnosti statistických údajů a v některých oblastech i nedostupnost nebo nedostatek diagnostických možností.

### **2.1.3.3.2 Příznaky onemocnění karcinomu prostaty**

Vzhledem k excentrické lokalizaci nádorů v periferní zóně prostaty bývají časně fáze onemocnění zpravidla asymptomatické. Při vyšetření per rectum (DRV) bývá hmatná tuhá až tvrdá konzistence prostaty.

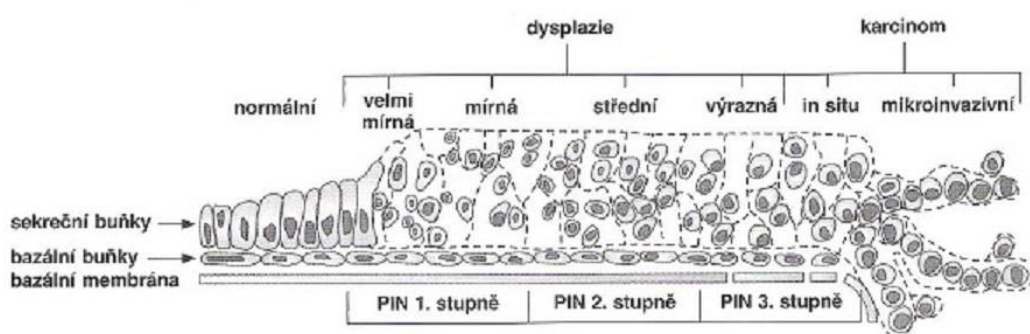
Na rozdíl od benigní hyperplazie prostaty většinou nedochází ke stenóze uretry. Přesto jedním z příznaků může být i hemospermie či hematurie, erektilní dysfunkce nebo priapismus (2, 24, 1).

V některých případech, kdy onemocnění probíhá zcela asymptomaticky, prvním příznakem mohou být kostní bolesti (nejčastěji páteře) nebo patologická zlomenina při metastatickém postižení kostí (1).

U pacientů s počáteční hodnotou PSA nad 20  $\mu\text{g/l}$  je pravděpodobnost, že se vyskytnou kostní metastázy vyšší než 20 % a zvyšuje se s rostoucí hodnotou PSA (20).

### 2.1.3.3 Klinická stádia karcinomu prostaty

Až v 95 % případů je histologicky potvrzen adenokarcinom prostaty. Vzácně se mohou vyskytovat i leiomyosarkom, rhabdomyosarkom, lymfom, sarkomatoidní karcinom, mucinózní karcinom, duktální (endometriální) karcinom nebo malobuněčný karcinom. Malobuněčný karcinom bývá vysoce agresivní a laboratorní hodnoty PSA zpravidla nepřekračují cut-off hodnoty. Za prekursor invazivního CaP je považován karcinom in situ označovaný jako prostatická intraepitelová neoplazie (PIN) (2, 12, 1).



Obr. 2: Model karcinogeneze CaP. Převzato z literatury č. 9.

Prognóza a léčba CaP jsou závislé na histologické diferenciaci (grading) a rozsahu onemocnění (staging). Stejně jako u solidních nádorů jiných orgánů se i pro klasifikaci adenokarcinomu prostaty používá TNM klasifikace. TNM klasifikace se používá od roku 1958, vznikla na základě potřeby rozlišit lokální rozsah nádoru (T), šíření do regionálních lymfatických uzlin (N) a výskyt vzdálených metastáz (M).

|                    |         |         |    |          |
|--------------------|---------|---------|----|----------|
| <b>Stadium I</b>   | T1a     | N0      | M0 | G1       |
| <b>Stadium II</b>  | T1a     | N0      | M0 | G2, G3-4 |
|                    | T1b     | N0      | M0 | každé G  |
|                    | T1c     | N0      | M0 | každé G  |
|                    | T1      | N0      | M0 | každé G  |
|                    | T2      | N0      | M0 | každé G  |
| <b>Stadium III</b> | T3      | N0      | M0 | každé G  |
| <b>Stadium IV</b>  | T4      | N0      | M0 | každé G  |
|                    | každé T | N1      | M0 | každé G  |
|                    | každé T | každé N | M1 | každé G  |

Obr. 3: Klinická stádia u karcinomu prostaty. Převzato z literatury č. 9.

Pro určení stupně histologické diferenciace nádoru se od roku 1980 používá Gleasonovo skóre (GS). Tato metodika určuje architekturu prostatických žlázek, v biopsických vzorcích. Určuje se nejčastější a druhý nejčastější Gleasonův stupeň (1 – 5) a GS je jejich součet. Pokud je k dispozici pouze jeden stupeň histologické diferenciace, jeho číslo se zdvojnásobí. Rozmezí GS skóre je 1 – 10. Teoreticky může být hodnota GS skóre mezi 2 – 10. Prakticky se dnes karcinomy prostaty rozdělují na dobře diferencované – GS6 (nízce rizikové), středně diferencované GS7 (středně rizikové) a špatně diferencované GS8 – GS10 (vysoce rizikové) (14, 9).

#### **2.1.3.3.4 Diagnostický postup**

U pacientů přicházejících s podezřením na karcinom prostaty je potřeba nejprve odebrat osobní a rodinnou anamnézu, dále je provedeno celkové fyzikální vyšetření včetně vyšetření per rektum (DRV). Následuje odběr krve na PSA. Pokud se zjištěné hodnoty nachází v rozmezí od 3,5 – 10 µg/l (na některých pracovištích 3,5 – 20 µg/l) je indikováno doplňující laboratorní vyšetření fPSA a spočítán jejich poměr fPSA/PSA. Další diagnostický postup využívá dostupné zobrazovací techniky např. transabdominální ultrasonografii (USG) a transrektální ultrasonografii (TRUS). Pokud je indikována biopsie prostaty, provádí se pod sonografickou kontrolou. Výsledek biopsie je jediný jednoznačný ukazatel pro přesné určení diagnózy a stanovení postupu léčby. Ke zjištění metastatického postižení pánevních lymfatických uzlin je indikováno doplňující vyšetření počítačovým tomografem (CT) a magnetická rezonance (NMR). V pozdních fázích onemocnění mohou být postiženy prorůstáním nádoru orgány v malé pánvi, např. močový měchýř nebo rektum. K detekci skeletových metastáz se využívá vyšetření scintigrafie skeletu, zejména v případě, že PSA přesáhne hodnotu 20 µg/l (2).

## **2.2 VYŠETŘENÍ PROSTATY**

### **2.2.1 Digitální rektální vyšetření**

K nejstarším a nejdostupnějším screeningovým vyšetřovacím postupům patří digitální rektální vyšetření (DRV). Gerber et al. uvádí velmi nízkou senzitivitu pro

časnou diagnózu, pohybující se v rozmezí od 0,1 – 7,6 %. Rovněž pozitivní prediktivní hodnota má velké rozpětí mezi 6 – 39 % (13).

Pokud bychom srovnávali suspektní nálezy zjištěné pomocí DRV a PSA, lze prokázat, že posléze histologicky potvrzené tumory detekované pomocí DRV jsou daleko pokročilejší než tumory odhalené pomocí PSA (13, 16).

Pomocí DRV není možné odhalit malé nádory do velikosti cca 0,2 ml. Pokud je palpačně nalezen nádor o větší velikosti, hodnotí se změny konzistence (prostata může být tuhá až tvrdá), hladkost povrchu (zpravidla bývá nerovný až hrbolatý) a pohyblivost nádoru vůči okolí. Dvě vyšetření, která vedou k úspěšné detekci karcinomu prostaty, jsou DRV a PSA (2).

## **2.2.2 Laboratorní vyšetření**

### **2.2.2.1 Prostatický specifický antigen**

Prostatický specifický antigen (PSA) je lidský kalikrein, glykoprotein o molekulové hmotnosti 33 kD s aktivitou neutrální serinové proteázy. Jeho molekula je tvořena jedním uhlovodíkovým řetězcem, který je navázaný na aminoskupinu kyseliny asparagové, a 237 aminokyselinami. Využitím PSA jako nádorového markeru se podařilo dosáhnout detekce časnějších stadií CaP, zvýšit záchyt onemocnění a tím zlepšit prognózu nemocných. PSA není tumor specifický, ale orgánově specifický marker. (8, 22).

Nádorovým markerem můžeme nazvat látku produkovanou nádorem nebo substancí přítomnou v nádoru. Doporučeným materiálem pro analýzu nádorových markerů je sérum. Obecně platí, že vyšetření všech nádorových markerů by se mělo provádět u konkrétního pacienta vždy stejnou metodikou, diagnostickou soupravou od stejného výrobce a pokud možno vždy ve stejné laboratoři (22).

Diagnostická specifita celkového PSA v séru v koncentraci 2,5 až 10 µg/l je pro detekci karcinomu prostaty nízká.

Zvýšenou hladinu PSA nalézáme i u pacientů s benigní hyperplazií prostaty, při bakteriálních prostatitidách, po traumatech prostaty, po DRV. Krev na stanovení hladiny PSA se odebírá nejdříve 48 hodin po vyšetření DRV. Zvýšenou hladinu však

může způsobit i jakákoliv manipulace s prostatou včetně sexuální aktivity nebo jízdy na kole

PSA existuje v séru ve dvou molekulárních formách, jako volný a vázaný. Váže se převážně na  $\alpha$ 1-antichymotrypsin (ACT), zanedbatelný podíl vázaný na  $\alpha$ 2-makroglobulin je prakticky nedetekovatelný. Laboratorní stanovení jednotlivých molekulárních forem a jejich porovnání přispívá k diferenciaci mezi benigní hyperplazií prostaty a karcinomu prostaty (3, 22).

