



**T.C.  
SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
ANKARA SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA BÖLÜMÜ**

**SERUM HYALÜRONİDAZ DÜZEYLERİNİN  
PROSTAT KANSERİ VE  
BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİSİNDE  
DİYAGNOSTİK ÖNEMİ**

**Dr. Zeynep Adıyaman Koçer**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA/2020**



**T.C.  
SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
ANKARA SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA BÖLÜMÜ**

**SERUM HYALÜRONİDAZ DÜZEYLERİNİN  
PROSTAT KANSERİ VE  
BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİSİNDE  
DİYAGNOSTİK ÖNEMİ**

**Dr. Zeynep Adıyaman Koçer**

**Tez Danışmanı: Uzm. Dr. Elmas Öğüş**

**İdari ve Eğitim Sorumlusu: Doç. Dr. Doğan Yücel**

**(TIPTA UZMANLIK TEZİ)**

**ANKARA/2020**

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	i
KISALTMALAR .....	ii
TABLO LİSTESİ .....	iii
ŞEKİL LİSTESİ .....	iv
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	3
GEREÇ VE YÖNTEM .....	16
BULGULAR .....	30
TARTIŞMA .....	54
SONUÇ VE ÖNERİLER .....	67
KAYNAKLAR .....	69
ÖZGEÇMİŞ .....	76
EKLER .....	78

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca eğitimimde büyük katkıları olan, bilgi ve deneyimlerini samimi bir özveriyle paylaşan, bilimsel ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, tez çalışmam boyunca destek olan ve yol gösteren çok değerli hocam Doç. Dr. Doğan Yücel'e,

Tez çalışma ve yazma aşamalarında destek olan, tez danışmanım ve başasistanımız, Uzm. Dr. Elmas Ögüş'e,

Asistanlık sürecimin başından sonuna kadar, tüm sabrıyla yanımda olan, sonsuz desteğini ve önerilerini hiç esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalanmamı sağlayan, samimiyeti, hiç bitmeyen pozitif enerjisi ve sevgisiyle birlikte her zaman yanımda olan, başasistanımız ve ağabeyimiz, Doç. Dr. Mehmet Şeneş'e,

Hastalarımızın toplanması için yardımcı olan Üroloji Kliniği şefi Prof. Dr. Koray Ağras başta olmak üzere Dr. Veysel Bayburtluoğlu'na,

Tez analizinde yardımını ve bilgisini esirgemeyen, her zaman bize kapısının açık olduğunu bildiğimiz Prof. Dr. Muhittin A. Serdar'a,

Asistanlık süresince ilgi ve yardımlarıyla eğitimime katkıda bulunan tüm değerli uzmanlarımız ve Murat Sağlam başta olmak üzere tüm laboratuvar teknisyenlerine,

Asistanlığımın ilk gününden beri yardımını ve kardeş sevgisini esirgemeyen, zor zamanlarımda desteğini hissedip mutluluğumu birlikte paylaştığım değerli dostum Tuncay Güçlü'ye,

Çalışma sürecinde tanıdığım, asistanlık sürecimin daha güzel geçmesini sağlayan, ihtiyacım olan her an her konuda yardımcı olan, hayatımda önemli yerleri olan arkadaşlarım Tuba Özgün, Serkan Bolat ve Gizem Yılmaz Çalık'a,

Birlikte güzel vakit geçirdiğimiz diğer tüm asistan arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her türlü desteği ile yanımda olan en değerli varlıklarım annem, babam, ağabeyim, yengem ve yeğenlerime,

Tanıştığım ilk günden beri her konuda yanımda olan ve hayatıma anlam katan sevgili eşim Ali Mert Koçer'e,

Sonsuz teşekkürler...

