

# Dijagnostički značaj određivanja p2PSA u otkrivanju karcinoma prostate

---

**Vuk, Darko**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:249983>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-09-22**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO**  
**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Darko Vuk**

**DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ**  
**ODREĐIVANJA p2PSA U OTKRIVANJU**  
**KARCINOMA PROSTATE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2020.**



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**  
**MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**  
**DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO**  
**LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA**

**Darko Vuk**

**DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ**  
**ODREĐIVANJA p2PSA U OTKRIVANJU**  
**KARCINOMA PROSTATE**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2020.**

# **TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA**

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

**Medicinski fakultet**

**Diplomski sveučilišni studij**

**Znanstveno područje: Biomedicina i zdravstvo**

**Znanstveno polje: Temeljne medicinske znanosti**

**Diplomski rad**

**DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ ODREĐIVANJA p2PSA U OTKRIVANJU KARCINOMA  
PROSTATE**

**Darko Vuk**

**Rad je ostvaren u:** Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Kliničkog bolničkog centra Osijek

**Mentor rada:** doc. dr. sc. Sanja Mandić, spec. med. biochem.

**Broj slika:** 9

**Broj tablica:** 2

**Broj listova:** 28

## *Zahvala*

*Zahvaljujem se, u prvom redu svojoj mentorici doc. dr. sc. Sanji Mandić, prije svega na pruženom vremenu, nesebičnosti, strpljenju, razumijevanju, savjetima i predanosti ovome radu. Jedno veliko hvala svima na Kliničkome zavodu za laboratorijsku dijagnostiku na pomoći oko izrade rada, ali prvenstveno na kolegijalnosti.*

*Zahvalu dugujem svojim kolegicama i kolegama na ovih prekrasnih pet godina studiranja, koji su uvijek bili tu kada bi zapelo i sve to olakšali i učinili studiranje još ljepšim.*

*Posebnu zahvalu dugujem svojim roditeljima, bratu, supruzi i svima bliskima koji su mi u sve ove dane studiranja bili jedna velika podrška.*

# Sadržaj

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....                              | 1  |
| 1.1. Prostata.....                         | 1  |
| 1.1.1. Anatomija prostate.....             | 1  |
| 1.1.2. Fiziologija.....                    | 1  |
| 1.2. Benigna hiperplazija prostate .....   | 2  |
| 1.3. Karcinom prostate.....                | 2  |
| 1.3.1. Etiologija i patogeneza.....        | 3  |
| 1.3.2. Klasifikacija tumora.....           | 5  |
| 1.4. Dijagnostika karcinoma prostate ..... | 6  |
| 1.4.1. Klinički pregled .....              | 6  |
| 1.4.2. Biokemijski biljezi.....            | 6  |
| 2. HIPOTEZA.....                           | 8  |
| 3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....               | 9  |
| 4. ISPITANICI I METODE .....               | 10 |
| 4.1. Ispitanici .....                      | 10 |
| 4.2. Metode.....                           | 10 |
| 4.2.1. Laboratorijski postupci.....        | 10 |
| 4.2.2. Statističke metode.....             | 12 |
| 5. REZULTATI .....                         | 13 |
| 6. RASPRAVA.....                           | 20 |
| 7. ZAKLJUČAK.....                          | 22 |
| 8. SAŽETAK.....                            | 23 |
| 9. SUMMARY.....                            | 24 |
| 10. LITERATURA.....                        | 25 |
| 11. ŽIVOTOPIS.....                         | 27 |

## POPIS KRATICA

BHP – benigna hiperplazija prostate

PSA - prostata specifični antigen

PAP (engl. *Prostatic acid phosphatase*) – prostatična kisela fosfataza

LUTS (engl. *lower urinary tract symptoms*) - simptomi donjih mokraćnih puteva

TCDD - tetraklorobenzo-p-dioksin

DNK - deoksiribonukleinska kiselina

AR – androgeni receptor

ESR1- estrogen receptor 1 gen

ESR2 – estrogen receptor 2 gen

*CD44* (engl. *Cluster of differentiation 44*) – klaster diferencijacije

CDH1 (engl. *Cadherin-1*) - kadherin

LAMA3 (eng. *laminin subunit alpha 3*)

CAGE (eng. *cancer-associated gene-1*) – gen promotor hipometilacije

HPSE (engl. *Heparanase*) - heparanaza

PHD – patohistološka dijagnoza

TNM (tumor, nodus, metastaze)

CT (engl. *Computed tomography*) - kompjuterizirana tomografija

MR - magnetska rezonancija

DRP - digitorektalni pregled

PHI (engl. *Prostate Health Indeks*) - indeks zdravlja prostate

TRUZ - transrektalni ultrazvuk



p2PSA- prekursor prostata specifičnog antigena

cPSA (engl. *Complexed PSA*) – kompleksirani oblik PSA

fPSA (engl. *free PSA*) – slobodni PSA

FDA (engl. *Food and Drug Administration*) – agencija za hranu i lijekove

iPSA (engl. *intact PSA*) – intaktni oblik PSA

BPSA (engl. *benign PSA*) – benigni oblik PSA

tPSA (engl. *total PSA*) – ukupni PSA

AUC (engl. *Area Under the Curve*) – površina ispod krivulje

# 1. UVOD

Prostata ili predstojna žlijezda muška je spolna žlijezda koja ima značajnu ulogu u stvaranju sjemene tekućine koja je izvor mnogih enzima i proteina. Prostata je, kako starimo, podložna raznim bolestima poput benigne hiperplazije (BHP) ili karcinoma.

## 1.1. Prostata

### 1.1.1. Anatomija prostate

Prostata je smještena u subperitonealnom prostoru između dijafragme zdjelice i peritonealne šupljine, ispod simfize, a ispred rektuma. Oblika je i veličine kestena. Prosječne je dimenzije 3,5 cm visine, 4,5 cm dužine i 2,5 cm debljine. Masa prostate u prosjeku je od 16 do 22 grama. Na prostati je moguće razlikovati bazu, vrh (apeks), prednju, stražnju i bočne površine. Proksimalnim dijelom okružuje vrat mokraćnog mjehura, a distalnim prostatičnu uretru. Fibromuskularne je građe, a najveći udio čine žljezdani i stromalni elementi. S obzirom na embrionalni nastanak žlijezde, prema McNealu prostata se dijeli u tri zone: središnja ili centralna zona, prijelazna ili tranzicijska zona i periferna zona. S prednje strane prostate i uretre nalazi se dorzalni venski kompleks ili Santorinijev pleksus. Sa stražnje su strane prostata i sjemenski mjehurići prekriveni rektoprostatičnom ili Denonivillierovom fascijom. Prednji dio apeksa prostate vezan je parnim puboprostatičnim ligamentom za pubične kosti, a donji dio apeksa u kontaktu je s urogenitalnom dijafragmom. Prostata prima arterijsku krv od donje vezikalne, unutarnje pudendalne i srednje rektalne arterije. Venska se krv drenira u periprostatični venski pleksus koji je povezan s dorzalnim pleksusom, i zajedno se dreniraju u unutarnju ilijačnu venu (1, 2).

### 1.1.2. Fiziologija

Glavna funkcija prostate povezana je s proizvodnjom kiselog sekreta (pH ~ 6) koji sadrži cink i citrat, a pored toga izlučuje prostatični specifični antigen (PSA) i prostatičnu kiselu fosfatazu (PAP) koja razgrađuje sjemeni ugrušak. Prostata je jedini organ koji stvara citrate, a za regulaciju sekrecije odgovoran je testosteron. Pored toga, sekret prostate sadrži kolesterol, magnezij, fosfolipide te fibrinolizin. Prostata izlučuje enzime koji su u interakciji s fibrinogenom iz sjemenih

vezikula tvoreći fibrin. Fibrin tvori mrežicu ugruška i tako je odgovoran za koagulaciju sjemene tekućine u ženskom reproduktivnom traktu izravno nakon ejakulacije. Međutim, kako bi se omogućilo brzo oslobađanje spermatozoida, potrebno je razgraditi sjemenu tekućinu. Prostata sintetizira proteolitički enzim fibrinolizin koji djeluje na razgradnju fibrina i tako dovodi do oslobađanja spermatozoida unutar 5 do 15 minuta (3, 4).