Hladinu PSA hodnotíme vzhledem k věku pacienta. Věkově specifické referenční rozmezí pro sérové hladiny PSA bylo vytvořeno s cílem zlepšení citlivosti u mladších mužů a zvýšení specifčnosti ve vyšších věkových kategoriích. Je vhodné mít věkově specifické referenční rozmezí pro věkovou proměnnou v různých zemích, což zvýší pozitivní prediktivní hodnotu PSA v diagnostice karcinomu prostaty v každé etnické společnosti. Byly stanoveny věkově specifické cut-off hodnoty viz tabulka I (25, 28).

*Tabulka I: Cut-off hodnoty PSA*

| věk           | hodnota PSA   |
|---------------|---------------|
| do 50- ti let | 2,5 $\mu$ g/l |
| do 60- ti let | 3,5 $\mu$ g/l |
| do 70- ti let | 4,5 $\mu$ g/l |
| nad 70 let    | 6,5 $\mu$ g/l |

#### **2.2.2.1.1 Preanalytická fáze**

Pro správné laboratorní stanovení PSA je nezbytně nutné dodržovat preanalytickou fázi vyšetření. Byla publikována studie stability PSA v séru v závislosti na teplotě. Studie byla rozlišena do tří základních skupin. První sledovala stabilitu při pokojové teplotě, druhá při  $-20^{\circ}\text{C}$  a třetí analyzovala stabilitu PSA v situaci, kdy při  $-20^{\circ}\text{C}$  bylo střídavě přerušováno napětí každých 6 hodin. Celkový prostatický antigen se ukázal být poměrně stabilním analytem (11).

Důležitou roli pro laboratorní stanovení má nejen stabilita séra při různých teplotách, ale i fakt, zda je PSA analyzován ze séra nebo z plazmy. Chemiluminiscenční metoda umožňuje stanovení v obou materiálech. Vědci provedli imunofluorimetrická

vyšetření PSA ze séra i plazmy za použití stejné metodiky, stejnou šarží činidel a vnitřní kontrolou kvality u každého testu. Studie neprokázala rozdíly mezi reprodukovatelností a variabilitou v séru a plazmě. Plazma byla doporučena pro další výhledové studie (36).

#### **2.2.2.1.2 Odběr a skladování vzorku**

Postup odběrů a skladování vzorků je popsán v kapitole 3.1.3.

#### **2.2.2.2 Volný prostatický specifický antigen**

U zdravého jedince představuje volná frakce PSA (fPSA) zhruba 15 – 25 % celkového detekovatelného PSA. Stanovení fPSA probíhá imunochemicky, pomocí protilátky, která reaguje s tou oblastí molekuly, která je navázána na ACT (40).

##### **2.2.2.2.1 Preanalytická fáze**

El Ezzi provedl studii, ve které se zaměřil na stabilitu fPSA v séru při pokojové teplotě, při 4°C, při – 20°C, ale i teplotních výkyvech. Volná frakce PSA vykazuje daleko menší stabilitu než PSA. Při teplotě 4°C je stabilní pouze 24 hodin (11).

##### **2.2.2.2.3 Poměr fPSA/PSA**

V klinické praxi je tento poměr používán jako jedno z kritérií pro rozlišení BHP a CaP u mužů, kterým byla zjištěna hladina PSA v rozmezí od 4 do 10 µg/l s negativním DRV.

PSA v referenčních mezích nevylučuje karcinom prostaty. Až 20 % mužů s diagnostikovaným karcinomem má laboratorní hodnotu PSA nižší než 4 µg/l. Poměr volného k vázanému (fPSA/PSA) by měl být v případě nezhoubných onemocnění nad 20 %, protože hladina volného PSA je úměrná velikosti prostaty a úzce souvisí s růstem benigní hyperplazie prostaty – objemem prostaty. Při velkém objemu prostatické tkáně postižené BHP a nedodržení preanalytické fáze fPSA (nestabilita při pokojové teplotě 4°C) může dojít k tzv. efektu zředění (falešná negativita).

Jako cut-off hodnoty poměru fPSA/PSA jsou považovány pro maligní onemocnění 0 – 15 %, za hraniční hodnoty jsou považovány 15 – 20 %, a pro benigní onemocnění nad 20 % (28).



#### **2.2.2.4 Kyselá fosfatáza**

Při podezření na generalizaci tumoru prostaty stanovujeme laboratorním imunochemickým vyšetřením hladiny prostatické kyselé fosfatázy (PACP). Zvýšené hodnoty nalézáme pouze u generalizovaného onemocnění. Nevykazuje dostatečnou specificitu, její sérová hladina kolísá v závislosti na diálním rytmu a její celková prediktivní hodnota je nižší než 25 %. S přihlédnutím k těmto omezením nelze tento marker použít pro cílenou detekci velmi časných stadií onemocnění (9, 29). V současné době je tento parametr považován za zastaralý.

#### **2.2.2.5 PSA denzita a PSA denzita tranzitorní zóny**

PSA denzita (PSAD) a PSA denzita tranzitorní zóny (PSAD-TZ) je podíl celkové hodnoty PSA ( $\mu\text{g/l}$ ) a objemu prostaty ( $\text{cm}^3$ ) pro PSAD, pro PSAD-TZ objemu tranzitorní zóny stanovených pomocí transrektální ultrasonografie (TRUS). Tento podíl je vyšší u pacientů s karcinomem prostaty oproti nemocným bez nálezu CaP. Doporučená hraniční hodnota pro PSAD je 0,15 a pro PSAD-TZ 0,35. Výsledek vyšetření závisí na zkušenostech lékaře, který provádí TRUS (9, 15).

#### **2.2.2.6 Nové metody**

Vzhledem k nízké specificitě a nízké pozitivní prediktivní hodnotě není prostatický specifický antigen dokonalým markerem. Nedostatek specifčnosti je částečně způsoben skutečností, že zničení bazální membrány epiteliálních buněk prostaty může mít za následek nadměrný únik PSA do krevního oběhu. Benigní onemocnění prostaty, i fyzické trauma prostaty může mít za následek významné zvýšení hladiny PSA v séru. Objev dalších molekulárních forem PSA v séru na počátku 90. let minulého století přinesl nutnost hledání specifitějších markerů. Bylo objeveno, že volný PSA může existovat ve třech molekulárních formách: proPSA, "benigní" PSA (BPSA) a neaktivní "neporušený" PSA (IPSA). Odhaduje se, že tři izoformy (proPSA, BPSA, a IPSA) zahrnují přibližně 33 %, 28 %, a 39 % volného PSA. Tento výzkum poskytuje vysvětlení pro původ proPSA v séru (27). Z výsledků studie vyplývá, že tkáň přechodové zóny obsahují malé nebo žádné množství proPSA a je pravděpodobné, že

každý laboratorně zachycený [-2] proPSA v séru je odvozen z tkáně nádorově postižené prostaty (39).

#### **2.2.2.6.1 [-2] proPSA**

Sokoll et al. v roce 2003 prokázal, že [-2] proPSA by mohl snížit počet zbytečně provedených biopsií u mužů s celkovým PSA mezi 2,5 - 4,0 µg/l. Ve srovnávací studii byly výsledky PSA 4 - 10 µg/l a 2 - 10 µg/l podobné, a proto jsou uvedeny pouze výsledky PSA 2 - 10 µg/l. V tomto rozsahu bylo [-2] proPSA signifikantně vyšší u mužů s karcinomem prostaty, jako tomu bylo ve studii z roku 2003. Výsledky z této laboratorní studie poskytují důvod pro širší validační studie k určení, zda [-2] proPSA může nahradit jiné markery CaP a zpřesnit diagnostiku onemocnění (34).

#### **2.2.2.6.2 Index zdravé prostaty**

Nedostatečná specifita PSA vede k vysokému počtu falešně pozitivních výsledků. Částečného zpřesnění bylo dosaženo zavedením vyšetření fPSA a jejich poměru (fPSA/PSA). Hladiny PSA a fPSA navíc nedostatečně korelují s agresivitou nádoru. Stále hledáme ideální marker, který by jednoznačně odlišil BHP a CaP. Index zdravé prostaty napomáhá stanovit hranici, kdy provést biopsii. V České republice byla pilotní studie provedena ve FN Plzeň (fakultní nemocnice). U všech pacientů bylo stanoveno PSA, pokud byla hodnota v rozmezí 0 - 20 µg/l, bylo dovyšetřeno fPSA a [-2] proPSA a vypočítán poměr fPSA/PSA a PHI.

PHI byl doložitelný podle vzorce  $([-2] \text{ proPSA}/\text{fPSA})^* \sqrt{t\text{PSA}}$ .

Výsledkem bylo zjištění signifikantně zvýšené hladiny PHI u nemocných s histologicky prokázaným CaP. Navíc byla zjištěna pozitivní korelace s Gleason score. PHI není závislý na věku (30).

#### **2.2.2.7 Typy metod stanovení**

Pro stanovení hormonů, léčiv a látek, které se v biologickém materiálu vyskytují ve stopovém množství, tj. v koncentraci pod 10 mg/l, jsou doporučovány imunochemické metody. Základem těchto reakcí je vytvoření imunokomplexu, který vznikne spojením dvou reaktantů – antigenu (Ag) a specifické protilátky. Je-li koncentrace Ag pod

10 mg/ l, přidává se do reakce třetí reaktant - antigen značený indikátorem. Tím mohou být např. fluoreskující látky, enzymy nebo substráty (7)

Většina dostupných metod je obtížně navzájem porovnatelná, protože jejich výsledky závisí na použitých standardech, specificitě protilátek a čistotě antigenů, použitých pro výrobu protilátek. Pro výrobu monoklonální protilátkou definovaného vnitřního standardu PSA byla doporučena vysoce účinná imunoafinitní chromatografie.

Pro stanovení PSA se využívají nejčastěji neizotopové imunoanalýzy na principu EIA, FIA a LIA.