## KISALTMALAR

**BPH:** Benign Prostat Hiperplazisi

**DMA:** Düşük Molekül Ağırlıklı

**ELISA:** Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay

**ERSPC:** European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer

**ESM:** Ekstraselüler Matriks

**FDA:** United States Food and Drug Administration

**HA:** Hyalüronik Asit

**HYAL:** Hyalüronidaz

**HYALa:** Hyalüronidaz aktivitesi

**HYALc:** Hyalüronidaz konsantrasyonu

**KrP:** Kronik Prostatit

**LOB:** Limit of Blank (Kör Sınırı)

**LOD:** Limit of Detection (Tayin Sınırı)

**LOQ:** Limit of Quantification (Ölçüm Sınırı)

**LR:** Likelihood Ratio (Olabilirlik Oranı)

**PCPT:** Prostate Cancer Prevention Trial

**PK:** Prostat Kanseri

**PLCO:** United States Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian

**PRM:** Parmakla Rektal Muayene

**PSA:** Prostat Spesifik Antijeni

**TRUS:** Transrektal Ultrasonografi

**VK:** Varyasyon Katsayısı

**YMA:** Yüksek Molekül Ağırlıklı

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> PSA'ya ait farklı kesim değerlerin duyarlılık ve özgüllükleri .....	5
<b>Tablo 2.</b> Kontrol grubunun demografik özellikleri .....	17
<b>Tablo 3.</b> Hasta gruplarının demografik özellikleri .....	17
<b>Tablo 4.</b> Prostat kanseri ISUP 2014 sınıflandırması .....	18
<b>Tablo 5.</b> Kanser grubunun başlangıçta Gleason Skorlarına göre değerlendirilmesi .....	18
<b>Tablo 6.</b> Serum HYAL aktivitesi çalışma prosedürü .....	22
<b>Tablo 7.</b> Standart çözeltilerin dilüsyonları .....	26
<b>Tablo 8.</b> Serum HYAL konsantrasyonu çalışma prensibi .....	28
<b>Tablo 9.</b> Kontrol grubu ve hasta grupları arasında değişkenlerin karşılaştırılması .....	30
<b>Tablo 10.</b> Kontrol grubu ve hasta gruplarında yaş dağılımları .....	31
<b>Tablo 11.</b> Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYAL aktivitesi .....	32
<b>Tablo 12.</b> Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYAL konsantrasyonu ve aktivitesi ..	33
<b>Tablo 13.</b> Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum Total PSA düzeyleri .....	35
<b>Tablo 14.</b> Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarında serum HYALa, HYALc ve Total PSA düzeyleri .....	39
<b>Tablo 15.</b> Doğrusallık çalışmasında elde edilen HYAL aktivitesi ve seyreltme oranları .....	42
<b>Tablo 16.</b> HYALa kesinlik çalışması ve sonuçları .....	44
<b>Tablo 17.</b> HYALa geri kazanım çalışması .....	46
<b>Tablo 18.</b> HYALa kör okuma sınırı (LOB) belirleme çalışması .....	47
<b>Tablo 19.</b> Serum HYALa (mU/L) ROC analizi verileri (n = 141) .....	51
<b>Tablo 20.</b> Serum HYALc (ng/mL) ROC analizi verileri (n = 66) .....	52
<b>Tablo 21.</b> Serum Total PSA ( $\mu$ g/L) ROC grafiği (n = 141) .....	53

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Katalitik mekanizmalarına göre HYAL türlerinin sınıflandırılması .....	12
Şekil 2. Hyalüronidaz ile hyalüronik asidin oluşturduğu tepkime .....	20
Şekil 3. Standart çözeltilerin hazırlanması .....	26
Şekil 4. Serum HYAL konsantrasyon ölçümü ELISA için kalibrasyon grafiği .....	28
Şekil 5. Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYAL aktivitesi (n=171) .....	32
Şekil 6. Kontrol ve hasta gruplarında serum HYAL konsantrasyonu (n=88) .....	34
Şekil 7. Kontrol ve hasta gruplarında serum HYAL aktivitesi (n=88) .....	34
Şekil 8. Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYAL aktivitesi (n=37) .....	36
Şekil 9. Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYAL konsantrasyonu (n=22) .....	37
Şekil 10. Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYALa (Grade Grup 1: n=23; Grade Grup 5: n=5) .....	37
Şekil 11. Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYALc (Grade Grup 1: n=14; Grade Grup 5: n=5) .....	37
Şekil 12. Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum total PSA seviyeleri (n=36) .....	38
Şekil 13. Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarında serum HYALa (n=92) .....	40
Şekil 14. Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarında serum HYALc (n=40) .....	40
Şekil 15. Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarında serum Total PSA düzeyi (n=92) .....	41
Şekil 16. Doğruluk çalışması sonuçlarının Lineer regresyon grafiği ve denklemi .....	43
Şekil 17. NAG konsantrasyon-absorbans lineer regresyon grafiği ve denklemi .....	43
Şekil 18. HYALa düşük seviye kesinlik çalışması ve 20 günlük dağılımı .....	45
Şekil 19. HYALa orta seviye kesinlik çalışması ve 20 günlük dağılımı .....	45

<b>Şekil 20.</b> HYALa yüksek seviye kesinlik çalışması ve 20 günlük dağılımı .....	45
<b>Şekil 21.</b> Serum HYALa (mU/L) ve Serum Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ ) ROC grafiği (n=141; 33 PK, 108 biyopsi (-) hasta) .....	49
<b>Şekil 22.</b> Serum HYALc (ng/mL) ROC grafiği (n=66; 22 PK, 44 biyopsi (-) hasta) .....	49
<b>Şekil 23.</b> Gri zon için serum HYALa (mU/L) ve Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ ) ROC grafiği (n=92; 11 PK, 81 biyopsi (-) hasta) .....	50
<b>Şekil 24.</b> Gri zon için serum HYALc (ng/mL) ROC grafiği (n=40; 6 PK, 34 biyopsi (-) hasta) .....	50



## ÖZET

### SERUM HYALÜRONİDAZ DÜZEYLERİNİN PROSTAT KANSERİ VE BENİGN PROSTAT HİPERPLAZİSİNDE DİYAGNOSTİK ÖNEMİ

**Amaç:** Çalışmada amacımız serum hyalüronidaz (HYAL) düzeylerinin prostat kanserini (PK) benign durumlardan ayırt edebilme gücünü araştırmak ve PSA ile karşılaştırmak, serum HYAL aktivitesi (HYALa) ölçüm yönteminin klinik ve analitik performansını değerlendirmek, HYAL aktivite ve kütle ölçümlerinin klinik performansını karşılaştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamız yeni tanı alan, yaş dağılımı eşit 37 PK, 72 benign prostat hiperplazisi (BPH) ve 53 kronik prostatit (KrP) hastası ile 49 sağlıklı kontrol hastasını içermektedir. PK dışındaki kanserler, karaciğer hastalığı, romatolojik hastalıklar, kollajen doku hastalığı ve dermatolojik rahatsızlıklar dışlandı. Sonuçta 33 PK, 63 BPH, 45 KrP hastası ve 30 kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. PK'nin prognostik parametrelerle ilişkisi 37 PK hasta verisinden yapıldı. Serum HYALa ölçümünde Morgan-Elson kolorimetrik tayin yöntemi kullanıldı. Serum HYAL konsantrasyonu (HYALc) ELISA yöntemi ile tayin edildi. Klinik performansın değerlendirilmesinde biyopsi sonuçları esas alınarak ROC analizi yapıldı ve optimum kesim değerleri hesaplandı. Bu kesim değerlerine göre HYALa, HYALc ve PSA düzeylerinin duyarlılık ve özgüllükleri belirlendi.