## 1.2. Benigna hiperplazija prostate

Benigna hiperplazija prostate (BHP) uvećanje je prostate uzorkovano staničnom hiperplazijom. Pogađa više od 40 % pojedinaca starijih od 60 godina. BHP uzrokuje simptome donjih mokraćnih puteva (engl. *lower urinary tract symptoms*, LUTS), što je česta dijagnoza kod starije muške populacije gdje je prevalencija u porastu. Mnogo je rizičnih čimbenika koji dovode do razvoja i progresije BHP-a i LUTS-a. Simptomi mogu biti opstruktivni (što rezultira smanjenjem brzine protoka mokraće ili dugotrajnim pražnjenjem) ili iritativni (što rezultira učestalošću mokrenja te nokturijom). BHP nastaje kada epitelne i stromalne stanice u prijelaznoj zoni prostate proliferiraju. Smatra se da je proces uzrokovan upalom ili povećanom sekrecijom spolnih hormona. Pacijenti s LUTS-om prolaze nekoliko dijagnostičkih ispitivanja prije postavljanja dijagnoze BHP-a. Stanični rast kod BHP-a također može uzrokovati kvržice u periuretralnoj regiji prostate, koje mogu djelomično ili u potpunosti opstruirati uretru. BHP dovodi do niza poremećaja među kojima je deregulacija razine hormona u cirkulaciji i abnormalna pregradnja tkiva. Ti procesi uključuju i izmijenjenu ekspresiju citokina i kemokina, poremećaj imunološkog nadzora i prepoznavanja. Poznato je da u genezi karcinoma prostate neravnoteža između stanične proliferacije i stanične smrti igra značajnu ulogu. Apoptoza ili programirana stanična smrt složen je proces koji uključuje razvoj i staničnu stabilnost. Uočavanje apoptotskih putova koji uključuju stanice prostate koje prolaze hiperplaziju može pružiti nove podatke o kancerogenezi, pružajući tako nove terapijske ciljeve (5).

## 1.3. Karcinom prostate

Karcinom prostate drugi je po učestalosti dijagnosticiran karcinom i šesti vodeći uzrok smrti od karcinoma kod muškaraca u svijetu, s oko 900 000 novih slučajeva godišnje. Karcinom prostate obično raste sporo i u početku je ograničen na prostatu, gdje možda neće nanijeti ozbiljnu

štetu. Karcinom prostate ima više žarišta. Međutim, dok neke vrste karcinoma prostate rastu sporo i trebaju minimalno ili čak nikakvo liječenje, druge su vrste agresivne i mogu se brzo širiti. Karcinom koji je rano otkriven ima veću vjerojatnost za uspješno liječenje.

### 1.3.1. Etiologija i patogeneza

Karcinom prostate najčešći je dijagnosticirani karcinom muške populacije u razvijenim zemljama s procjenom oko 1,6 milijuna slučajeva u 2015. godini te drugi karcinom po učestalosti među Američkom populacijom (22).

U 2012. g. procjenjuje se da je otkriveno oko 1,1 milijun novih slučajeva karcinoma prostate, što čini 15 % malignih slučajeva širom svijeta te oko 307 000 smrtnih slučajeva. U Sjedinjenim Američkim Državama 2015. g. zabilježeno je 220 800 novih slučajeva, što čini 26 % malignih slučajeva kod muškaraca, od toga 27 540 smrtnih slučajeva (9).

U zapadnoj Europi incidencija je 97 slučajeva na 100 000 muškaraca, čime nadmašuje karcinom pluća i kolorektalni karcinom (9).

2017. godine u Hrvatskoj je od karcinoma prostate oboljelo 2794 muškaraca, što je 21 % od ukupnog broja muškaraca oboljelih od karcinoma. U istoj godini od karcinoma prostate umrlo je 785 muškaraca (8).

Procjene su da će broj novooboljelih do 2030. porasti na 1,7 milijuna novih slučajeva, od toga smrtnih slučajeva na 499 000, a uzrok tomu sve je starija svjetska populacija (6).

Rizični čimbenici za karcinom prostate su starija životna dob, rasa i genetska predispozicija. Određeni egzogeni čimbenici, poput prehrambenih navika, unosa alkohola, pušenja, rizičnog spolnog ponašanja, izloženosti UV-zračenju te kroničnih upala, također mogu biti uključeni u doprinos navedenim rizicima.

Karcinom prostate uglavnom pogađa starije muškarce, uz medijan dobi pri dijagnozi od 67 godina (9). Šest od deset slučajeva dijagnosticirano je nakon 65. godine i kasnije. Rjeđa je pojava karcinoma prije 40. godine, a nakon 50. godine života veća je vjerojatnost oboljenja. Od 2007. do 2011. g., otprilike 0,6 % karcinoma prostate dijagnosticirano je između 35. i 44.; 9,7 % između 45. i 54., 32,7 % između 55. i 64., 36,3 % između 65. i 74., 16,8 % između 75. i 84. i 3,8 % iznad

85. godine (6). Široka upotreba PSA-a značajno je doprinijela ranom otkrivanju karcinoma prostate te se globalno bilježi porast incidencije.

Rasa je također jedan o rizičnih čimbenika. Tako Afroamerikanci imaju najveću stopu porasta oboljenja od karcinoma prostate u svijetu (223 na 100 000 muškaraca). Incidencija kod Afroamerikanaca viša je 60 % u odnosu na pripadnike bijele rase (139,9 na 100 000 muškaraca). Od 2007. do 2011. g. stopa smrtnosti Afroamerikanaca bila je 2,4 puta veća nego li u bijelaca i Latinoamerikanaca. Najniža je incidencija među azijskom populacijom (6, 7).

Nekoliko studija ukazuje na povezanost genetskih nasljednih čimbenika s karcinomom prostate. Muškarci kod kojih netko iz obitelji prvog koljena (otac, brat) ima dijagnosticiran karcinom prostate imaju dvostruko veću vjerojatnost od oboljenja. Nasljedni oblik karcinoma čini 9 % od ukupnog broja slučajeva karcinoma prostate (6).

Prehrana je također jedan od rizičnih čimbenika za nastanak karcinoma prostate, posebno u zapadnim zemljama gdje je uzrok tomu povećana konzumacija masti, crvenog mesa i mliječnih proizvoda (6). Nedostatak vitamina D ima značajnu ulogu u nastanku karcinoma prostate. Vitamin D nalazi se u mnogim prehrambenim proizvodima kao što je riblje ulje, jaja i mliječni proizvodi, no ponekad je unos kroz prehrambene proizvode nedostatan da pokrije dnevne potrebe. Glavni izvor vitamina D nastaje sintezom u koži pretvorbom prekursora (7-dihidroksikolesterola) u vitamin D, do pretvorbe dolazi djelovanjem ultraljubičastog zračenja od strane sunčeva svjetla. Vitamin D hidroksilira se u jetri, a zatim u bubrezima i tako nastaje njegov aktivni oblik. Vitamin D ima antiproliferativna svojstva (6, 7).

Pored navedenih rizičnih čimbenika, pojedina zanimanja povezuju se s povećanim rizikom nastanka karcinoma prostate. Tako muškarci koji su izloženi radu s herbicidima i pesticidima te tetraklorobenzo-p-dioksinom (TCDD) imaju povećan rizik nastanka karcinoma prostate iako trenutno ne postoje čvrsti dokazi o tome (10).

Također, utjecaj na nastanak karcinoma mogu imati i androgeni, koji imaju važnu ulogu u kancerogenezi prostate, a njih čine testosteron, dihidroepiandrosteron te dihidroksitestosteron (ireverzibilno se katalizira iz testosterona pomoću enzima 5 alfa-reduktaze). Kod muškaraca s nedostatkom 5 alfa-reduktaze tkivo prostate nerazvijeno je, a biopsijom je vidljiva stroma, ali ne i epitel. Samim time manjak enzimske aktivnosti i manjak testosterona može djelovati zaštitnički

protiv razvoja karcinoma prostate, što je i vidljivo u slučaju atrofije prostate kod muškaraca nakon kirurške kastracije. Laboratorijska istraživanja pokazuju da primjena testosterona potiče nastanak karcinoma prostate kod miševa te da androgeni potiču proliferaciju stanica i inhibiraju apoptozu stanica (6, 10, 11).