Enzymoimunoanalýza (EIA) je metoda používaná ke stanovení antigenů, protilátek a haptenu. Ke značení se používají enzymy na polystyrenových kuličkách. Nejčastějšími používanými enzymy jsou křenová peroxidáza, alkalická fosfatáza (ALP) a glukosaoxidáza. PSA lze stanovit metodou ELISA a to nejčastěji tzv. sendvičovou metodou. ELISA používá mikrotitrační jamky potažené monoklonální protilátkou proti PSA. Po přidání vzorku se pipetuje druhá monoklonální protilátka proti PSA, značená křenovou peroxidázou a tetrametylbenzidin jako substrát. Reakce probíhá v kyselém prostředí a měří se absorbance při 450 nm. Jako marker lze použít také alkalickou fosfatázu, substrátem je pak 4-nitrofenylfosfát a detekci lze provádět při 405 – 450 nm. (17, 7).

Imunometrická analýza (IRMA) používá dvě myší monoklonální protilátky proti odlišným epitopům molekuly PSA. Je značena radioaktivním jódem <sup>125</sup>I.

Fluoroimunoanalýza (FIA) pracuje opět se třemi reaktanty. Princip metody je měření fluorescence značovaného imunokomplexu po odstranění volného značeného antigenu, na který se již protilátka nenašla. Používá magnetické nebo latexové mikrokuličky potažené monoklonální protilátkou proti PSA, značkou je ALP a substrátem 4-metylnitrofenylfosfát. Fluorescence se měří při 448 nm (excitace při 365 nm) (7).

Luminiscenční analýza (LIA) je vysoce citlivá metoda a využívá se jako náhrada radioaktivní imunoanalýzy. LIA stanovení s využitím volného substrátu je založeno na sendvičové imunochemické reakci. Používají se polyklonální kozí protilátky a monoklonální myší protilátky. Jako substrát se používá adamantyldioxetanfenylfosfát,

který hydrolyzuje kontaktem s alkalickou fosfatázou za vzniku nestabilního meziproduktu. Ten se ihned rozpadá za vzniku záření, které se detekuje luminometrem. Intenzita záření je přímo úměrná koncentraci PSA ve vyšetřovaném vzorku (35, 7).

### **2.2.3 Transrektální ultrasonografie**

Transrektální ultrasonografie (TRUS) umožní sonograficky zhodnotit strukturu prostaty, její velikost a napomáhá odlišení maligní a benigní tkáně. Vyšetření vyžaduje speciální vybavení a prostory. Výsledek vyšetření závisí na zkušenostech provádějícího lékaře. Metoda je nenahraditelná při bioptickém odběru prostatické tkáně.

Senzitivita TRUS se při použití v rámci cílené detekce pohybuje kolem 2,6 % podobně jako DRV (21).

### **2.2.4 Biopsie**

Jedinou možnou metodou, která spolehlivě potvrdí či vyvrátí diagnózu CaP je biopsie s následným histologickým vyšetřením. Sensitivita biopsie je závislá na zkušenostech provádějícího lékaře a na tom, zda se podaří odebrat vzorek tkáně z ložiska karcinomu. Měla by být indikována na základě elevace hladin PSA nebo podezřelého nálezu DRV s přihlédnutím k polymorbiditě jedince a celkovému biologickému věku. Provádí se transrektálně pod kontrolou ultrazvukem, aby bylo možno cíleně kontrolovat místo odběru vzorku. Pro snížení bolestivého vjemu pacienta je vhodné odběr provádět v lokální infiltrační anestezii (2).

Minimální počet odebraných vzorků při první biopsii je 10, při opakovaně biopsii je odebráno minimálně 12 vzorků.

Ze všech odebraných vzorků se připraví histologické preparáty, které se standardně barví Hematoxylinem a Eozinem (37).

## **2.3 MONITOROVÁNÍ PRŮBĚHU ONEMOCNĚNÍ**

K laboratornímu monitorování průběhu již prokázaných a léčených CaP se využívají metody měření PSA v čase. Sleduje se PSA velocita (PSAV) a PSA doubling time (PSADT). Obě metody mají monitorovací význam a nejsou určeny k diagnostice

časných stadií CaP. Rozhodují o další strategii léčby u dispenzarizovaných pacientů (salvage aktinoterapie, adjuvantní aktinoterapie, hormonální terapie).

### **2.3.1 PSA velocita**

K monitorování průběhu již diagnostikovaného onemocnění se využívá PSA velocita (PSAV), která kalkuluje se změnou celkového PSA v časovém horizontu  $\mu\text{g/l/rok}$  a je přímo závislá na objemu prostaty nebo nádoru. Pacient, který má PSA nižší než  $4 \mu\text{g/l}$ , ale jeho PSA stoupá více než  $0,75 \mu\text{g/l}$  za rok by měl podstoupit biopsii i bez dalších indikací. Ve studii vědci ukázali, že jedinci s rychlostí nárůstu PSA vyšší než  $0,75 \mu\text{g/l}$  za rok, měřeno 10 - 15 let před diagnózou rakoviny prostaty, měli 4,7x zvýšené relativní riziko úmrtí ve srovnání s muži, jejichž rychlost nárůstu byla  $0,75 \mu\text{g/l}$  za rok nebo nižší (5, 4).

PSAV získala uznání jako prognostická veličina v roce 2004. D'Amico et al. prokázali horší patologické rysy a zvýšení úmrtnosti u mužů podstupujících radikální prostatektomii s PSAV  $2,0 \mu\text{g/l/rok}$  v roce před operací (6). Nižší prahová hodnota pro PSAV byla později doporučena po roce 2006, kdy byla laboratorní studií prokázána vyšší úmrtnost u mužů s PSAV větší než  $0,75 \mu\text{g/l/rok}$  10-15 let před diagnózou CaP (5).

### **2.3.2 Doubling time**

Čas zdvojení PSA – doubling time je čas potřebný ke zdvojnásobení sérové hladiny PSA a uvádí se v časových jednotkách (dny, týdny, měsíce a roky). Jeho hodnocení je závislé na exponenciálním růstu nádoru a jeho nárůst koreluje s chováním nádoru.

Výpočet se provádí podle vzorce:  $\text{PSADT} = (\text{PSA}_1 \times \text{časový interval}) / (\text{PSA}_2 - \text{PSA}_1)$  (4). Kde PSADT je doubling time,  $\text{PSA}_1$  je první naměřená hodnota a  $\text{PSA}_2$  je druhá naměřená hodnota prostatického specifického antigenu v čase.

## **3. PRAKTICKÁ ČÁST**

### **3.1 METODIKA PRÁCE**

#### **3.1.1 Charakteristika souboru dat**

Všechny vzorky byly zpracovány v Klinických laboratořích Tábor a.s. Vzorky byly odebrány v odběrové místnosti laboratoře, v urologické ambulanci nebo v ordinacích praktických lékařů.

Soubor dat tvoří 11 357 vyšetření PSA a 2 074 fPSA měřených od ledna roku 2011 do konce roku 2013. Data jsem rozdělila do šesti věkových skupin podle věkově specifického PSA. Vyšetřovaní pacienti byli ve věku 19 až 94 let.

#### **3.1.2 Preanalytická fáze**

Preanalytická fáze má velký vliv na konečný výsledek vyšetření a tím je i velice zranitelná. Chyba v preanalytické fázi může vzniknout chybným odběrem biologického materiálu, nešetrným zacházením se vzorkem a špatným skladováním vzorku. Ale i ze strany pacienta může dojít k pochybení. Pacient by měl být vždy poučen od svého lékaře o okolnostech, které mohou ovlivnit výsledek vyšetření. Naměřenou hodnotu PSA ovlivňuje jakákoliv manipulace s prostatou, DRV vyšetření, vyšetření TRUS, ale i jízda na kole nebo užívání některých léků (inhibitory 5 $\alpha$  reduktázy – enzym, který transformuje testosteron na účinný dihydrotestosteron).

Postup při odběru krve je popsán ve Směrnici pro odběr biologického materiálu (interní dokumentace laboratoře). Bylo odebráno 5 ml venózní krve do zkumavek Vacutest s červenou zátkou. Zvláštní důraz byl kladen na dezinfekci místa vpichu před venepunkcí. Kůže se musí nechat dostatečně oschnout, aby zbytky dezinfekčního prostředku nezpůsobily hemolýzu vzorku. Hemolýzu může způsobit i dlouhodobé zaškrcení paže turniketem, proto byl turniket použit pouze v případě obtížného odběru.

Zkumavky Vacutest s červenou zátkou jsou určeny pro rutinní biochemická vyšetření ze séra a stanovení hormonů. Na dně zkumavek je separační gel, který v průběhu centrifugace mění hustotu a tím se posouvá mezi povrch krevní sraženiny

a sérum. Vytvoří tak bariéru, která odděluje sérum od krevních buněk a vysráženého fibrinu. Na vnitřních stěnách zkumavek jsou umístěny mikronizované silikátové částice, které mají za úkol aktivovat hemokoagulační proces. Aby byl tento proces odstartován, musí se odebraná krev ve zkumavce promíchat. Promíchání musí být natolik šetrné, aby nedošlo k mechanické hemolýze.

Vzorky odebrané v odběrové místnosti a v urologické ambulanci byly před analýzou uchovány při pokojové teplotě. Vzorky od praktických lékařů byly přepraveny do laboratoře v transportních boxech. Transport je řízen tak, aby vzorky byly do laboratoře doručeny do dvou hodin od převzetí transportní službou.

U všech vzorků byla provedena kontrola identifikace pacienta a žádanky. Správně vyplněná žádanka musí obsahovat jméno, příjmení, rodné číslo, zdravotní pojišťovnu, diagnózu, razítko ordinujícího lékaře, požadované vyšetření, datum, čas provedení odběru a jméno pracovníka, který odběr provedl. Zkumavka musí být označena jménem, příjmením a rodným číslem pacienta. Po provedení kontroly správné identifikace byl vzorek přijat ke zpracování. Na zkumavku a žádanku byl nalepen shodný identifikační čárový kód. Poté byl vzorek centrifugován.