**Bulgular:** PK hastalarında serum HYALa, HYALc ve total PSA değerleri kontrol grubu ve benign hasta gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Tüm gruplarda, serum HYALa ile PSA arasında pozitif yönde zayıf korelasyon ( $r=0.405$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=171$ ); HYALc ile PSA arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı ( $r=0.344$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=88$ ). PSA değeri gri zonda ( $4-10 \mu\text{g/L}$ ) olan PK hastalarında serum HYALa ve HYALc'nin diğer benign hasta gruplarına göre anlamlı yükseklik gösterdiği bulundu ( $p < 0.05$ ). ROC analizinde AUC HYALa, HYALc ve PSA için sırasıyla,  $0.866$  (%95 CI= $0.807-0.926$ );  $0.826$  (%95 CI= $0.719-0.933$ ) ve  $0.813$  (%95 CI= $0.718-0.908$ ) bulundu. Duyarlılık ve özgüllük HYALa için %88, %71; HYALc için %82, %89; PSA için %79 ve %71 bulundu. HYAL aktivitesi ile kütle ölçümü arasında pozitif yönde anlamlı korelasyon saptandı ( $r=0.743$ ;  $p < 0.01$ ).

**Sonuç:** PK hastalarının değerlendirilmesinde HYALa veya HYALc ölçümlerinin PSA, muayene ve TRUS bilgileriyle kombine edilmesi yararlı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Hyalüronidaz, Hyalüronik asit, Prostat kanseri

## ABSTRACT

### DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SERUM HYALURONIDASE LEVELS IN PROSTATE CANCER AND BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

**Aim:** The aim of this study was to investigate the ability of serum hyaluronidase (HYAL) levels to distinguish prostate cancer (PC) from benign conditions.

**Materials and Methods:** Our study included age-matched 37 newly diagnosed PC, 72 benign prostatic hyperplasia (BPH), 53 chronic prostatitis (CrP) patients according to biopsy results and 49 healthy control patients. Other cancers, liver disease, rheumatologic diseases, collagen tissue disease and dermatological disorders that could increase serum HYAL levels were excluded. Finally, 33 PC, 63 BPH, 45 CrP patients and 30 control groups were included in the study. The relationship of PC with prognostic parameters was obtained from 37 PC patient data. Morgan-Elson colorimetric method was used to measure serum HYAL activity (HYALa). Serum HYAL concentration (HYALc) was determined by an ELISA method. ROC analysis was performed based on biopsy results and optimum cut-off values were calculated. Sensitivity and specificity of HYALa, HYALc and PSA levels were determined according to these cut-off values.

**Results:** HYALa, HYALc and total PSA levels were found to be significantly higher in PC patients compared to control and benign patients ( $p < 0.05$ ). In all groups, there was a relatively weak positive correlation between HYALa and PSA ( $r = 0.405$ ,  $p < 0.05$ ); HYALc and PSA ( $r = 0.344$ ,  $p < 0.05$ ). HYALa and HYALc was found to be significantly higher in PC patients with PSA values in gray zone (4-10  $\mu\text{g/L}$ ) compared to other benign groups ( $p < 0.05$ ). In ROC analysis, AUC for HYALa, HYALc and PSA were 0.866 (%95 CI=0.807-0.926); 0.826 (%95 CI=0.719-0.933); 0.813 (%95 CI=0.718-0.908), respectively. Sensitivity and specificity were found for HYALa, HYALc and PSA as 88%, 71%; %82, %89; 79%, 71%, respectively. There was a positive correlation between HYAL activity and mass measurement ( $r = 0.743$ ;  $p < 0.01$ ).

**Conclusion:** Combining HYALa or HYALc with PSA, physical examination and ultrasonography data may be useful in the evaluation of PK patients.

**Key Words:** Hyaluronidase, Hyaluronic Acid, Prostate Cancer

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prostat kanseri (PK) erkeklerde ikinci sıklıkta görülen kanser olup, kansere bağlı ölüm sebepleri arasında beşinci sırada yer almaktadır (1). Türkiye’de yapılan epidemiyolojik çalışmada PK insidansı 100.000’de 35 bulunmuştur (2). PK insidansı 1995 yılından itibaren yaklaşık %1.7 artış gösterirken, mortalite oranı 1994’ten beri her yıl için %4 azalmaya devam etmektedir. Bu durum erken tanı ve tedavinin artışına bağlanmaktadır (3).

Benign prostat hiperplazisi (BPH), yaşlanan erkeklerde alt üriner sistem semptomlarına neden olan patolojik bir durumdur. Hayatı tehdit edici bir hastalık olmamasına karşın, meydana getirdiği semptomlarla yaşam kalitesini düşürdüğü için erkeklerin önemli hastalıklarından birisidir (4).

PK ile BPH’nin takip ve tedavi şekilleri tamamen farklı olduğundan, bu iki hastalığın ayırıcı tanısı önem taşımaktadır. Ayırıcı tanıda parmakla rektal muayene (PRM), serumda prostat spesifik antijen (PSA) ölçümü ve transrektal ultrasonografi (TRUS) kullanılmaktadır (5, 6). PK ile BPH’nin net ayrımında, TRUS eşliğinde prostat biyopsisi ve patolojik değerlendirme bugün için altın standart olarak kabul edilmektedir. PK tanısında 1990’lı yılların başında, prostat biyopsi endikasyonu için PSA’daki 4 µg/L değeri sınır olarak değerlendirilse de halen mutlak tanı koyduracak PSA kesim değeri bulunmamaktadır (7). PSA’nın klinik kullanıma girmesi ile PK teşhisinde ilerlemeler kaydedilmiştir. Hastalara erken dönemde kanser tanısı koymak mümkün hale gelmiştir. Öte yandan PSA’nın PK taramasındaki bu önemli etkisi klinik açıdan önemsiz PK’nin aşırı tedavi almasına yol açmıştır (8).