Epigenetske promjene utječu na ekspresiju gena, a da se ne promjeni sekvenca deoksiribonukleinske kiseline (DNK). Mehanizmi uključuju hipermetilaciju, hipometilaciju, modifikaciju histona itd. Različiti geni sudjeluju u nastanku karcinoma prostate uključujući hipermetilaciju hormonski odgovornih gena (AR, ESR1, ESR2), gena izgradnje i invazije tumora (CD44, CDH1, LAMA3), gena za hipometilaciju (CAGE, HPSE), gena za receptor vitamina D i mnogi drugi (11).

### 1.3.2. Klasifikacija tumora

Patohistološki stupanj i stadij bolesti klinički su važni zbog određivanja biološke agresivnosti karcinoma, procjene lokalne invazije te udaljenih metastaza, kao i određivanje terapijskog postupka. Za određivanje stupnja karcinoma prostate koristi se Gleasonov zbroj koji dobro korelira s proširenošću bolesti i prognozom. Mikroskopski se svaki tumor ocjenjuje prema diferenciranosti od 1 do 5. Gleasonov zbroj sastoji se od najzastupljenije i najagresivnije komponente tumora te stoga može imati vrijednost od 2 do 10. Niži Gleasonov zbroj označava dobro diferencirane tumore, dok suprotno tomu viši zbroj označava slabo diferencirane tumore s visokim rizikom od razvoja metastaza. Patološka podjela temelji se na podacima dobivenim tijekom operacije, uz patohistološku dijagnozu (PHD) uzorkovanog tkiva.

Određivanje stadija karcinoma temelji se na procjeni veličine tumora prostate i njegovoj proširenosti. U određivanju stadija preporučuje se procjena primarnog žarišta tumora (T), zahvaćenosti limfnih čvorova (N) te prisutnost metastaza (M). Takav sustav klasifikacije iz 2010. naziva se TNM sustav. Za TNM stupnjevanje potrebna nam je vizualna tehnika poput kompjuterizirane tomografije (CT) ili magnetske rezonancije (MR). Klinički stadij bolesti određuje se digitorektalnim pregledom (DRP) te magnetskom rezonancijom zdjelice i scintigrafijom kosti (12, 13).

## 1.4. Dijagnostika karcinoma prostate

Liječnici koriste mnoge testove kako bi otkrili karcinom te utvrdili njegovu proširenost, a u svrhu pravovremenog i odgovarajućeg terapijskog izbora. Lokalizirani karcinom prostate rijetko je povezan sa simptomima pa se njegovo uočavanje temelji na kombiniranju kliničkog pregled pacijenta, DRP-a, vrijednosti PSA-a, indeksa PSA-a, izračunu indeks zdravlja prostate (engl. *Prostate Health Index*, PHI) vizualnim metodama poput CT-a, MR-a te transrektalnom ultrazvuku (TRUZ) u kombinaciji s biopsijom.

### 1.4.1. Klinički pregled

Kompletna anamneza i DRP nužni su za procjenu rizika kod pacijenta sa sumnjom na karcinom prostate. Digitorektalno tvrda, čvorasta i bezbolna prostata postavlja sumnju da se radi o karcinomu prostate. Također neki od simptoma kao što su uvećani limfni čvorovi i/ili bol u leđima, mogu ukazivati da se radi o karcinomu.

Vizualnim metodama možemo, osim potvrde, utvrditi i stadij karcinoma prostate te njegovu proširenost. Samim time može se odrediti u kojem će smjeru ići daljnje liječenje. Vizualne metode koje se koriste pri evaluaciji bolesti su TRUZ, CT, MR, a ako se utvrdi da su stanice karcinoma metastazirale provodi se i scintigrafija kostiju. Biopsijom prostate utvrđuje se konačna dijagnoza karcinoma prostate, a inicijalno je indicirana kod povišenih vrijednosti PSA-a i/ili suspektnog digitorektalnog pregleda. Biopsija se izvodi pod kontrolom TRUZ-a uz uzimanje 10 – 12 cilindričnih uzoraka (14).

### 1.4.2. Biokemijski biljezi

Biokemijski biljezi mogu pomoći pri dijagnostici i liječenju karcinoma prostate. Jedan je takav biljeg PSA koji je glikoproteinska serinska proteaza veličine 34 kDA, a također je poznat i kao humani kalikrein III. Ne znači nužno svaka povišena vrijednost PSA-a da je karcinom prisutan. PSA može biti povišen i kod prostatitisa, BHP-a te nakon manipulacije prostate (kateterizacija, endoskopski zahvat). Uredna vrijednost PSA-a u krvi muškarca uglavnom je od 0 – 4  $\mu\text{g/L}$ , no ovisi o dobi. Omjer slobodnog i ukupnog PSA-a (vrijednost F/T) koristan je parametar u nejasnim slučajevima, pa se njegovom primjenom smanjuje broj nepotrebnih biopsija. U pacijenata s  $F/T > 25\%$  rizik od karcinoma je 8 %, dok je u slučaju  $F/T < 10\%$  taj rizik 56 % (15).

PSA se u početku sintetizira iz epitelnih stanica kao proenzim koji sadržava 261 aminokiselinu. U duktusu prostate nastaje prekursor (-7) proPSA koji sadrži 244 aminokiseline nakon uklanjanja 7-amino N-terminalnog-pro-peptida. Aktivni oblik PSA-a nastaje konverzijom iz prekursora proPSA uz pomoć humanog kalikreina-2 te aktivni oblik može postati inaktivan nakon proteolize. PSA se u serumu nalazi u slobodnom i kompleksiranom obliku (engl. *complexed* PSA, cPSA). Slobodni PSA (engl. *free* PSA, fPSA) ima tri različita molekularna oblika. Prvi je oblik proPSA, koji je ujedno i najstabilniji oblik, eksprimiran je uglavnom u perifernoj zoni prostate i ima nekoliko skraćenih oblika. Djelomičnim cijepanjem (-7) pPSA-a dolazi do skraćivanja pro-peptida u (-5) pPSA, (-4) pPSA i (-2) pPSA. Biomarker proPSA odobren je 2012. od strane organizacije za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration* – FDA) kao pomoć pri odlučivanju potrebe za biopsijom kod muškaraca čije su vrijednosti PSA-a između 4,0 i 10,0  $\mu\text{g/L}$ , a DRP je negativan. Drugi je oblik intaktni (iPSA) koji je sličan izvornom aktivnom obliku PSA-a, ali je enzimski neaktivan. Treći je oblik benigni PSA (BPSA) koji je eksprimiran u prijelaznoj zoni prostatične žlijezde te je povezan s benignom hiperplazijom prostate (15, 16).

Kompleksirani PSA nastaje kada se enzimski aktivni PSA oslobodi u serum, nakon čega dolazi odmah do neutralizacije proteolitičke aktivnosti vezanjem za serinske antiproteaze kao što su  $\alpha 1$ -proteaza inhibitor,  $\alpha 1$ -antikimotripsin te  $\alpha 2$ -makroglobulin (15).



## **2. HIPOTEZA**

Hipoteza ovog istraživanja je da je PHI zbroj bolji dijagnostički biljeg u razlikovanju benignih od malignih promjena prostate od % PSA, te da bi se njegovom uporabom smanjio broj nepotrebnih biopsija kod pacijenata sa sumnjom na karcinom prostate.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

Glavni cilj: Ovim istraživanjem koje obuhvaća analizu različitih molekularnih oblika PSA-a (ukupni PSA, fPSA i p2PSA) trebalo bi procijeniti potencijal p2PSA-a u razlikovanju pacijenata s karcinomom prostate u odnosu na pacijente s benignim promjenama kod kojih postoji sumnja neoplastične promjene.