Centrifugace vzorků probíhala v centrifuze Heraeu megafuge 16 při 3500 otáčkách po dobu 15 minut. Při centrifugaci dochází k oddělení krevního koláče od séra separačním gelem. Proto je možné použít primární zkumavku k analýze bez nutnosti alikvotace vzorku. Po centrifugaci byly vzorky umístěny do robotického ramene Sample Management System (SMS), který automaticky předá zkumavku do analyzátoru, ve kterém je požadovaná analýza prováděna. Informaci o požadavku na analýzu si SMS automaticky stáhne z laboratorního informačního systému (LIS).

### **3.1.3 Analytická fáze**

Vyšetření PSA a fPSA byla prováděna na analyzátoru Immulite 2000. Vzorky, které prokazatelně nesplňovaly dodržení preanalytické fáze, byly odmítnuty. K analýze byly použity reagentie firmy Siemens. Před použitím reagenčního kitu byla provedena adjustace (kalibrace) metody, každá další adjustace byla provedena v intervalu 4 respektive 2 týdnů. Před každou sérií měření byla provedena analýza kontrolního

materiálu Lyphochek Immunoassay plus control na hladinách 1, 2 a 3 (Bio – Rad) a vyhodnocena shoda s deklarovanou hodnotou.

Analýza PSA začíná tím, že analyzátor nadávkuje do reakční tuby jednu kuličku potaženou polyklonální kozí protilátkou protiPSA. Následně přidá reagenii obsahující alkalickou fosfatázu (ALP) konjugovanou monoklonální myší protilátkou protiPSA a nakonec přidá 10 µl séra. Následuje 30ti minutová inkubace. Během této inkubace tvoří PSA ze vzorku sendvičový komplex s polyklonálními kozími protilátkami protiPSA na kuličce a enzymaticky konjugovanými myšími monoklonálními protilátkami proti PSA v reagenii. Po inkubaci se reagenční zkumavka promyje (nenavázané sérum a nenavázaná protilátka je odstraněna centrifugačním mytím) a přidá se substrát, v tomto případě adamantyldioxetanfosfát. Proběhne krátká 5ti minutová inkubace. Zkumavka putuje před trubici fotonásobiče, ve kterém se měří světlo vytvořené luminogenní reakcí. Působením ALP navázané na sendvičovém komplexu je substrát defosforylovaný na nestabilní produkt, který se rychle rozpadá a vyzařuje světlo. V trubici fotonásobiče probíhá měření, signál je generován úměrně navázané značené protilátce. Měřicí rozsah metody je 0,04 – 150 µg/l. Analýzu ovlivňuje hladina bilirubinu nad 684 µmol/l, koncentrace hemoglobinu nad 2 g/l a triacylglyceroly (TAG) s koncentrací nad 22 mmol/l (32).

Při analýze fPSA se měří množství volného nekomplexovaného PSA tj. nenavázaného na  $\alpha$ 1-antichymotrypsin ani na jiný protein v séru. Reakce probíhá ve dvou krocích. V prvním cyklu je do reagenční zkumavky vložena kulička a 25 µl séra. fPSA ze vzorku se naváže na specifickou monoklonální protilátku protiPSA na kuličce. Následuje 30ti minutová inkubace. Po inkubaci je přebytek séra, který se nenavázal odstraněn centrifugací a promytím. Ve druhém cyklu je přidána ALP konjugovaná s kozí polyklonální protilátkou protiPSA, která se naváže se na fPSA na kuličce. Proběhne druhá 30ti minutová inkubace. Po inkubaci je nenavázaný konjugát opět odstraněn centrifugačním mytím. Následně je přidán substrát a proběhne krátká 5ti minutová inkubace. Poté nastává vlastní měření, kdy je signál generován úměrně navázané značené protilátce. Měřicí rozsah je 0,07 – 25 µg/l. Podmínky pro ovlivnění



analýzy ikteritou a hemolýzou jsou stejné jako při analýze celkového PSA. Chylozita séra ovlivňuje stanovení fPSA od koncentrace TAG nad 13 mmol/l (31).

### 3.1.4 Immulite 2000

Automatický analyzátor Immulite 2000 (obr. 4) pracuje na principu chemiluminiscenční imunologické analýzy. Analyzátor může pipetovat sérum z primárních i sekundárních zkumavek, v případě malého množství materiálu je možné použít i mikrozkušavky. Lze jej propojit na LIS, tím zajistit přímý přenos výsledků, kapacita zpracování je až 200 výsledků za hodinu. Doba analýzy (35 nebo 65 minut) se odvíjí od způsobu uspořádání metody – určujícím faktorem je počet inkubací.



Obr. 4: Immulite 2000. Zdroj: vlastní foto.

Hlavní části analyzátoru jsou: vzorkový, kuličkový a reagenční karusel, vzorková a reagenční jehla, dopravník reakčních tub, inkubátor, promývací stanice, zásobník substrátu, luminometr, fotometr s fotonásobičem, odpadní zásobník, řídicí stanice s počítačem. Reagenční karusel je chlazen na teplotu 2 – 8°C. Kuličkový karusel je odvlhčený, aby polystyrenové kuličky nezvlhly. Do otáčivého vzorkového karuselu se

vejde šest stojánků, do každého stojánku 15 zkumavek, najednou lze vložit do analyzátoru 90 vzorků. Čárové kódy na zkumavkách se načítají při otáčení karuselu. Je v nich zakódována identifikace pacienta a informace o požadovaných vyšetřeních. Při inkubaci jsou reakční tuby nepřetržitě protřepávány při teplotě 37°C. Substrát se přidává v promývací stanici po promytí a odstranění veškeré zbytkové nenavázané reagentie a vzorku.



Obr. 6: Reakční tuba s polystyrenovou kuličkou. Zdroj: vlastní foto.

### **3.1.5 Pracovní hypotézy**

#### *Hypotéza č. 1*

Pacienti se zvýšeným věkově specifickým PSA jsou odesíláni ke kontrolním opakovaným laboratorním vyšetřením.

#### *Hypotéza č. 2*

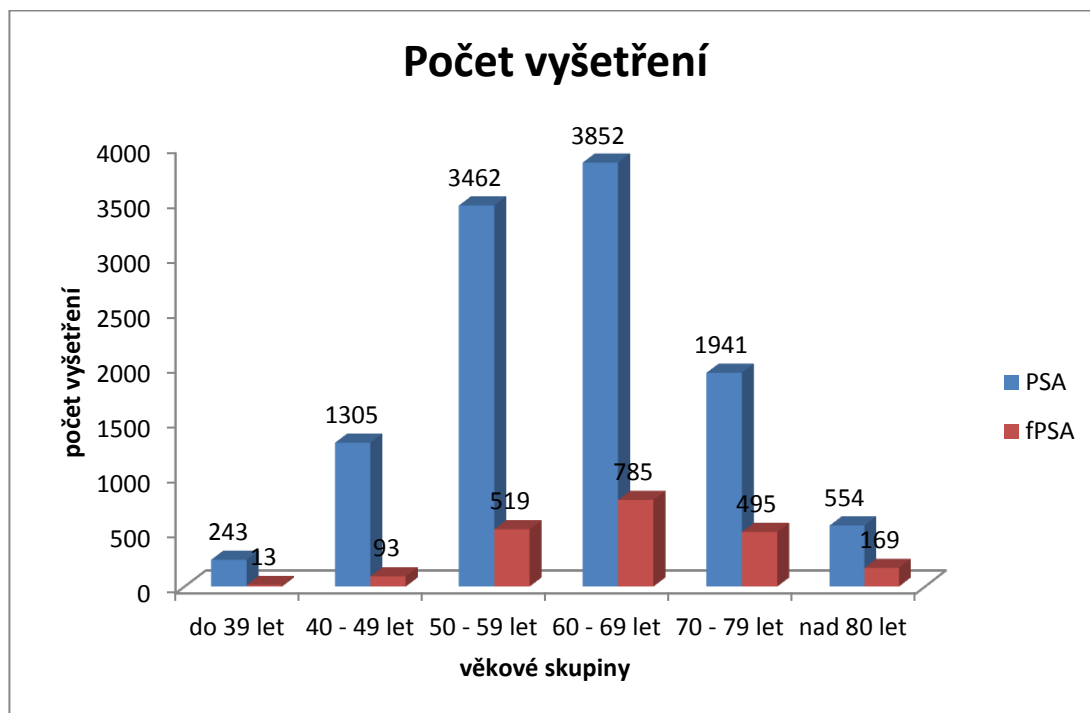
Pacienti s nezvýšeným věkově specifickým PSA mají poměr fPSA/PSA vyšší než 0,20.

#### *Hypotéza č. 3*

U pacientů s patologickým věkově specifickým PSA bude požadováno doplnění vyšetření fPSA.

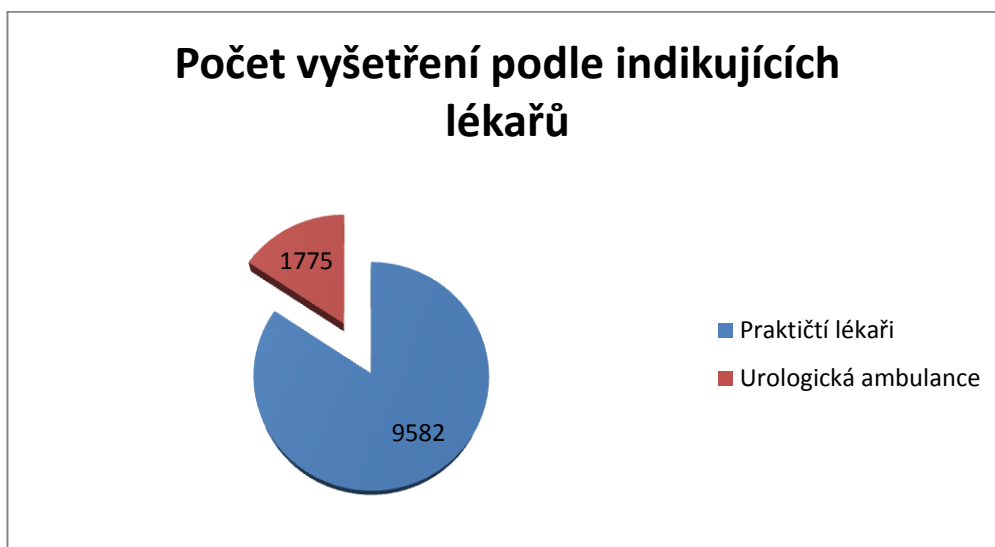
## 4. VÝSLEDKY

Soubor dat tvoří 11 357 vyšetření PSA a 2 074 fPSA měřených od ledna roku 2011 do prosince roku 2013. Data jsem rozdělila do šesti věkových skupin podle věkové specifického PSA. Data z jednotlivých věkových skupin jsem dále hodnotila.