PSA kansere değil organa özgü bir biyokimyasal belirteçtir. PK, BPH ve prostatit gibi hastalıklarda, ejakülasyon, fiziksel aktivite, sistoskopi ve prostat biyopsisi gibi birçok durumda serumda yüksek PSA düzeylerine rastlanılabilir (9). PSA’nın özgüllüğünün yetersiz olması ve tanı anında klinik açıdan önemli kanseri, önemsiz olandan ayırt edememesi zayıf özelliklerindedir. Bu nedenle hastalara yapılan aşırı prostat biyopsileri hem gereksiz komorbiditeye neden olan hem de sağlık harcamalarını artıran önemli bir sorun haline gelmiştir (10, 11). PSA, radikal prostatektomi sonrası hastaların takibinde iyi bir belirteç olduğu halde tanısal bir belirteç olarak kullanımını optimal olmaktan uzaktır. Bu nedenle, tanı doğruluğunun

iyileştirilmesi ve PK progresyonunun öngörülmesi için yeni ve daha spesifik biyobelirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır (12, 13).

Hyalüronik asit (HA) hücre dışı matriksin ana bileşenidir. HA spesifik hücre yüzey reseptörlerine (CD44, hyaluronektin vb.) bağlanır ve hücre adezyon, migrasyon ve proliferasyonu gibi birçok fizyolojik süreçte rol alır. HA, hidrate edilince genişleyerek tümör hücresinin migrasyonu için boşluklar oluşmasını sağlar. Tümör hücresi hücre yüzey reseptörlerini kullanarak, HA ile zenginleşmiş tümör matriksi içinde göç eder. HA, tümör hücrelerini çevreler ve immün sistemden izole ederek kemorezistan olmalarını sağlar (14). PK dokularında HA seviyelerinin 3-8 kat arttığı gösterilmiştir (15).

Hyaluronidazlar (HYAL) esas olarak HA'yı yıkan bir grup enzimdir. HA'nın parçalanması sonucu anjiyojenik özelliğe sahip küçük fragmanlar ortaya çıkar. Birçok hastalık ve kanserde HYAL, doku, serum ve idrarda farklı düzeylerde tespit edilmiştir (15-17). Tümör dokusu HYAL salgılar ve HYAL seviyesi tümörün invaziv potansiyeli ile korelasyon gösterir (15, 16). PK'de yüksek hyaluronidaz-1 (HYAL-1) aktivitesi rapor edilmiştir (18, 19).

HYAL-1, PK'de salınan majör HYAL'dir, tümör metastazı ve kanser progresyonunda önemli rol oynar. Radikal prostatektomi ve biyopsi örneklerinde HYAL-1 ekspresyonu, biyokimyasal rekürrensizin bağımsız bir prediktör belirteçidir (15, 20-23). HYAL-1; serum, plazma ve idrarda tespit edilebilir (24). Mesane kanserlerinde HYAL-1 mRNA ekspresyonunun ve HYAL-1 aktivitesinin arttığı, PK'de radikal prostatektomi örneklerinde enzim düzeylerinin yükseldiği saptanmıştır (18, 19, 25, 26). PK'de artan enzim düzeylerinin yanı sıra enzim aktivitesinin belirlenmesi de önemli olabilir.

Bu çalışmanın amacı, PK şüphesi ile biyopsi yapılan hastalarda serum HYAL düzeylerinin PK'yi benign durumlardan ayırt edebilme gücünü araştırmak ve PSA ile karşılaştırmaktır. HYAL aktivitesi (HYALa) ölçüm yönteminin doğruluk, kesinlik, duyarlılık, saptama sınırı, geri kazanım gibi analitik performans özellikleri ile receiver operating curve (ROC) analizi, kesim değeri, duyarlılık, özgüllük, olabilirlik oranları (likelihood ratio) gibi klinik performans özelliklerini değerlendirmektir. Ayrıca HYAL aktivite ve kütle ölçümlerinin klinik performansını karşılaştırmaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. PROSTAT BEZİ**

Prostat mesanenin alt bölümünde bulunan fibromüsküler ve glandüler bir organdır. Normal prostat yaklaşık 20 gram ağırlığındadır ve yaklaşık 2,5 cm uzunluğundaki posterior üretrayı içerir.

### **2.2. PROSTAT KANSERİ**

#### **2.2.1. İnsidans, Etiyoloji ve Risk Faktörleri**

PK erkeklerde görülen en önemli sağlık problemlerindendir. Tüm dünyada erkekler arasında ikinci sıklıkta görülen kanserdir ve kansere bağlı ölüm sebepleri arasında beşinci sırada yer almaktadır (1). Ülkemizde yapılan bir epidemiyolojik çalışmada 2008-2009 yılları arası PK insidansı 100.000'de 35 bulunmuştur (2). TC Sağlık Bakanlığı verilerine göre PK, erkeklerde görülen kanserler arasında %13'lük oran ile akciğer kanserinden sonra ikinci görülen kanser olarak bildirilmektedir (27).

Prostatta karsinogeneze katkı sağlayan kalıtsal ve çevresel faktörler vardır ancak şu anda yalnızca yaş, ırk ve aile geçmişi tanımlanmış risk faktörleridir.

#### **2.2.2. Tanı Anında Yaş ve Evre**

PK esas olarak yaşlı erkeklerin hastalığıdır. Yeni PK tanısı konulmuş erkeklerin %75'i 65 yaşın üzerindedir. Tarama çalışmaları sonucunda PK'ye daha erken yaşta tanı konulur hale gelmiştir. PK giderek orta yaş hastalığı olmaya başlamıştır.

PK insidansındaki değişikliklere ek olarak, tanı anındaki PK evresinde de değişiklik olmuştur. PSA'nın uygulamaya girmesinden bugüne, lokal-bölgesel hastalığın insidansı artarken, metastatik hastalığın insidansı azalmıştır (28).