Specifični ciljevi:

1. Ispitati postoji li razlika u vrijednostima p2PSA-a u pacijenata s karcinomom prostate u odnosu na kontrolnu skupinu.
2. Izračunati PHI iz vrijednosti pojedinačnih parametara.
3. Odrediti specifičnost i osjetljivost PHI-a u odnosu na % PSA u razlikovanju pacijenata s benignim promjenama od pacijenata s karcinomom.

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ispitanici

Za istraživanje su se koristili preostali uzorci venske krvi prikupljeni venepunkcijom u epruvetu bez antikoagulansa, pacijenata sa sumnjom na karcinom prostate, a koji su zaprimljeni u Zavodu za urologiju KBC-a Osijek te su tamo ujedno podvrgnuti postupku biopsije prostate. Istraživanje se provodilo tijekom dva mjeseca. PSA i fPSA rutinski su se mjerili u sklopu obrade takvih pacijenata, a u ostatnom su se uzorku naknadno izmjerile koncentracije p2PSA-a. Mjerenja su provedena u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek. Patohistološka analiza bioptata prostate napravila se u Kliničkom zavodu za patologiju i sudsku medicinu. Ustroj studije je presječno istraživanje. Iz istraživanja su se isključili pacijenti kojima su vrijednosti PSA-a bile veće od 15 ili manje od 2 µg/L. Ispitanici su bili podijeljeni u dvije skupine:

1. pacijenti s karcinomom prostate
2. ispitanici s povećanim PSA-om i/ili patološkim nalazom digitorektalnog pregleda, ali bez potvrđenog karcinoma prostate.

### 4.2. Metode

#### 4.2.1. Laboratorijski postupci

Uzorci venske krvi dobiveni venepunkcijom u epruvete bez antikoagulansa centrifugirali su se 10 minuta na 3500 rpm. Tim postupkom odvojio se serum od stanica koji je poslužio za mjerenje koncentracija PSA-a i fPSA-a. Nakon testiranja ostatni uzorci seruma pohranili su se u hladnjak na -20 °C s ciljem naknadnog mjerenja koncentracije p2PSA-a. Sustavi za imunološko testiranje Access Hybritech PSA, Access Hybritech free PSA i Access Hybritech p2PSA proizvođača Beckman Coulter-a korišteni su za mjerenje koncentracije PSA-a, fPSA-a i p2PSA-a. Mjerenje se izvelo kemiluminiscentnom imunoanalizom na UniCel DxI 600 imunokemijskom analizatoru (Beckman Coulter Inc., Brea, USA). Access Hybritech analiza je dvodijelna imunoenzimska („sendvič“) analiza. Iz vrijednosti koncentracija PSA-a i fPSA-a računski se izračunao % PSA prema formuli indeks PSA (%) =  $fPSA / tPSA \times 100$ , a iz vrijednosti svih triju parametara izračunao se PHI zbroj prema formuli  $PHI = (p2PSA / fPSA) \times (\sqrt{PSA})$ . Konačna

dijagnoza i prema tome podjela pacijenata temeljila se na patohistološkom nalazu bioptata prostate dobivenom tijekom rutinske obrade pacijenta.

Metoda određivanja ukupnog PSA (Access Hybritech PSA):

Uzorak se dodaje u reakcijsku posudu s konjugatom monoklonskih antitijela anti-PSA-alkalnom fosfatazom, i paramagnetskim česticama obloženim sa sekundarnim monoklonskim antitijelima miša anti-PSA. PSA se u uzorku veže na imobilizirana monoklonska antitijela anti-PSA na krutoj fazi dok, istovremeno, konjugat monoklonskih antitijela anti-PSA alkalne fosfataze reagira s različitim mjestima za antigen na uzorku PSA. Nakon inkubacije u reakcijskoj posudi, materijali vezani na krutu fazu se drže u magnetskom polju dok se nevezani materijali ispiru. Zatim se u posudu dodaje kemiluminiscentni supstrat Lumi-Phos\* 530, a svjetlo generirano reakcijom se mjeri luminometrom. Proizvodnja svjetlosti je direktno proporcionalna koncentraciji PSA u uzorku. Količina analita u uzorku je određena sa pohranjene kalibracijske krivulje.

Metoda određivanja fPSA (Access Hybritech free PSA):

Uzorak je dodan u reakcijsku posudu s konjugatom mišjih monoklonskih antitijela anti-free PSA-alkalna fosfataza i paramagnetskim česticama obloženim sa drugim mišjim monoklonskim antitijelima, anti-PSA. Slobodni PSA u uzorku se veže na imobilizirana monoklonska antitijela anti-PSA na krutoj fazi dok istovremeno konjugat monoklonskih antitijela anti-free PSA-alkalna fosfataza reagira s različitim antigenim mjestima na molekuli slobodnog PSA. Nakon inkubacije u reakcijskoj posudi, materijali koji su vezani na krutu fazu postavljaju se u magnetsko polje dok se nevezani materijali ispiru. Zatim se dodaje kemiluminiscentni supstrat Lumi-Phos\* 530 u reakcijsku posudu, a zbog reakcije nastalo svjetlo mjeri se luminometrom. Proizvodnja svjetlosti je proporcionalna koncentraciji slobodnog PSA u uzorku. Količina analita u uzorku se određuje iz pohranjene kalibracijske krivulje .

Metoda određivanja p2PSA (Access Hybritech p2PSA):

Uzorak je postavljen u reakcijsku posudu s konjugatom monoklonskih antitijela miša anti-PSA-alkalna fosfataza, paramagnetskim česticama obloženim s mišjim monoklonskim antitijelima anti-[-2] proPSA i blokirajućim ragensom. [-2] proPSA u uzorku se veže na imobilizirana monoklonska antitijela anti-[-2] proPSA na krutoj fazi dok istovremeno, konjugat monoklonskih antitijela anti-PSA-alkalna fosfataza reagira s različitim mjestima za antigen na molekuli [-2] proPSA. Nakon inkubacije u reakcijskoj posudi, materijali vezani za krutu fazu se drže u magnetskom polju dok se nevezani materijali ispiru. Zatim se dodaje kemiluminiscentni supstrat Lumi-Phos\* 530 koji je dodan u reakcijsku posudu, a svjetlo koje nastaje reakcijom mjeri se luminometrom. Proizvodnja svjetlosti je direktno proporcionalna koncentraciji [-2] proPSA u uzorku. Količina analita u uzorku se određuje iz pohranjene kalibracijske krivulje.

#### 4.2.2. Statističke metode

Rezultati su se obradili statističkim testom MedCalc (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium). Deskriptivna statistika uz odgovarajuće srednje vrijednosti i standardne devijacije ili medijane i interkvartilne raspone (ovisno o normalnosti raspodjele) koristila se za prikaz podataka. Kolmogorov-Smirnov testom ispitala se raspodjela podataka. Ovisno o normalnosti raspodjele, razlika između grupa se testirala odgovarajućim parametrijskim ili neparametrijskim testom (t-test ili Mann – Whitney U test). ROC analiza napravljena je za % PSA i PHI zbroj kako bi se utvrdila njihova specifičnost i osjetljivost u razlikovanju benignih od malignih promjena prostate.  $P < 0,05$  predstavljala je razinu značajnosti koja se koristila za ocjenu značajnosti dobivenih rezultata.

## 5. REZULTATI

Rezultati mjerenja prikazani su u Tablici 1. iz koje je vidljivo je da nema statistički značajne razlike u koncentraciji p2PSA-a između ispitivanih skupina za razliku od p2PSA/fPSA i PHI-a, gdje je ta razlika vidljiva.