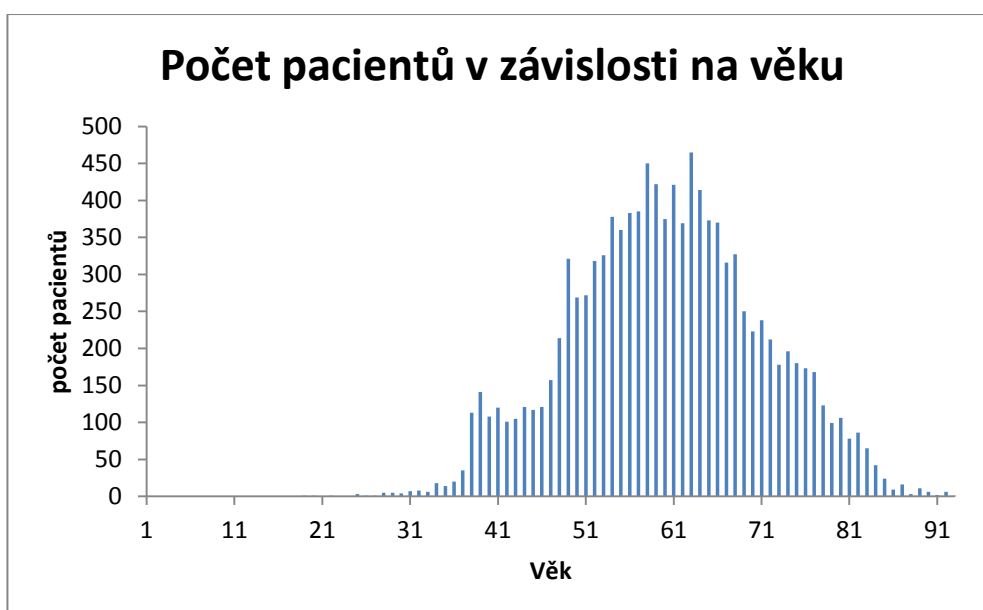
Graf č. 1: Počet vyšetření PSA a fPSA podle věkových skupin pacientů uskutečněný v průběhu tří let (leden 2011 – prosinec 2013)

Graf č. 1 ukazuje celkový počet všech vyšetřených PSA a fPSA rozdělených do šesti věkových kategorií. Nejvíce zastoupené věkové skupiny byly 50 – 59 let a 60 – 69 let. Ve věkové skupině pacientů do 39 let bylo vyšetřeno 243 PSA a 13 fPSA, ve skupině 40 – 49 let 1 305 PSA a 93 fPSA. Věková skupina 50 – 59 let zahrnovala 3 462 PSA a 519 fPSA vyšetření a věková skupina od 60 do 69 let 3 852 PSA a 785 fPSA. Poslední dvě věkové skupiny byly od 70 do 79 let a nad 80 let. Zde bylo vyšetřeno 1 941 PSA a 495 fPSA respektive 554 PSA a 169 fPSA.



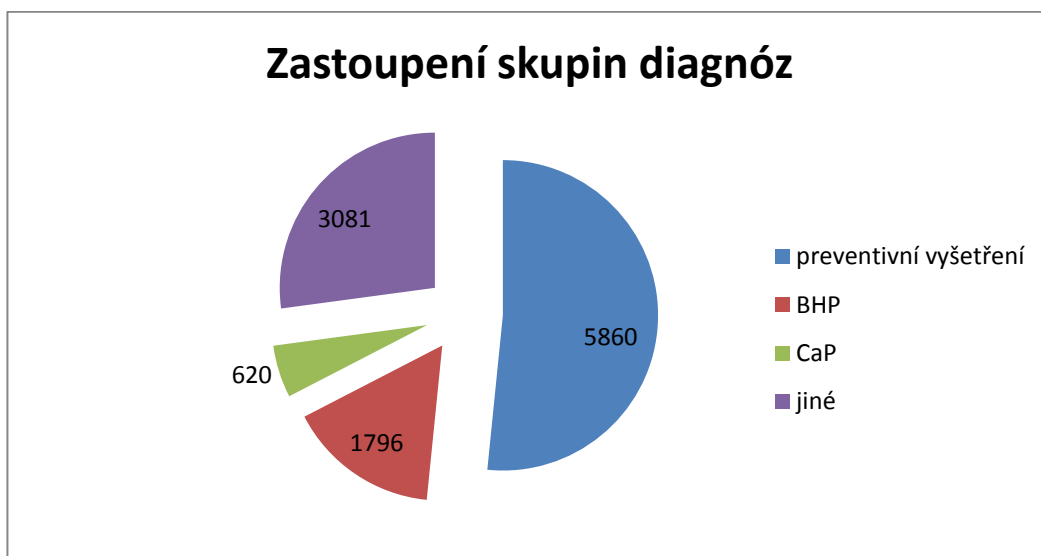
Graf č. 2: Počet vyšetření podle indikujících lékařů

V grafu č. 2 je znázorněn počet požadovaných PSA vyšetření z urologické ambulance a od praktických lékařů.



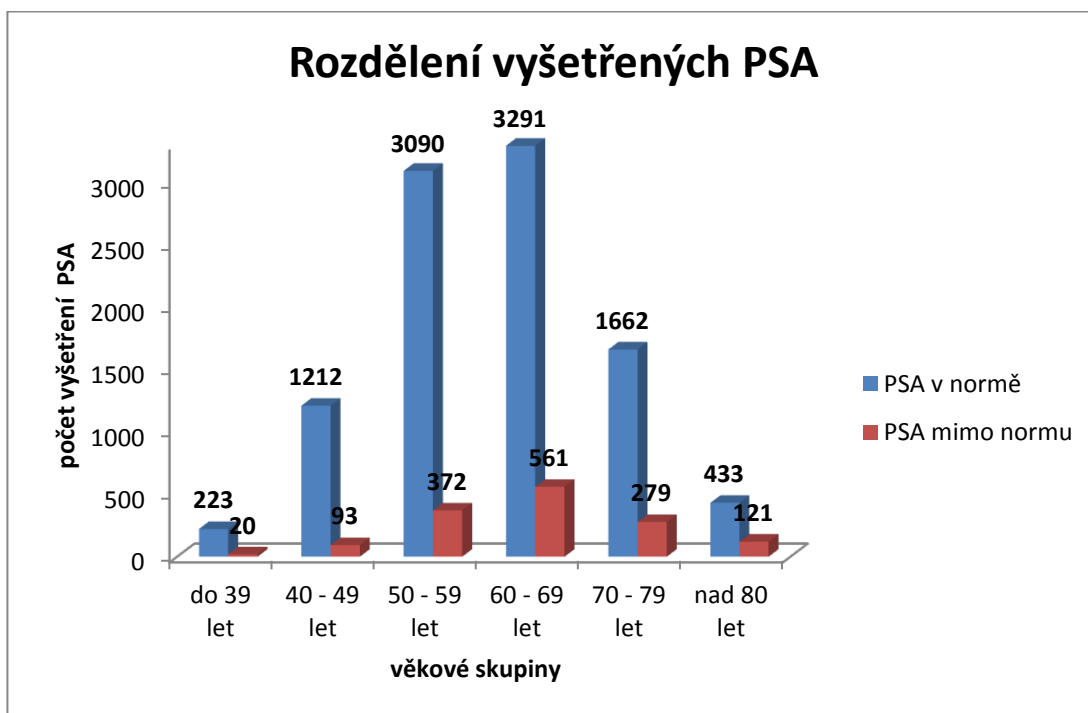
Graf č. 3: Celkový počet pacientů rozdělený podle jejich věku

Rozdělení počtu pacientů v závislosti na věku prezentuje graf č. 3. Nejmladšímu pacientovi je 19 let a nejstaršímu 94 let.



Graf č. 4: Zastoupení skupin diagnóz

Zastoupení diagnóz sledovaného souboru vypadalo následovně: 5 860 (51,6 %) pacientů bylo vyšetřeno v rámci cílené detekce karcinomu prostaty, 1 796 pacientů s diagnózou benigní hyperplazie prostaty (15,8 %), 620 pacientů s diagnózou karcinomu prostaty (5,5 %) a 3 081 pacientů s diagnózou jiného onemocnění. (27,1 %).



Graf č. 5: Rozdělení vyšetřených PSA, které se nacházeli v normě a které byli v nadlimitních hodnotách.