#### **2.2.3. Tanı ve Tarama Yöntemleri**

Günümüzde tanı amaçlı kullanılan ana yöntemler serum PSA düzeyi, PRM, TRUS'dur. Hastalığın kesin tanısı TRUS eşliğinde yapılan iğne biyopsisi örneğinin patolojik incelemesi ile konulur.

PK ciddi ve yaygın olarak görülen, genellikle yavaş seyirli bir hastalık olup tüm tanı ve tedavi işlemlerinin yeterli olması için prelinik fazda hastalığın taranması

gerekmektedir (29). PK için ideal bir tarama testi ‘kansere mevcut’ ya da ‘kansere mevcut değil’ şeklinde sonuçlar verebilmelidir (30). PK’de taramanın mortalite ve yaşam kalitesi üzerine etkisi belirsizliğini korumaktadır.

#### **2.2.4. Prostat Spesifik Antijen**

PSA’yı ilk tarif eden yayın 1960 yılında yayımlanmıştır (31). Amerikan Gıda ve İlaç Birliği (FDA) tarafından 1986 yılında PK’li hastaların tedavi yönetimine yardımcı bir test olarak onay almıştır (31-33). Catalona ve ark. 1991 yılında PSA ölçümünün PK taramasında kullanılmasını ve üst sınırın 4 µg/L olmasını önermişlerdir (34). PSA, 1994 yılında FDA tarafından PK’nin erken tanısında kullanılabilecek bir tarama aracı olarak onay almıştır (31, 33).

PSA, kallikreinler olarak bilinen ailenin üyesi olan bir kimotripsin benzeri serin proteazdır. Kallikrein-3 geni tarafından kodlanan PSA glikoprotein yapıda bir enzimdir. Semeninde likefaksiyonundan sorumludur. PSA’yı klinik açıdan değerli hale getiren seminal sıvıdaki varlığı ve işlevleri değil, serumda çok düşük konsantrasyonlardaki mevcudiyetidir (µg/L). PSA aktif halde prostat asinüslerine salgılanırken çok düşük oranlarda kana da geçer. Seminal sıvıda PSA konsantrasyonu kandakinin bir milyon katıdır.

PSA’nın sistemik dolaşıma geçişi fizyolojik süreçlerin yanı sıra patolojik değişikliklerle ilgili olabilir (35). Hücreler arası bağlantılar ve bazal membranın yarattığı bariyerin bozulduğu noktalar PSA’nın dolaşıma geçtiği çıkış noktaları olarak kabul edilmektedir (36). Bu durum hastalıklarda (PK, BPH, veya prostatit) veya prostat manipülasyonu (masaj, biyopsi veya transüretal rezeksiyon) sonrasında görülebilir. Bu teori PSA’yı artıran tüm fizyolojik, patolojik ve iyatrojenik sebeplerin ortak patofizyolojik açıklaması gibi görünmektedir.

##### **2.2.4.1. PSA Analizi**

PSA tahlili için ölçülebilir ilk alt sınır 0,1 µg/L olarak belirlenmiştir. Ultrasensitif ölçüm tekniklerinin geliştirilmesi ile beraber ölçülebilir alt sınır 0,01 µg/L değerine kadar gerilemiştir (37). Tek molekül sayımına dayanan en yeni teknolojiler ise geleneksel ölçümlerin çok daha altında değerleri saptayabilmektedir (38).

PSA testi kullanılmaya başladığından beri yaklaşık 20 yıl boyunca Hybritech® PSA (Hybritech, San Diego, Kaliforniya) ölçümü altın standart olarak kabul edilmiştir

(39). PSA'nın PK taramasında kullanımının FDA tarafından onaylanmasına referans olan çalışmada Access® Immunoassay System (Beckman Coulter, Fullerton, Kaliforniya) yöntemi kullanılmıştır (40). Bu gelişmeyi takiben PSA ölçümü için birçok farklı ticari ürün geliştirilmiştir.

Yeni çalışmaların etkisiyle PSA sadece PK için kullanılan bir tümör belirteci olmaktan çıkmış; özellikle kadınlardaki meme tümörleri başta olmak üzere diğer tümörler için bir umut ışığı olmuştur. Ancak bu çalışmalardan çıkan sonuçlar, PSA'nın PK için özgüllüğünde azalma ortaya koymaktadır (41).

#### 2.2.4.2. PSA Kesim Değeri

FDA, 1994 yılında PSA'nın PK tanısında kullanımını resmi olarak onaylamıştır. Normal serum PSA düzeyinin üst sınırı olarak 4 µg/L kabul edilmiştir. Bu kesim değeri, PK tanısı için %70-80 duyarlılık ve %60-70 özgüllük gösterir. Bu değerler bir tanı testi için istatistiksel olarak yeterli sayılan oranların (en az %80 duyarlılık ve özgüllük) altındadır.

PSA düzeyinin 4 µg/L eşiğini aşan durumlarda prostat biyopsisi yapılmalıdır. PSA düzeyi 4-10 µg/L arasındaki erkeklerin %25-40'ı PK olup, %60-75'ine de gereksiz biyopsi yapılmaktadır (34, 42).

İlk kesim değerini de ortaya koyan Catalonia ve ekibi 1997 yılında PSA 2.5-4.0 µg/L aralığında halen %22 kanser saptanabileceğini göstermiştir (43). Böylece 2.5 µg/L değeri klinikte yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Ancak Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT) her PSA düzeyinde kanser olasılığının devam ettiğini göstermiştir (44). Tablo 1'de, farklı PSA eşiklerinin duyarlılık ve özgüllükleri gösterilmektedir. PSA eşiğini düşürerek tespit oranını artırma çalışmaları daha yüksek yanlış pozitiflik oranına neden olmaktadır.