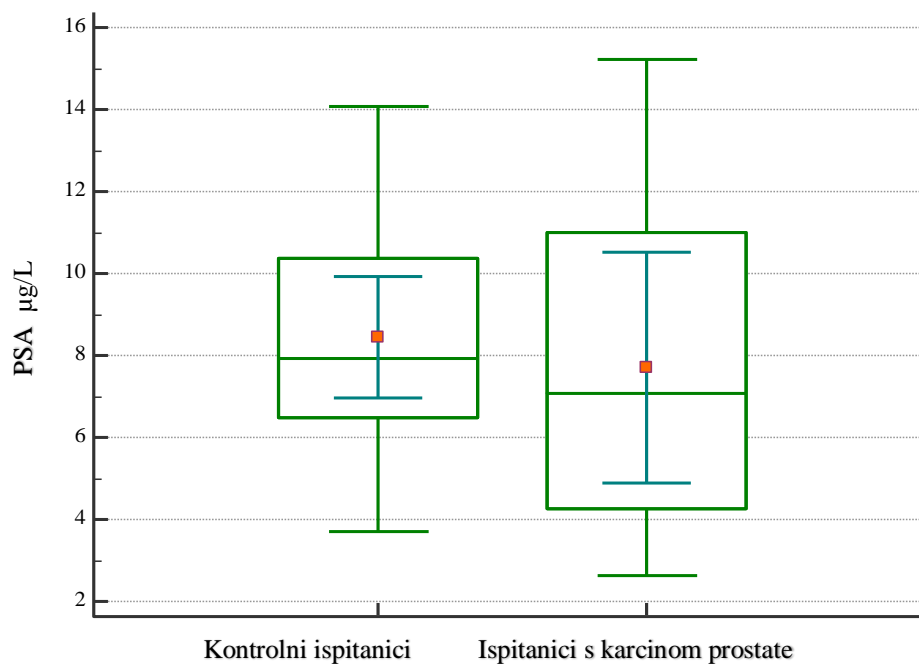
Tablica 1. Rezultati biokemijskih biljega u ispitivanim skupinama

|                       | Kontrolna skupina<br>Medijan; IQ | Karcinom<br>Medijan ; IQ | P*           |
|-----------------------|----------------------------------|--------------------------|--------------|
| PSA $\mu\text{g/L}$   | 7,91 (6,49 – 10,38)              | 7,06 (3,97 – 11,93)      | 0,415        |
| fPSA $\mu\text{g/L}$  | 1,39 (1,05 – 1,96)               | 1,00 (0,87 – 1,18)       | <b>0,032</b> |
| p2PSA $\mu\text{g/L}$ | 0,012 (0,008 – 0,019)            | 0,016 (0,013 – 0,024)    | 0,126        |
| % PSA                 | 82,24 (77,81 – 86,31)            | 85,40 (79,33 – 90,95)    | 0,126        |
| % fPSA                | 17,77 (13,70 – 22,19)            | 14,60 (9,05 – 20,67)     | 0,126        |
| p2PSA/fPSA            | 9,86 (8,476 – 12,06)             | 14,82 (13,18 – 20,48)    | <b>0,002</b> |
| PHI                   | 25,93 (20,908 – 35,01)           | 41,25 (28,62 – 54,48)    | <b>0,020</b> |

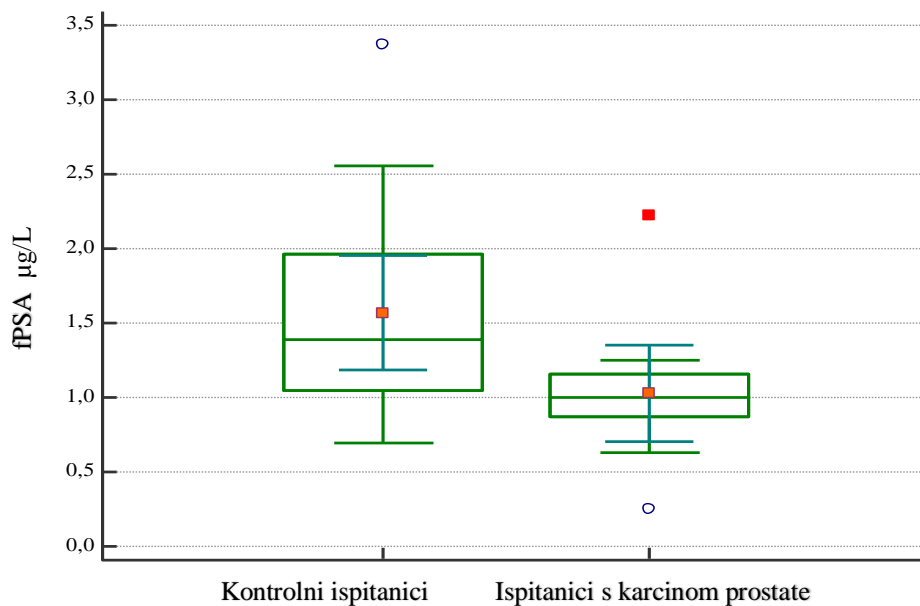
\*Mann – Whitney U test

IQ – interkvartilni raspon

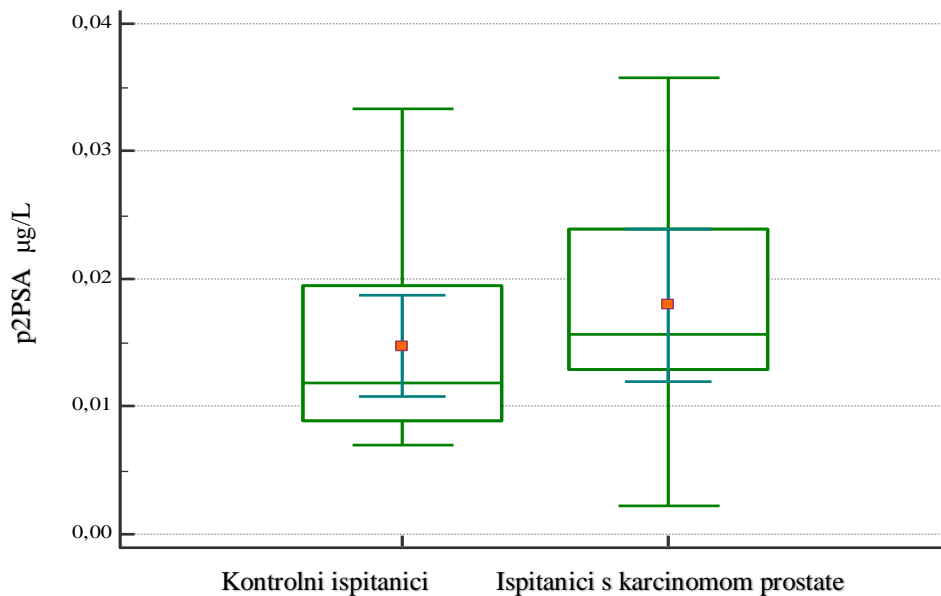
Usporedba vrijednosti svih parametara između ispitivanih skupina prikazana je grafički (Slike 1. – 7.).



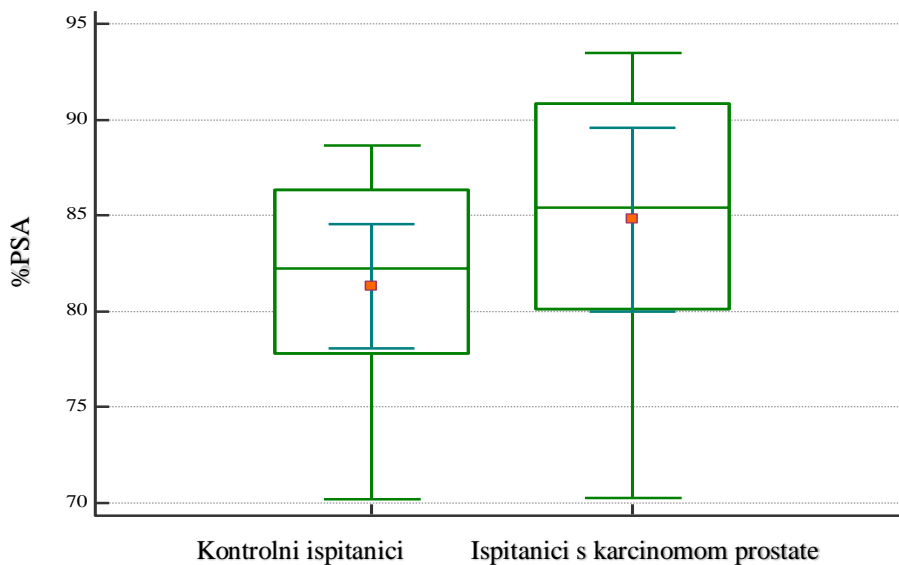
Slika 1. Usporedba vrijednosti koncentracija PSA-a između kontrolnih ispitanika i ispitanika s karcinomom prostate