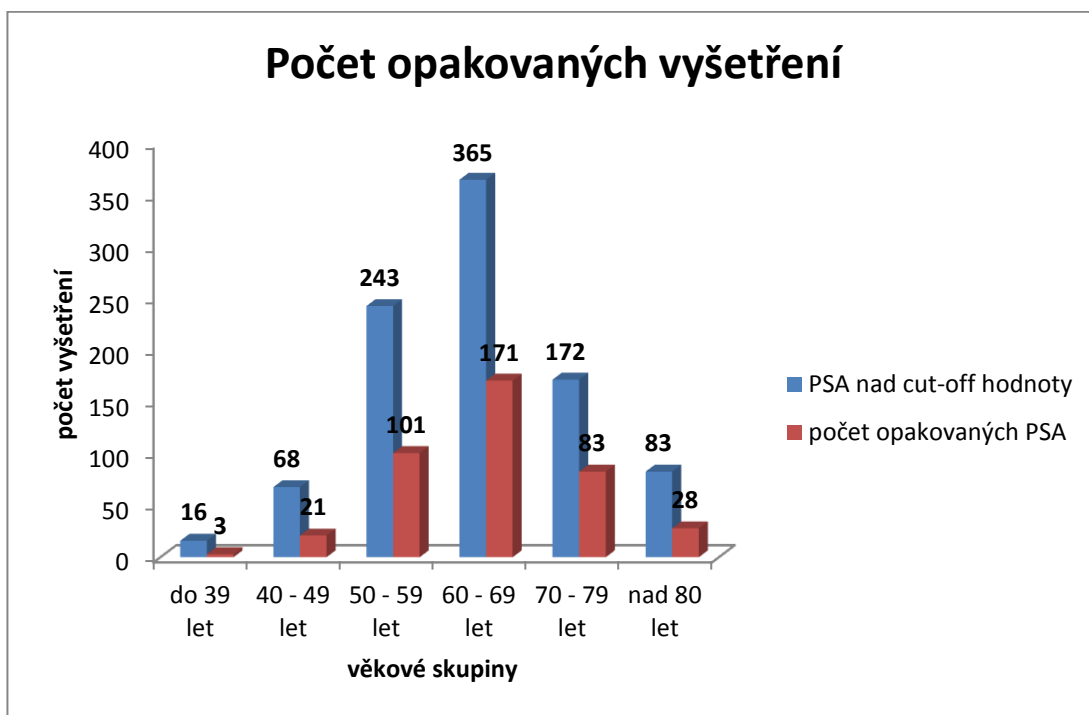
Graf č. 5 ukazuje rozdělení celkového počtu všech vyšetřených PSA, jejichž hodnoty se pohybují pod a nad cut-off hodnoty. Vyšetřená PSA jsou rozdělena do příslušných věkových skupin. Ve věkové skupině do 39 let bylo z 243 naměřených PSA nad cut-off hodnotu 20 což činí 8,23 %. Ve věkové skupině 40 – 49 let bylo nad cut-off hodnotu 93 PSA to je 7,13 %. V následujících dvou početnějších skupinách bylo nad cut-off hodnotu 372 PSA (10,75 %) ve skupině pacientů od 50 do 59 let a 561 PSA (14,56 %) ve věkové skupině od 60 do 69 let. V soubor pacientů ve věku od 70 do 79 let jsme našli PSA nad cut-off hodnotu u 279 pacientů (14,37 %) a v poslední skupině nad 80 let u 121 pacientů (21,84 %).

### Hypotéza č. 1

Následující tabulka II shrnuje celkový počet vyšetření PSA nad cut-off hodnoty (N) a počet pacientů (n), kteří byli opakovaně laboratorně sledováni. Pacienti jsou rozděleni do šesti věkových skupin. Tabulka dále uvádí procentuální zastoupení pacientů, kteří podstoupili opakované laboratorní vyšetření.

*Tabulka II: Procentuální zastoupení pacientů s opakovanými odběry na PSA*

| Věk     | N   | opakované sledování |       |
|---------|-----|---------------------|-------|
|         |     | n                   | %     |
| do 39   | 16  | 3                   | 18,80 |
| 40 - 49 | 68  | 21                  | 30,90 |
| 50 - 59 | 243 | 101                 | 41,60 |
| 60 - 69 | 365 | 171                 | 46,80 |
| 70 - 79 | 172 | 83                  | 48,30 |
| nad 80  | 83  | 28                  | 33,70 |



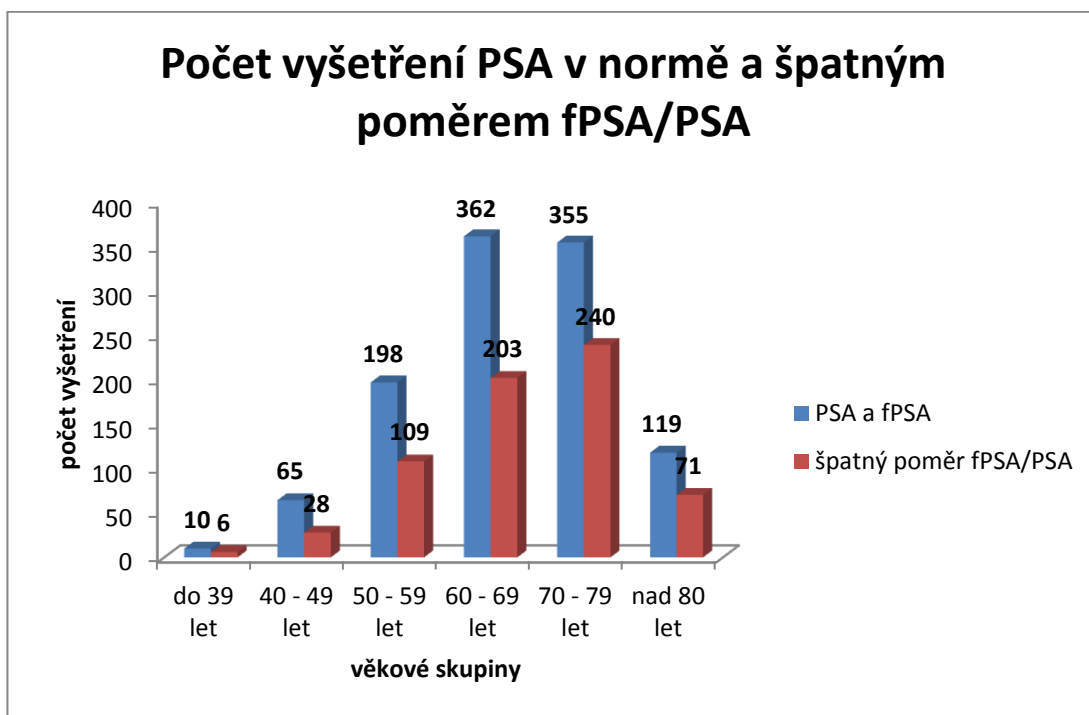
Graf č. 6: Počet opakovaných vyšetření vycházející z dat uvedených v tabulce II.

### Hypotéza č. 2

Tabulka III shrnuje celkový počet pacientů, kteří mají vyšetřené PSA i fPSA (N) a počet pacientů (n), kteří mají poměr PSA pod cut-off hodnotu a fPSA/PSA pod 0,20 a jejich procentuální zastoupení. Protože se cut-off hodnoty liší v jednotlivých věkových skupinách, jsou podle těchto hodnot data rozdělena.

Tabulka III: Procentuální zastoupení pacientů s PSA pod cut-off hodnotu a poměrem fPSA/PSA pod 0,20

| Věk     | N   | PSA pod cut-off hodnotu s poměrem pod 0,20 |       |
|---------|-----|--|-------|
|         |     | n  | %     |
| do 39   | 10  | 6  | 60,00 |
| 40 - 49 | 65  | 28   | 43,08 |
| 50 - 59 | 198 | 109  | 55,05 |
| 60 - 69 | 362 | 203  | 56,08 |
| 70 - 79 | 355 | 240  | 67,61 |
| nad 80  | 119 | 71   | 59,66 |



Graf č. 7: Počet vyšetření PSA v normě a špatným poměrem fPSA/PSA vycházející z dat uvedených v tabulce III.

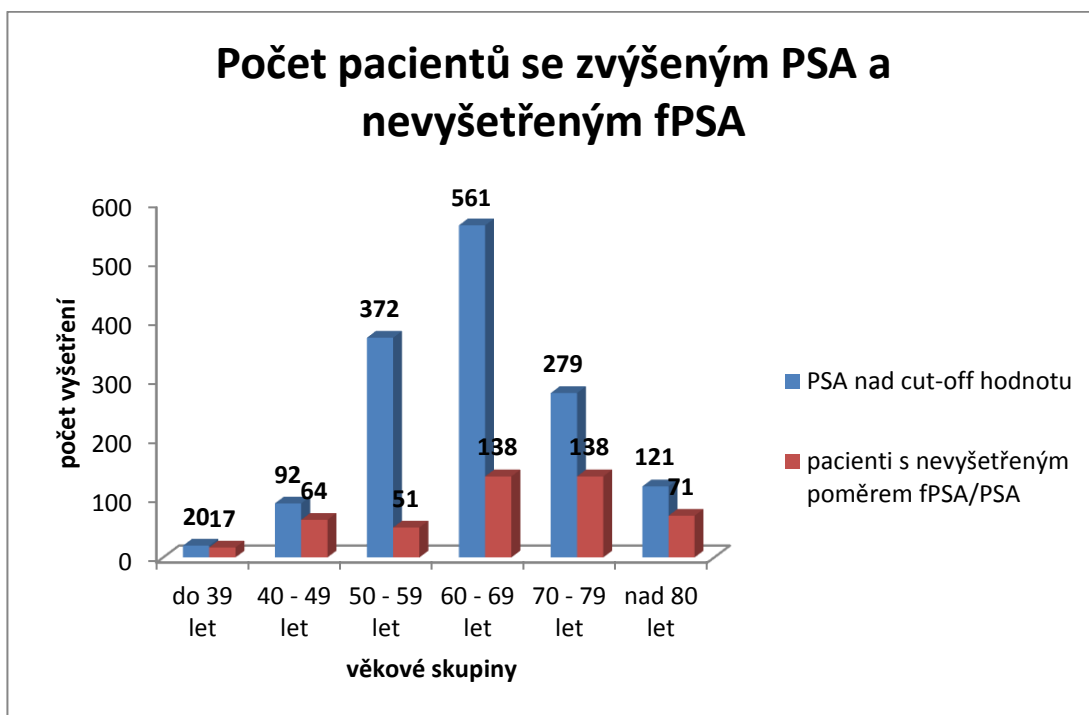
### Hypotéza č. 3

Tabulka IV uvádí počet pacientů, kteří mají zvýšené věkově specifické PSA (N) a nebylo u nich požadováno vyšetření fPSA (n). Tabulka uvádí i procentuální zastoupení počtu pacientů s nevyšetřeným fPSA.