**Tablo 1.** PSA'ya ait farklı kesim değerlerin duyarlılık ve özgüllükleri (45).

PSA (µg/L)	1.1	2.1	2.6	3.1	6.1
Duyarlılık (%)	83.4	52.6	40.5	32.2	4.6
Özgüllük (%)	38.9	72.5	81.1	86.7	98.5

### 2.2.4.3. PSA'nın Klinik Kullanımı

PSA günümüzde, BPH takibinde, bireyselleştirilmiş PK taramasında, lokalize PK küratif tedavileri sonrası izlemde, hormonoterapi ve kemoterapiye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılan değerli bir parametredir. BPH takibindeki rolü işaret ettiği kanser riskinin gölgesinde kalmıştır. Küratif tedaviler sonrası klinik progresyonu öngörecekt kesin kesim değeri halen tartışmalı konulardan biridir. PSA ile ilgili süregelen en büyük tartışma toplum tabanlı taramada kullanılıp kullanılmayacağına dairdir.

Aşırı tanı ya da tedaviye ilişkin gittikçe artan olumsuz veriler PSA'nın özgülüğünü artıracak hamleleri gerekli kılmaktadır. PSA'nın performansını artırmak amacıyla birçok PSA parametresi geliştirilmiştir (PSA dansitesi, PSA hızı, serbest PSA oranı, PSA ikilenme zamanı).

PSA tanısal bir test değildir; bir erkeğin PK riskini değerlendirmeye yardımcı olur ve biyopsinin ne zaman yapılmasının uygun olacağını belirlemek için diğer parametrelerle birlikte kullanılmalıdır. Bütün bunlara rağmen PSA, PK için iyi tümör belirteci olmaya devam etmektedir.

### 2.2.4.4. Taramada PSA

Toplumda asemptomatik, sağlıklı bireylerde bir hastalığın varlığının araştırılması tarama olarak adlandırılmaktadır. Amaç halk sağlığı sorunu kabul edilebilecek ölçüde sık görülen hastalıklara erken tanı koymaktır. Bu açıdan bakıldığında zararsız bir sağlık politikası gibi görünse de, taramanın avantaj ve dezavantajları iyi gözetilmelidir.

PSA, keşfinden sonraki dönemde sadece PK tanısı almış hastaların tedaviye verdikleri yanıtı izlemek için kullanıldı. 1991 yılında ise Catalona ve ark. yürüttükleri bir çalışmada serum PSA ölçümünün ultrason veya rektal tuşe bulgularına göre biyopsi kararı verilen grupların ikisinden de daha az kanserli olgu kaçırdığını gösterdi (34). Ayrıca rektal tuşe bulguları ve serum PSA ölçümü kombinasyonunun en düşük hata oranını yakaladığı vurgulandı. Catalona 1994 yılında yaptığı başka bir çalışmada 4 µg/L'nin PK erken tanısı için kesim değeri olarak kabul edilmesi gerektiğini rapor etmiştir (46). Çok daha geniş bir örneklem ile yaptığı bu çalışmanın ardından PSA, FDA tarafından tarama testi olarak kabul edildi (40). Gerçekten de PSA çağında PK mortalitesinde %40'a varan düşüş kaydedilmiş, tanı anında ileri evre hastalık saptanma

oranları %75 gerilemiştir. Fakat öte yandan taramanın getirdiği aşırı tanı ve aşırı tedavi gibi yeni sağlık sorunları doğmuştur.

Toplum bazlı PSA taramasının önündeki en büyük engellerden biri aşırı tanıdır. Bir yandan PSA'dan daha ideal bir tarama testi için çalışmalar sürerken, öte yandan da PSA'nın klinik bakımdan önemli hastalığı saptama gücünü artıracak yenilikler araştırılmaktadır. Sadece bir erkeğin PK'den ölmemesi için yüzlerce erkeğin taranması, biyopsi yapılması ve tedavi alması gerekmektedir. Bu durum aşırı tanının yanında aşırı tedavi epidemisine neden olmaktadır. Günümüzde özellikle bir tarama testi olarak kullanımı konusunda olmak üzere PSA ile ilgili birçok tartışma süre gelmektedir.

2012 yılında United States Preventive Services Task Force (USPSTF) tarafından yayımlanan ve PK taraması ile ilgili davranış paternini büyük oranda değiştiren bildiride güncel çalışmalar ışığında aşırı tanı ve aşırı tedaviden kaçınmak amacıyla PSA'nın PK taramalarında kullanımının sınırlanması önerisi getirilmiştir (47). Öneri 1990'lı yılların başlarında başlatılan iki büyük randomize çalışmanın sonuçları ışığında ortaya konulmuştur. PSA taramasının etkinliğini araştıran bu çalışmalardan European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) adlı çalışmada 2-4 yılda bir yapılan PSA testine göre 3 µg/L üzerindeki değerler biyopsi için endikasyon kabul edilmiştir. Buna göre 11 yıllık takip sonunda PK mortalitesinin tarama yapılan grupta azaldığı rapor edilmiştir (48). Fakat US Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) çalışmasında tarama yapılan grupta mortalitede anlamlı azalma gözlenmemiştir. İkinci çalışmada hastalara her yıl PSA testi uygulanmış ve 4 µg/L PSA düzeyi biyopsi için kriter kabul edilmiştir (49).

Daha az tarama davranışı beraberinde daha az oranlarda prostat biyopsisi uygulamasını getirmiştir. Böylece biyopsilerde daha fazla pozitif sonuç elde edilmekte ve düşük riskli kanser saptanma oranları azalmaktadır. Bu uygulamanın diğer bir sonucu da daha yüksek oranda yüksek riskli hastalık tanısı konulmasıdır. PK pratiğini tanıdan tedaviye bir dalga halinde etkileyen bu davranış değişimi; daha az radikal prostatektomi yapılmasına, prostatektomi patolojisinde daha sık ekstraprostatik tutulum ve daha yüksek Gleason skoru rapor edilmesine yol açmıştır (50).