Slika 2. Usporedba vrijednosti koncentracija fPSA-a između kontrolnih ispitanika i ispitanika s karcinomom prostate

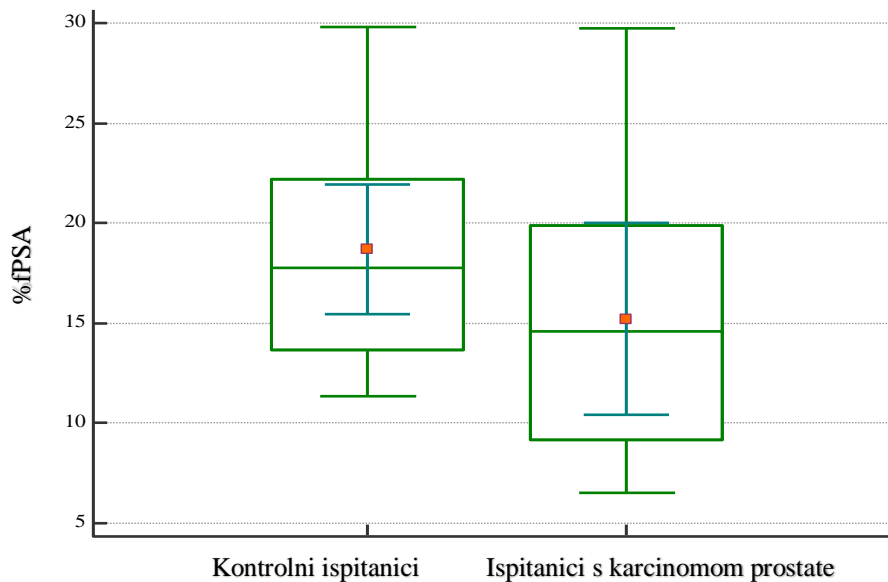


Slika 3: Usporedba vrijednosti koncentracija p2PSA-a između kontrolnih ispitanika i ispitanika s karcinomom prostate

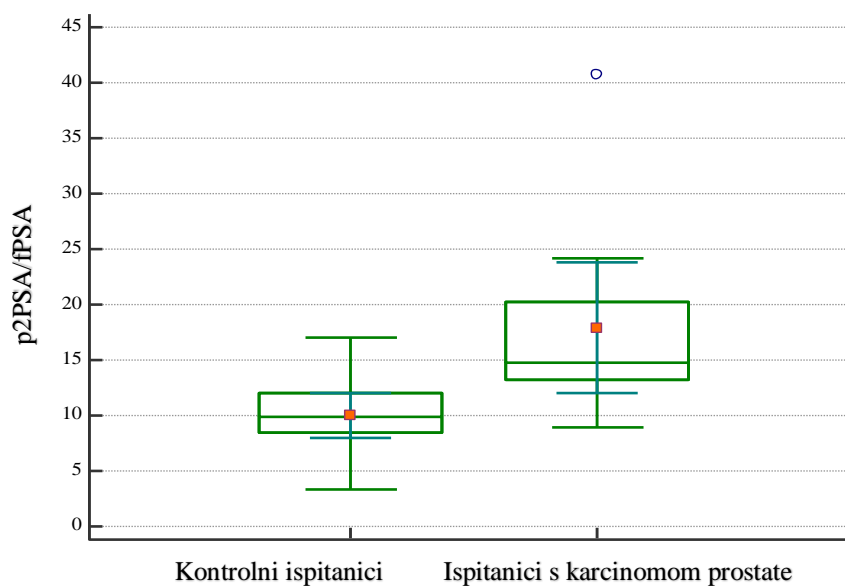


Slika 4: Usporedba vrijednosti koncentracija % PSA-a između kontrolnih ispitanika i ispitanika s karcinomom prostate

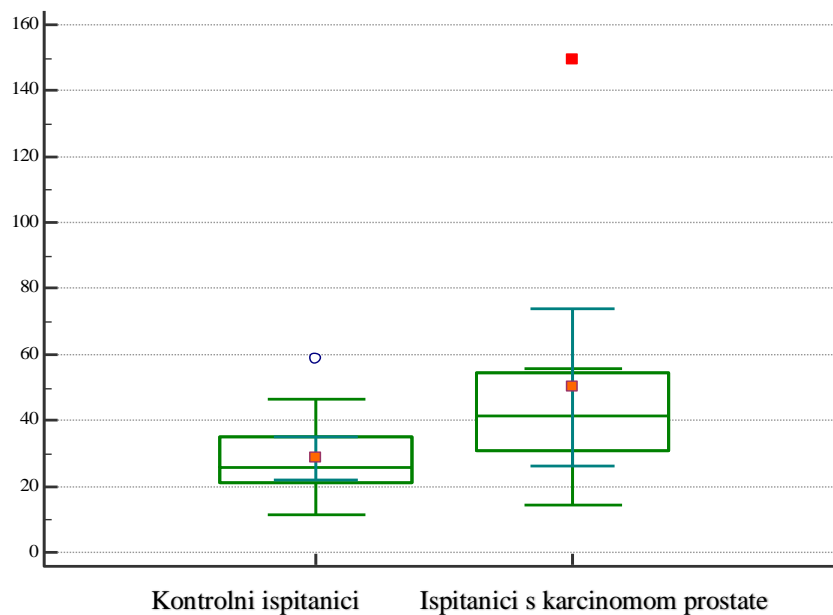




Slika 5: Usporedba vrijednosti koncentracija % fPSA-a između kontrolnih ispitanika i ispitanika s karcinomom prostate



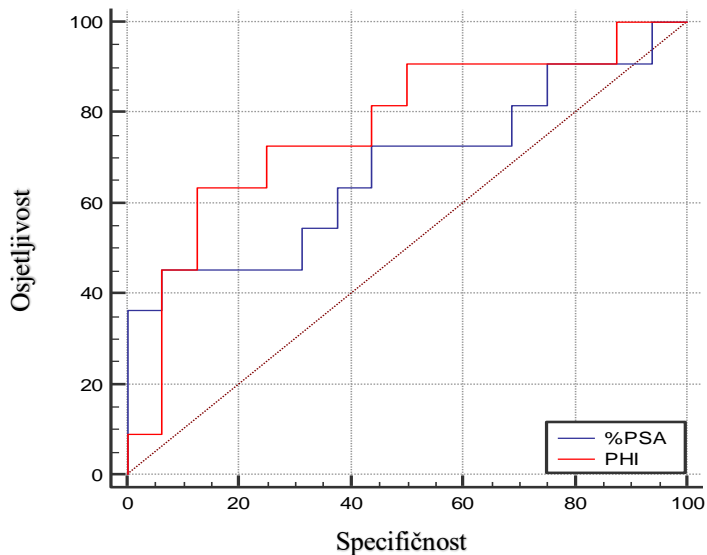
Slika 6: Usporedba vrijednosti koncentracija p2PSA/fPSA između kontrolnih ispitanika i ispitanika s karcinomom prostate



Slika 7: Usporedba vrijednosti koncentracija PHI-a između kontrolnih ispitanika i ispitanika s karcinomom prostate