*Tabulka IV: Procentuální zastoupení pacientů se zvýšeným PSA a nevyšetřeným fPSA*

| Věk     | N   | PSA zvýšené, bez fPSA |       |
|---------|-----|-----------------------|-------|
|         |     | n                     | %     |
| do 39   | 20  | 17                    | 85,00 |
| 40 - 49 | 92  | 64                    | 69,57 |
| 50 - 59 | 372 | 51                    | 13,71 |
| 60 - 69 | 561 | 138                   | 24,60 |
| 70 - 79 | 279 | 138                   | 49,46 |
| nad 80  | 121 | 71                    | 58,68 |





Graf č. 8: Počet pacientů se zvýšeným PSA a nevyšetřeným fPSA vycházející z dat uvedených v tabulce IV.

## 5. DISKUZE

Cílem práce bylo zpracování naměřených výsledků PSA a fPSA v období let 2011 až 2013 a jejich vyhodnocení. Soubor obsahoval dostatečný počet dat k vyhodnocení. Vzhledem k velikosti souboru mohla být data hodnocena dle věkových skupin viz graf č. 1. Z něho vyplývá, že maximum vyšetřovaných pacientů je ve věku od 50 do 69 let, tedy ve věku mužů s life expectance vyšší než 10 let, kdy je snaha diagnostikovat asymptomatický lokalizovaný CaP a tyto muže pak radikálně léčit (radikální prostatektomie, aktinoterapie). Převážná většina naměřených dat byla požadována z ordinací praktických lékařů (84,38 %), jak je vidět v grafu č. 2. Nejmladšímu vyšetřenému pacientovi je 19 let, nejstaršímu 94 let. S rostoucím věkem pacientů vzrůstá i počet vyšetření PSA, vrcholu dosahuje ve věku 63 let a poté má klesající tendenci. V otázce zastoupení diagnózy byla nejpočetnější skupinou diagnóza preventivního vyšetření (cílená detekce CaP). Tvořila 51,6 %. Diagnóza benigní hyperplazie prostaty byla na žádance uvedena z 15,8 % a karcinom prostaty z 5,5 %. Ve zbývajících 27,1 % se diagnóza netýkala onemocnění prostaty.

Hypotéza č. 1 vycházela z předpokladu, že pacient, kterému byla zjištěna zvýšená hodnota PSA, bude odeslán ke kontrolnímu laboratornímu vyšetření. Z naměřených dat, která jsou shrnuta v tabulce II je zřejmé, že nejvyšší procento kontrolních laboratorních vyšetření nepřesáhlo 50 %. Tím se hypotéza č. 1 nepotvrdila. Nejvíce kontrolních vyšetření je ve věkové skupině 70 až 79 let (48,3 %). Následuje skupina 60 – 69 let (46,8 %) a třetí skupinou přesahující 40 % je 50 – 59 let (41,6 %). U skupiny pacientů nad 80 let klesá počet vyšetření i procentuální zastoupení (33,7 %) kontrolních analýz. V této věkové kategorii může být celkový počet vyšetření ovlivněn nízkým zastoupením v populaci. Poslední dvě věkové skupiny 40 – 49 let (30,9 %) a do 39 let (18,8 %) mají překvapivě nejmenší procento kontrolních odběrů. Nicméně výsledek této hypotézy může být zatížen chybou, že nebyla dodržena obecně platná zásada pro vyšetřování nádorových markerů. Mohlo dojít k odeslání pacienta hned po prvním vyšetření na specializované pracoviště, kde byl proveden kontrolní odběr a doplňující diagnostické vyšetření. Pacienti z urologické ambulance byli k opakovaným odběrům odesíláni.

Hypotéza č. 2 vycházela z předpokladu, že u pacientů, kterým bylo naměřeno PSA pod věkově specifické cut-off hodnoty a zároveň bylo požadováno vyšetření fPSA bude poměr fPSA/PSA vyšší než 0,20. Ze zpracovaných dat v tabulce III je patrné, že se hypotéza nepotvrdila. V nízkých věkových skupinách (do 39 let a od 40 do 49 let) je zpracováno malé množství dat. Důvodem může být fakt, že mladší pacienti nemají klinické obtíže nebo s nimi z různých důvodů nepřichází k lékaři. Vyšetření pro časnou detekci CaP je doporučováno od 50 let. U pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou je věková hranice pro provádění cíleného vyšetření snížena i na 40 let. Ale i v ostatních věkových skupinách je vysoké procento patologického poměru fPSA/PSA. Vysoké procentuální zastoupení by mohlo být způsobeno tím, že fPSA je vyšetřováno podle věkově specifických cut-off hodnot PSA.

Hypotéza č. 3 vycházela z předpokladu, že u pacientů s patologickým věkově specifickým PSA bude požadováno vyšetření fPSA. V tabulce IV je uvedeno procentuální zastoupení nevyšetřených fPSA při zvýšených věkově specifických hodnotách PSA. Hypotéza č. 3 není potvrzena. Ze zpracovaných dat vyplývá, že nejméně početně zastoupené věkové skupiny jsou do 39 let a 40 – 49 let. Graf č. 5 ukazuje, že věkově specificky pozitivních PSA u věkové skupiny do 39 let bylo jen 20 z 243. Touto skutečností vznikl malý soubor pro hypotézu č. 3. Obdobné je to i pro skupinu 40 – 49 let, kdy z 1 212 vyšetřených PSA bylo pozitivních jen 93. Nejvyšší počet vyšetření fPSA při pozitivním PSA bylo u věkové skupiny 50 – 59 let. Jen 51 vyšetření (13,71 %) nemělo vyšetřené fPSA. Další početnější skupina je od 60 do 69 let, kdy bylo 561 pozitivních PSA. Ale u 24,6 % z nich nebylo stanoveno fPSA. Poslední dvě věkové skupiny 70 až 79 let a nad 80 let mají velké procento nevyšetřených fPSA. Příčinou může být vyšší věk těchto pacientů a s ním související přidružená onemocnění. Pacienti, kteří nemají obtěžující klinické obtíže, zpravidla v tomto věku již nejsou podrobeni náročnému vyšetřovacímu programu s cílem zachování co nejlepší kvality života.

## 6. ZÁVĚR

Cílem mé bakalářské práce bylo vypracovat rešerši na téma karcinom prostaty a benigní hyperplazie prostaty s důrazem na laboratorní stanovení prostatických markerů. Popsala jsem metody stanovení PSA a fPSA. Zpracovala a vyhodnotila jsem naměřená data. Zjistila jsem, ve které věkové skupině je nejvíce požadováno vyšetření PSA a zda jsou pacienti při vyšší hodnotě PSA (dle věkové specifikace) dále laboratorně vyšetřováni. Naměřená data jsem zpracovala podle stanovených kritérií a porovnála s vyslovenými hypotézami. Tím byl cíl mé práce splněn.

Zpracovala jsem 11 357 vyšetření PSA a 2 074 fPSA měřených od ledna roku 2011 do konce roku 2013. Data jsem rozdělila do šesti věkových skupin podle věkově specifického PSA. Výsledky jsem zanesla do tabulek a grafů, které byly podrobně popsány.

Ani jedna ze tří hypotéz se nepotvrdila, což bylo překvapivým zjištěním.

V první hypotéze se předpokládalo, že pokud se laboratorně zjistí zvýšené věkově specifické PSA, bude si ordinující lékař chtít ověřit kontrolním odběrem, zda a jak se mění laboratorně zjištěná hodnota PSA v závislosti na čase. Indikací k opakování vyšetření by měly být i diferenciálně diagnostická rozvaha, zda nemohlo dojít k falešné pozitivitě výsledku, což by mohlo nastat nedodržením preanalytické fáze ze strany pacienta (např. jízda na kole). Zpravidla bývá časné kontrolní vyšetření indikováno za tři měsíce od prvního odběru. Tato hypotéza se nepotvrdila. Jednou z příčin mohlo být, že vyšetření PSA indikoval praktický lékař. Při zjištěné nadlimitní hodnotě PSA odeslal pacienta k urologovi, což je povinností praktických lékařů. Další příčinou této skutečnosti mohl být fakt, že u některých pacientů při vyšetření DRV mohl být zjištěn pozitivní nález a pacienti byli indikováni k dalšímu diagnostickému procesu bez nutnosti monitorování nárůstu laboratorních hodnot PSA. Nebo byli indikováni k biopsii prostaty již na základě prvního vzorku PSA, který byl nad cut-off.

Druhá hypotéza také nebyla potvrzena. Na tomto výsledku se mohla podílet skutečnost, že jako cut-off hodnota bylo zvoleno věkově specifické PSA. Pokud bychom neprovedli dělení podle věkově specifických cut-off hodnot a provedli bychom

stanovení fPSA u všech pacientů s hodnotami PSA v rozmezí mezi 2 – 10 µg/l, procento pacientů s patologickým poměrem fPSA/PSA by bylo ještě výrazně vyšší. Mohlo by tak být laboratorně odhaleno více rizikových pacientů ohrožených karcinomem prostaty ve velmi časně fázi onemocnění.

Ani třetí hypotéza se nepotvrdila. Ve třetí hypotéze byl vysloven předpoklad, že u pacientů bude při zjištění zvýšeného věkově specifického PSA požadováno doplňující vyšetření fPSA, což by mohlo napomoci zpřesnit diagnózu. Nemalý vliv na průběh diagnostického procesu by mohla mít i skutečnost, že pokud bylo vyšetření PSA požadováno praktickým lékařem, mohl lékař bez další prodlevy odeslat pacienta rovnou na specializované urologické pracoviště. Opakovaný odběr i s doplňujícím vyšetřením fPSA tak mohl být proveden v jiné laboratoři. Nevylučuje se ani možnost, že vyšetření bylo provedeno jiným analytickým systémem. Takto naměřené výsledky bohužel není možné vzájemně porovnávat.