2012 yılındaki önerinin aşırı tanı ve aşırı tedavinin önüne geçilmesi konusunda başarı sağladığı açıktır. Fakat yeni davranış paterninin etkisi yeterince yüz güldürücü

değildir. Taramadan fayda görmesi beklenen genç hastalar daha az taranırken yaşlı, komorbiditesi olan ve yaşam beklentisi düşük hastalar daha çok taranmıştır. Metastatik hastalık insidansının iki katına çıktığı, fazladan 60.000'e yakın PK'ye bağlı ölüm gerçekleştiği saptanmıştır (50, 51). Bunun üzerine USPSTF 2017 yılında PSA bazlı PK tarama politikaları ile ilgili yeni bir bildiri yayımlamıştır. Bu bildiri de 2012 yılında PSA'nın PK taramalarında kullanımının kısıtlanması yönündeki öneride geri adım atılmıştır. Öneri düzeyi D'den C seviyesine getirilen PSA taramasının her hastanın kendi şartları göz önüne alınarak bireyselleştirilmesi ve PSA testinin olası fayda ve riskleri hasta ile paylaşarak ortak bir karar alınması önerilmiştir (52).

Tarama stratejileri ile ilgili ERSPC çalışmasının yeni verilerine değinmekte fayda vardır. Çalışmanın 13 yıllık takip verileri 2014 yılında yayımlanmıştır. Daha önce 9 ve 11 yıllık takip sonucu yayımlanan verilere göre taramanın PK mortalitesini azalttığı görülürken yeni veriler de bunu desteklemektedir. 162.243 erkeğin dahil edildiği çalışmada şimdiye dek tarama grubunda 7408, kontrol grubunda da 6107 kişiye PK tanısı konulmuştur (53). Bulgulara rağmen ERSPC halen toplum temelli PSA taramasını önermemektedir. Bunun en büyük nedeni çok az sayıda hastaya yarar sağlamak için çok fazla sayıda erkeğe tarama, biyopsi ve tedavi gerekliliğidir.

Diğer belirleyici çalışmanın 15 yıllık takip verileri yakın zamanda yayımlanmıştır. Nispeten daha az gönüllünün dahil edildiği PLCO çalışmasının güncel sonuçları da erken sonuçları ile benzerdir. Buna göre iki grup arasında PK mortalite oranları açısından anlamlı fark yoktur (54).

## **2.3. BENİGN PROSTATİK PATOLOJİLER**

### **2.3.1. Benign Prostat Hiperplazisi**

Prostatın transizyonel zonundaki periüretal alanda stromal ve epitelyal hücrelerin artışıyla karakterize iyi huylu büyümesidir. Yaşlanan erkeklerde alt üriner sistem semptomlarına neden olan progresif bir hastalıktır.

Tüm erkeklerin %40'ının hayatları boyunca BPH'ye yakalanma riski vardır. Otopsi serilerinde 60 yaşındaki erkeklerde %50 oranında BPH görülüyorken, bu oranın 80 yaşındaki erkeklerde %90'a çıktığı görülmüştür (55, 56).

Histopatolojik olarak BPH, prostatın periüretal alanlarında epitelin ve stromal hücre sayısının artmasıyla karakterizedir. Bu hiperplastik sürecin moleküler etiyojisi

tam olarak belli değildir. Hücre sayısında artışın gözlemlenmesi, glandüler ve stromal hücrelerin çoğalması ya da programlanmış hücre ölümünün bozulması sonucu oluşan hücresel birikimin sonucudur.

Etiyolojisi birçok etkene bağlıdır. Günümüzde klinik BPH'nin gelişimi ile ilgili elde edilmiş gerçek etmenler yalnızca yaş ve hormonal durumdur. Androjenler, östrojenler, stromal-epitelyal etkileşimler, büyüme faktörleri ve nörotransmitterler tek başına ya da birlikte hiperplastik sürecin etiolojisinde rol alırlar.

### **2.3.2. Prostatit**

50 yaşın altındaki erkeklerde en sık ürolojik tanı prostatittir. 50 yaş üzerindeki erkeklerde ise BPH ve PK'den sonra üçüncü en sık tanı prostatittir.

Prostat parankimi içerisinde enflamatuvar hücrelerin sayısında artış saptanması histopatolojik prostatit olarak tanımlanmaktadır. Otopsi serilerinde bilinen bir prostat hastalığı olmayan olguların prostat dokusu örneklerinin %44'ünde enflamasyon bulunmuştur (57). Kronik enflamasyon paternleri, prostat hastalığı bulunan veya bulunmayan hastaların prostat dokularında görülebilir. En sık görülen enflamasyon şekli stromada, prostat asinilerinin hemen yakınındaki lenfositik infiltrasyondur.

Etiyolojiden sorumlu tutulan faktörler; mikrobiyolojik ajanlar, prostatik konak savunma değişikliği, disfonksiyonel işeme, intraprostatik duktal reflü, immünolojik değişiklikler, kimyasal ile indüklenmiş enflamasyon, nöral düzenleme bozukluğu, pelvik taban kas anormallikleri, intersitisyel sistit benzeri nedenler ve psikolojik sebeplerdir.

### **2.4. HYALÜRONİK ASİT**

HA parlak ve transparan görüntüsünden dolayı Yunancada cam anlamına gelen "hyalos" kelimesinden türemiştir. Hyalüronan veya hyalüronat olarak da isimlendirilir. Yüksek molekül ağırlıklı (YMA), sülfatsız, lineer, dalsız bir glikozaminoglikandır (58). İlk kez 1934 yılında, Karl Meyer ve John Palmer tarafından sığır gözünün vitröz humorundan izole edilmiştir. Bu maddenin bir amino şeker ve üronik asitten oluştuğu keşfedilmiş ve HA (hyaloid+üronik asit) adı verilmiştir (59). Çeşitli ökaryot yapılarından ve prokaryotlardan izole edilen HA için literatürde, vücutta mevcut olduğu polianyonik formu ifade eden 'hyalüronan' terimi tercih edilir (60).