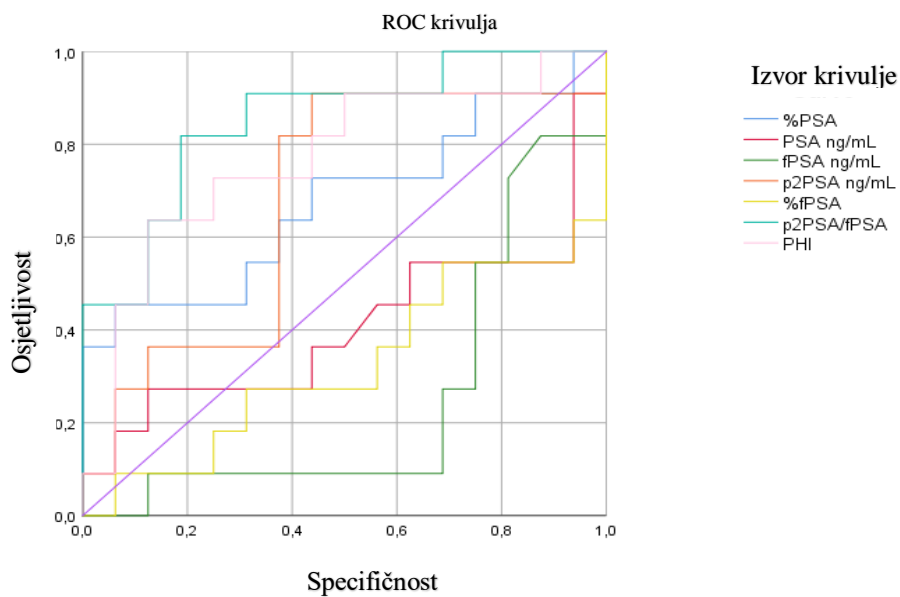
Središnja linija u grafičkom prikazu označuje medijan, četverokut označuje interkvartilni raspon, vodoravne linije ispod četverokuta i iznad četverokuta označavaju najmanju i najveću vrijednost bez stršćih i ekstremnih vrijednosti, kružići označuju stršće vrijednosti, crveni kvadratići označuju ekstremne vrijednosti. Crveni kvadratići unutar četverokuta označuju srednju vrijednost.

Prikaz osjetljivosti i specifičnosti % PSA i PHI zbroja



Slika 8. ROC usporedna analiza % PSA i PHI

Prikaz osjetljivosti i specifičnosti svih ispitivanih parametara



Slika 9. ROC usporedna analiza svih parametara.

Tablica 2. Prikaz osjetljivosti, specifičnosti i AUC vrijednost ispitivanih parametara.

|                   | <b>Osjetljivost %</b> | <b>Specifičnost %</b> | <b>Granična vrijednost</b> | <b>AUC</b> |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|------------|
| <b>PSA µg/L</b>   | 45,5                  | 93,7                  | 5,68                       | 0,406      |
| <b>fPSA µg/L</b>  | 90,9                  | 68,7                  | 1,25                       | 0,253      |
| <b>p2PSA µg/L</b> | 90,9                  | 56,2                  | 0,012                      | 0,676      |
| <b>% PSA</b>      | 45,5                  | 93,7                  | 87,72                      | 0,676      |
| <b>% fPSA</b>     | 45,5                  | 93,7                  | 12,06                      | 0,324      |
| <b>p2PSA/fPSA</b> | 81,8                  | 81,2                  | 13,01                      | 0,852      |
| <b>PHI</b>        | 63,6                  | 87,5                  | 38,15                      | 0,767      |

## 6. RASPRAVA

Loše životne navike (pušenje, alkohol), neadekvatna prehrana i nedovoljna tjelesna aktivnost su faktori koji povećavaju rizik od nastanka karcinoma prostate kao i mnogih drugih bolesti. Težnja pronalasku biokemijskih pokazatelja koji bi omogućili što ranije otkrivanje karcinoma prostate i kvalitetnije praćenje terapijskog učinka od velikog je značaja (20).

U ovom istraživanju je napravljena analiza i usporedba parametara koji su značajni za procjenu rizika karcinoma prostate. Istraživanje je pokazalo da pri graničnoj vrijednosti PHI zbroja od 38,15 PHI ima veću osjetljivost i specifičnost od uobičajeno primjenjivanog % PSA.

Pravovremeno otkrivanje karcinoma prostate iznimno je značajno za uspješnost liječenja. Idealno bi bilo kada bi biljeg razlikovao zdrave od bolesnih te korelirao s proširenošću karcinoma i njegovom agresivnošću. Danas, međutim, još uvijek ne postoji takav biljeg, pa su brojna istraživanja usmjerena na njegov pronalazak. Konačna dijagnoza karcinoma prostate postavlja se na temelju citološkog nalaza biopтата prostate. Postupak biopsije je invazivan i može rezultirati hematurijom, infekcijom urinarnog trakta te u rjeđim slučajevima sepsom. Indikacija za biopsiju uglavnom se temelji na kliničkom pregledu i vrijednostima biokemijskih biljega i njihovih omjera, čijom se uporabom s određenom pouzdanošću mogu izbjeći biopsije kod nekih pacijenata.

Istraživanje koje su proveli Lazzeri i suradnici (17) na 1026 pacijenata pokazalo je da su p2PSA, p2PSA/fPSA i PHI zbroj najbolji prediktori karcinoma prostate jer su vrijednosti tih parametara bile značajno više u osoba s karcinomom prostate. Najveću osjetljivost i specifičnost imali su p2PSA/fPSA i PHI (AUC: 0,733 i 0,733). Nadalje, u istraživanju koje su proveli Park i suradnici (18) postoji statistički značajna razlika u vrijednostima p2PSA-a između kontrolne skupine i pacijenata s karcinomom prostate te su one 57 % više u pacijenata s karcinomom prostate. Takva razlika u koncentracijama p2PSA-a između ispitivanih skupina nije dobivena u našem istraživanju. Međutim, u njihovo je istraživanje bilo uključeno 246 ispitanika te je prisutna razlika između ustroja studije u odnosu na naše istraživanje. Yung-Ting Cheng i suradnici (19) dobili su slične rezultate u istraživanju (n = 121) koje je pokazalo da veću osjetljivost i specifičnost ima p2PSA/fPSA i PHI (AUC: 0,732 i 0,772) u odnosu na ukupni PSA, fPSA i % fPSA (AUC: 0,544, 0,538, 0,593). Da bi se smanjio broj nepotrebnih biopsija, potrebno je naći najbolji prediktor koji bi omogućio razlikovanje pacijenata s karcinomom prostate u odnosu na one s benignim promjenama. Iako su provedena mnoga istraživanja s velikim brojem ispitanika, i dalje ne postoji

biokemijski biljeg koji sa sigurnošću može ukazati na prisutnost, tj. odsutnost karcinoma prostate. Mohan Adhyam i Anish Kumar Gupta (20) navode da mnogi čimbenici poput dobi, rase, indeksa tjelesne mase (viši indeks povezan s nižom vrijednošću PSA), ali i neki lijekovi, utječu na vrijednosti svih tih parametara. Jedan je od poznatijih inhibitor 5-alfa-reduktaze koji utječe na smanjenje serumskih vrijednosti PSA. U istraživanju koje su proveli I. Vuković i suradnici (21) na 129 pacijenata, pokazalo je da p2PSA/fPSA omjer ima obećavajuću prediktivnu vrijednost i pokazuje statistički značajnu razliku između ispitivanih skupina. Također, navode da se dijagnostička osjetljivost povećava kombinacijom vrijednosti p2PSA-a, p2PSA/fPSA i PHI-a.

Ograničenje našeg istraživanja je mali broj ispitanika. Također, nedostaju podatci o indeksu tjelesne mase, terapiji lijekovima, komorbiditetima i životnim navikama koji potencijalno mogu utjecati na rezultate nekih parametara. Moguće je da bi ustroj studije s većim brojem ispitanika te korištenje isključnih čimbenika poput loših životnih navika (pušenje, alkohol) rezultiralo drugačijim vrijednostima ispitivanih parametara.

## 7. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima p2PSA-a između kontrolne skupine i skupine ispitanika s karcinomom prostate.
2. Postoji značajna razlika u vrijednostima PHI zbroja između ispitivanih skupina gdje je vrijednost PHI zbroja znatno veća u pacijenata s karcinomom prostate u odnosu na kontrolnu skupinu.
3. PHI zbroj je imao veću osjetljivost i specifičnost u odnosu na % PSA u razlikovanju pacijenata s karcinomom prostate u odnosu na kontrolne ispitanike.
4. PHI zbroj i p2PSA/fPSA su korisni pokazatelji u razlikovanju ispitanika s benignim promjenama prostate u odnosu na ispitanike s karcinomom prostate.

## 8. SAŽETAK

### Cilj istraživanja

Cilj istraživanja bio je ispitati postoji li značajna razlika u vrijednostima p2PSA-a između ispitanika kontrolne skupine i skupine s karcinomom prostate te je li PHI zbroj osjetljiviji i specifičniji pokazatelj od % PSA u razlikovanju pacijenata s benignim promjenama od pacijenata s karcinomom.