Nejčastěji je vyšetřován prostatický specifický antigen u pacientů ve věkovém rozmezí 60 – 69 let (v našem souboru dat 3 852 vyšetření) a těsně následují pacienti ve věkovém rozmezí od 50 do 59 let (3 462 vyšetření). Tyto věkové skupiny pacientů jsou označovány za potenciálně rizikové v rozvoji zhoubného onemocnění karcinomu prostaty, a proto je u pacientů v tomto věkovém rozmezí doporučován odběr krve na PSA v rámci cílené detekce karcinomu prostaty. Lze konstatovat, že maximum vyšetřovaných pacientů bylo ve věku od 50 do 69 let, tedy ve věku mužů s life expectance vyšší než 10 let, kdy je snaha diagnostikovat asymptomatický lokalizovaný CaP a tyto muže pak radikálně léčit (radikální prostatektomie, aktinoterapie).

Závěrem lze říci, že laboratorní stanovení prostatického specifického antigenu může významným způsobem přispět klinickému lékaři v určování diagnózy. Nesmí však být opomíjeno stanovení fPSA, jehož hodnota a vypočítaný poměr fPSA/PSA napomáhá rozlišit, zda mírná elevace PSA či hraniční hodnota PSA je pravděpodobně způsobená benigní hyperplazií prostaty či karcinomem prostaty. Definitivně však lze potvrdit nebo vyvrátit diagnózu karcinomu prostaty pouze z histologicky prokázaného nálezu v biopsicky odebraných vzorcích prostatické tkáně. Stanovení PSA a fPSA vždy bude pouze ukazatelem potenciálního rizika onemocnění. Hodnoty mimo očekávané

limity spolu s vyhodnocením klinického stavu pacienta indikací k dalšímu specializovanému vyšetření.

Výzkumným úkolem našich i zahraničních vědeckých pracovníků je najít dostatečně specifické a signifikantní markery, které by v budoucnosti napomohly jednoznačně rozlišit onemocnění karcinomem prostaty od benigní hyperplazie prostaty. Jedním z takových markerů by mohl být [-2] proPSA. Problematice tohoto stanovení se věnují také ve FN Plzeň, kde v současné době probíhá studie, které se prozatím zúčastnilo 263 pacientů. Zda bude moci být toto vyšetření používáno k cílené detekci karcinomu prostaty, ukáže čas.

## 7. SEZNAM LITERATURY

1. ADAM, Z., VORLÍČEK, J., VANÍČEK, J. *Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob*. Praha: Grada 2004, 684 s.
2. BABJUK, M. *Konsenzuální doporučené postupy v uroonkologii*. Praha: Galén 2009, 126 s.
3. BAUMGART, Y., OTTO, A., SCHAFER, A., USBECT, E., COTT, Ch., SCHOTT, A., TORNAC, M., WENZEL, A., MOSSIE, A., BIRKENMEIER, G. *Characterization of Novel Monoclonal Antibodies for Prostate-Specific Antigen (PSA) with Potency to Recognize PSA Bound to 2-Macroglobulin*. *Clinical Chemistry* 2004; 51: 84 – 92.
4. BELEJ, K., KAPLAN, O. *Hodnocení změn prostatického specifického antigenu v čase*. *Urologie pro praxi* 2011; 4: 208 -212.
5. CARTER, H. B., FERRUCCI, L., KETTERMANN, A., LANDIS, P., WRIGHT, E. J., EPSTEIN, J. I., TROCK, B. J., METTER, E. J. *Detection of Life-Threatening Prostate Cancer With Prostate-Specific Antigen Velocity During a Window of Curability*. *The Journal National of Cancer Institute* 2006; 98: 1521 – 1527.
6. D'AMICO, A. V., CHEN, M. H., ROEHL, K. A., CATALONA, W. J. *Preoperative PSA velocity and the risk of death from prostate cancer after radical prostatectomy*. *The New England Journal of Medicine* 2004; 351: 125 – 135.
7. DOLEŽALOVÁ, V. *Laboratorní technika v klinické biochemii a toxikologii*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví 1995, 286 s.
8. DVOŘÁČEK, J. *Urologie*. Praha: ISV nakladatelství 1998, 515 s.
9. DVOŘÁČEK, J., BABJUK, M. *Onkourologie*. Praha: Karolinum 2005, 589 s.
10. DYLEVSKÝ, I. *Funkční anatomie*. Praha: Grada 2009, 532 s.
11. EL EZZI, AA., EL-SAIDI, MA. *Stability of total and free prostate specific antigen in serum submitted to intermittent cold storage conditions*. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2009; 24: 166 – 174.

12. FIALA, R. *Adenokarcinom prostaty*. Praha: StudiaGeo s-r-o., 2001.
13. GERBER, GS., THOMPSON, IM., THISTED, R., CHODAK, GW. *Disease-specific survival following routine prostate cancer screening by digital rectal examination*. JAMA 1993; 269:61-64.
14. HANUŠ T. *Urologie*. Praha: Triton 2011, 207 s.
15. HERÁČEK, J., URBAN, M. *Urologie pro studenty*. Praha: Androgeos 2008.
16. CHODAK, G.W., KELLER, P., SCHOENBERG, H.W. *Assessment of screening for prostate cancer using the digital rectal examination*. J.Urol.1989; 142: 1136-1142.
17. CHROMÝ, V. *Analytické metody v klinické chemii*. Brno: Masarykova univerzita 2000, 215s.
18. KITTNAR, O. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada 2011, 790 s.
19. KOPÁČ, J. *Lékařská laboratorní diagnostika*. Trutnov: Polygraf s.r.o., 2004.
20. KUBEŠ, J., CVEK J., VONDRÁČEK V., DVOŘÁK J., ARGALACSOVÁ S., NAVRÁTIL M., BUŘIL J. *Results of combined radiotherapy and hormonal treatment of prostate cancer patients with initial PSA value >40ng/ml*. Reports of Practical Oncology 2012; 17: 79-84.
21. LEE, F., LITTRUP, P. J., TORP - PEDERSEN, S. T., METTLIN, C., MCHUGH, T. A., GRAY, J. M., KUMASAKA, G. H., MCLEARY, R.D. *Prostate cancer: comparison of transrectal US and digital rectal examination for screening*. Radiology1988; 168:389-394.
22. LUKEŠ, M., ZÁLESKÝ, M., ZACHOVAL, R., URBAN, M., HERÁČEK, J. *Prostatický specifický antigen a karcinom prostaty*. Klinická onkologie 2001; 4.
23. LÜLLMANN-RAUCH, R. *Histologie*. Praha: Grada 2012, 556 s.
24. MAČÁK, J., MAČÁKOVÁ, J., DVOŘÁČKOVÁ, J. *Patologie*. Praha: Grada 2012, 347 s.
25. MANSOURIAN, A. R., GHAEMI, E. O., AHMADI, A. R., MARJANI, A., MORADI, A., SAIFI, A. *Age Related Prostate-Specific Antigen Reference Range among Men in South-East Caspian Sea*. Pakistan Journal of Biological Sciences 2007; 10: 1496 – 1500.



26. MAREK, J. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. Praha: Grada 2010, 777 s.
27. MIKOLAJCZYK, S. D., MILLAR, L. S., WANG, T. J., RITTENHOUSE, H. G., MARKS, L. S., SONG, W., WHEELER, T. M., SLAWIN, K. M. *A precursor form of prostate – specific antigen is more highly elevated in prostate cancer compared with benign transition zone prostate tissue*. The Journal of Cancer Research 2000; 60: 756 – 759.
28. PRŮŠA R. *Průvodce laboratorními nálezy*. Praha: Raabe 2012, 1300 s.
29. RACEK, J. *Klinická biochemie*. Praha: Galén 2006, 329 s.
30. SBORNÍK ABSTRAKTŮ: XXXV. imunoanalytické dny. Brno: Tribun EU, 2014.
31. SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTIC PRODUCTS LTD. *Immulite 2000 freePSA*: Návod k použití. United kingdom, 2014.
32. SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTIC PRODUCTS LTD. *Immulite 2000 PSA*: Návod k použití. United kingdom, 2008.
33. SIEMENS MEDICAL SOLUTIONS DIAGNOSTICS. *Průručka uživatele Immulite 2000*: USA, 2009.
34. SOKOLL, L. J., WANG, Y., FENG, Z., KAGAN, J., PARTIN, A. W., SANDA, M. G., THOMSON, I. M., CHAN, D. V. *[-2]proPSA for Prostate Cancer Detection: an NCI Early Detection Research Network Validation Study*. The Journal of Urology 2008; 180: 539 – 543.
35. ŠTERN, P. *Obecná a klinická biochemie: pro bakalářské obory studia*. Praha: Karolinum 2005, 219 s.
36. ULMERT, D., BECKER, Ch., NILSSON, J., PIIRONEN, T., BJORK T., HUGOSSON J., BERGLUND G., LILJA H. *Reproducibility and Accuracy of Measurements of Free and Total Prostate-Specific Antigen in Serum vs Plasma after Long-Term Storage at -20 C*. Clinical Chemistry 2005; 52: 235 – 239.
37. VACEK, Z. *Histologie a histologická technika*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví 1995, 184 s.
38. WEISS, P. *Sexuologie*. Praha: Grada 2010, 724 s.

39. ZHANG, M., LU ZI, P. *From pro-prostate specific antigen, [-2]pro-prostate specific antigen to Beckman Coulter phi: the evolution of new biomarkers for early detection of prostatic carcinoma.* Chinese Medical Journal 2012; 125: 1643 – 1649.
40. ZIMA, T. *Laboratorní diagnostika.* Praha: Galén 2007, 906 s.

## **8. KLÍČOVÁ SLOVA**

Prostatický specifický antigen

Volná frakce prostatického specifického antigenu

Karcinom prostaty

Benigní hyperplazie prostaty

## **KEY WORDS**

Prostate – specific antigen

Free prostate – specific antigen

Prostate cancer

Benign prostatic hyperplasia