### Ispitanici i metode

U istraživanje je bilo uključeno 27 ispitanika koji su na temelju dijagnoze podijeljeni u dvije skupine: I) 11 ispitanika s karcinomom prostate; II) 16 kontrolnih ispitanika. Koncentracije PSA-a, fPSA-a i p2PSA-a su izmjerene kemiluminiscentnom imunoanalizom na UniCel DxI 600 imunokemijskom analizatoru (Beckman Coulter Inc., Brea, USA). Iz vrijednosti koncentracija PSA-a i fPSA-a računski se izračunao % PSA a iz vrijednosti svih triju parametara izračunao se PHI zbroj. Rezultati su obrađeni statističkim testom MedCalc (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium). Za ispitivanje osjetljivosti i specifičnosti koristila se ROC analiza, a za usporedbu među skupinama Mann – Whitney U test.

### Rezultati

Istraživanje je pokazalo da ne postoji statistički značajna razlika u vrijednostima p2PSA-a između pacijenata s karcinomom prostate i kontrolnih ispitanika. Pri graničnoj vrijednosti od 38,15 PHI zbroj ima veću osjetljivost i specifičnost od uobičajeno primjenjivanog % PSA (AUC = 0,767 vs. AUC = 0,676).

### Zaključak

Rezultati istraživanja pokazali su da je PHI zbroj bolji parametar za procjenu rizika od karcinoma prostate u odnosu na indeks PSA.

**Ključne riječi:** p2PSA, PHI, PSA, % PSA



## 9. SUMMARY

### Diagnostic value of p2PSA determination in detection of prostate cancer

#### Research Objectives

The aim of the study was to investigate whether there is a significant difference in p2PSA values between control subjects and patients with prostate cancer and whether the PHI score is a more sensitive and specific indicator than % PSA for differentiating patients with benign changes from patients with cancer.

#### Patients and Methods

A total of 27 patients, who were classified into two groups according to the diagnosis, were included in the research: I) 11 patients with prostate cancer; II) 16 control subjects. Concentrations of PSA, fPSA and p2PSA were measured by chemiluminescent analysis on UniCel DxI 600 immunoassay analyzer (Beckman Coulter Inc., Brea, USA). The % PSA was calculated from the values of PSA and fPSA concentrations and all three parameters were used to calculate the PHI score. Statistical analysis of the results was done using MedCalc statistical software (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium). ROC analysis was performed to test the sensitivity and specificity whereas the Mann-Whitney test was used for comparing the two groups.

#### Results

The study has not shown a significant difference in p2PSA values between patients with prostate cancer and the control subjects. With a cut-off level of 38,15, the PHI score has a higher sensitivity and specificity than the usually applied %PSA (AUC=0,767 vs AUC=676).

#### Conclusion

The study results have shown that the PHI score is a better parameter for assessing the risk of prostate cancer compared to the PSA index.

**Keywords:** p2PSA, PHI, PSA, %PSA

## 10. LITERATURA

1. Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinol Metab Clin N Am* 40. 2011; 565-575.
2. Juretić A, Marušić A, Ježek D, Šarić N, Bašić-Koretić M, Bišof V. Anatomija, histologija, embriologija i fiziologija prostate. Zagreb: Medicinska naklada; 2010.
3. Cox A, Jefferies M, Persad R. *Blandy's Urology*. 3. izd. Glasgow. John Wiley & Sons; 2019.
4. Hayward SW, Cunha GR. The Prostate development and physiology. *Radiol Clin North Am*. 2000;38(1):1-14.
5. Chughtai B, Forde JC, Thomas DDM i sur. Benign prostatic hyperplasia. *Nat Rev Dis Primers* 2016 May 5;2:16031.
6. Bashir Muhammad Naeem. Epidemiology of Prostate Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(13):5137-41.
7. Pernar CH, Ebot EM, Wilson KM and Mucci LA. The Epidemiology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018 Dec 3;8(12):a030361
8. Šekerija M. Incidencija raka u Hrvatskoj 2017. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Registar za rak Republike Hrvatske. 2020. Bilten br. 42.
9. Ružić B, Knežević M. Karcinom prostate. Zagreb. *Medicus* 2015; 25(1): 45-50.
10. Tao ZQ, Shi AM, Wang KX, Zhang WD. Epidemiology of prostate cancer: current status. *Eur Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015; 19: 805-812.
11. Altarac S, Galić J, Vidas Ž i sur. Etiologija raka prostate. *Acta Med Croatica*, 69 (2015): 459-465.
12. Humphry PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classifications of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Association of Urology. Eur Urol*. 2016 Jul;70(1):106-119.

13. Descotes JL. Diagnosis of prostate cancer. *Asian J Urol.* 2019 Apr; 6(2): 129-136.
14. Jones PM, Hafron J. *Diagnosis and Management of Localized Prostate Cancer. The Nurse Practitioner in Urology.* 2. izd. Switzerland: Springer; 2020.
15. Ferro M, Buonerba C, Terracciano D, Lucarelli G, Cosimato V, Bottero D i sur. Biomarkers in localized prostate cancer. *Future Oncol.* 2016 Feb;12(3): 399-411.
16. Huang JG, Campbell N, Goldenberg SL. PSA and beyond: Biomarkers in prostate cancer. *BCMJ*, vol. 56, No.7, 2014 Sep: 334-341.
17. Lazzeri M, Haese A, Taille A, Redorta JP, McNicholas T, Lughezzani G i sur. Serum isoform [-2]proPSA derivatives significantly improve prediction of prostate cancer at initial biopsy in a total PSA range of 2-10 ng/mL: a multicentric European study. *Eur Urol.* 2013 Jun; 63(6): 986-94.
18. Park H, Lee SW, Song G, Kang TW, Jung JH, Chung HC i sur. Diagnostic Performance of %[-2]proPSA and Prostate Health Index for Prostate Cancer: Prospective, Multi-institutional Study. *J Korean Med Sci.* 2018 Mar 12; 33(11): e94.
19. Cheng YT, Chiang CH, Pu YS, Liu SP, Lu YC, Chang Yk i sur. The application of p2PSA% and prostate health index in prostate cancer detection: A prospective cohort in a Tertiary Medical Center. *Journal of the Formosan Medical Association.* Vol. 118, Issue 1, Part 2, 2019 Jan: 260-267.
20. Adhyam M, Gupta AK. A Review on the Clinical Utility of PSA in Cancer Prostate. *Indian J Surg Oncol.* 2012 Jun; 3(2):120-129.
21. Vukovic I, Djordjevic D, Bojanic N, Babic U, i Soldatovic I. Predictive value of [-2]proPSA (p2PSA) and its derivatives for the prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/mL PSA range. *Int Braz J Urol.* 2017 Jan-Feb; 43(1): 48-56.
22. Fitzmaurice C. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015. *JAMA Oncol.* 2017 Apr 1; 3(4): 524-548.

## 11. ŽIVOTOPIS

Ime i prezime: Darko Vuk

Datum rođenja: 16. listopada 1988.

Mjesto rođenja: Osijek

Državljanstvo: hrvatsko

Narodnost: Hrvat

Adresa: Kardinala A. Stepinca 38b

e-mail: darko\_os@hotmail.com

Telefon: 091 / 762 – 5858

Radno iskustvo:

2018. – danas – Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Kliničkog bolničkog centra Osijek

2017. - 2018. - Medicinsko - biokemijski laboratorij Tomislav Kopačin - stručno osposobljavanje

Naobrazba:

2016. – 2020. - Sveučilišni diplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

2013.-2016. - Sveučilišni preddiplomski studij medicinsko laboratorijske dijagnostike,

Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

(bacc.med.lab.diagn.)

2003. - 2007. - srednja Trgovačka i komercijalna škola “Davor Milas”, Osijek

1995. - 2003. - osnovno obrazovanje

Aktivnosti:

1. Festival znanosti: 16. - 21.04.2018. - izlaganje na temu “Izum cjepiva i uništenje poliovirusa”

2. Završni rad - Određivanje holotranskobalamina u ispitivanju statusa B12 vitamina