Hyalüronan glikozaminoglikan ailesi üyesi olan bir makromoleküldür. HA'nın molekül ağırlığı, doku kaynağına bağlı olarak  $10^6$  ile  $10^7$  Da arasında olabilmektedir.  $\beta$ -1,3-N-asetil-glukozamin ve  $\beta$ -1,4-D-glukronik asit molekülleri birbirine glikozidik bağlarla bağlanmıştır (61, 62). Çok uzun bir zincir yapısına sahip olan HA, 2000-25000 kez tekrar edebilen disakkarit birimi ile vücutta oldukça büyük boyutlarda bulunabilir. HA'yı diğer glukozaminoglikanlardan ayıran özelliklerinden biri, glukozaminoglikanlar Golgi cisimciğinde sentezlenirken, HA'nın plazma membranında sentezlenmesidir. Ayrıca HA'nın, sülfatsız yapıda olması ve proteinlere kovalanarak bağlanma özelliği ile de farklılık göstermektedir (63).

HA sentezi hyaluronan sentaz olarak adlandırılan hücre zarı enzimleri tarafından katalize edilir. Vücutta hemen hemen bütün hücreler tarafından sentezlenir. Bunlardan en önemlileri, fibroblastlar, kondrositler, sinoviyal hücreler ve karaciğer hücreleri gibi mezenşimal hücrelerdir (64). HA sentezlendikten sonra hücre zarındaki por benzeri yapılardan ekstraselüler matrikse (ESM)'e salınır (61, 65-67).

Tüm dokuların hücre dışı matriksinde bulunan HA tüm türlerde aynı, basit kimyasal yapıya sahiptir (68). Yapılan çalışmalarda tüm HA'nın yaklaşık olarak yarısının deride,  $\frac{1}{4}$ 'lik kısmının da iskelet ve eklemlerde olduğu, geri kalanının ise kaslar ve iç organlara eşit miktarlarda dağılmış olarak bulunduğu gösterilmiştir. En yüksek HA konsantrasyonu göbek bağı, sinoviyal sıvı, deri ve vitröz cisimciği gibi bağ dokularında bulunmaktadır. Akciğer, böbrek, beyin ve kaslarda da kayda değer miktarlarda bulunurken karaciğerde az oranda bulunmaktadır; en düşük konsantrasyonu ise kan serumundadır. Serum HA seviyesinde patolojik artışlar olabilir. Siroz, romatoid artrit, skleroderma gibi enflamatuvar durumlarda ve çeşitli kanser türlerinde HA sentezinin arttığı bilinmektedir (69-71).

HA'nın yüksek viskoelastik özelliği bulunur. Hacminin 1000 katına kadar su bağlama kapasitesi ile hidrofilik özelliğe sahip olan HA, su bağladıkça jelimsi bir hal alır. Bu özelliği moleküle lubrikasyon özelliği kazandırır (61). Bu özelliğinin yanı sıra HA, dermisin hacmini ve esnekliğini de artırır (60, 61). ESM'nin ve periselüler ortamın yapısal bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur. Vitröz hümörde su bağlayarak yüzey doldurucu özelliği sağlamaktadır (72).

HA hücrelerin korunmasında da etkili olan bir moleküldür (68). Kartilaj gelişiminde, sinoviyal sıvının devamlılığında ve yara iyileşmesinde de önemli rolü

vardır (62). HA dokular arasında molekül transportunu kolaylaştırır, molekül ağırlığı yüksek olan proteinlerin dağılımını ve ozmotik basıncı dengeler (68, 73).

HA'nın en fazla bilinen reseptörleri CD44 ve hyalüronan-media motilite reseptörü (RHAMM)'dır. HA'nın hücre proliferasyonuna katkısını hücre adezyon etkileşimlerine katılan CD44'e bağlanmasıyla gerçekleştirir. Böylece HA anjiyojenez, agregasyon, proliferasyon ve hücre göçünü stimüle eder (72). RHAMM reseptörü büyüme faktörüne karşı hücre sel yanıtı regüle eder ve özellikle hasarlı damar duvarında fibroblast ve düz kas hücrelerinin migrasyonunda görev alır (70, 73).

HA ve fragmanlarının tümör gelişiminde de önemli görevleri vardır. Sağlıklı epitel doku ile tümör gelişiminin görüldüğü epitel doku arasında HA yoğunluğu ve molekül ağırlığı açısından ciddi fark olduğu görülmüştür. Ortamda HYAL enzimlerinin artması molekülün fragmanlarının artması demektir. Bu fragmanların artması tümör gelişimini tetikler ve artmış HA fragmanlarının anjiyojenik etkisi tümör metastazının gerçekleşmesinde rol alır (65).

HA, HYAL olarak bilinen enzimler tarafından parçalanır. HYAL enzim grubunda HYAL1, HYAL2, HYAL3, P1 ve PH20 gibi çeşitli üyeler mevcuttur (72). Farklı molekül ağırlığına sahip HA'lar, her bir enzim tarafından farklı bölgelerden yıkılır. HA, HYAL enzimleri ile düşük molekül ağırlıklı (DMA) oligosakkarit birimlerine parçalanır. Tetrasakkarit seviyesinde parçalanan HA, lizozomda bulunan  $\beta$ -glukuronidaz ve  $\beta$ -N-asetil-glukozaminidaz enzimleri ile monosakkarit birimine ayrılır (61).

Lokal metabolizma ile HA yıkımı, %20-30 deri ve eklemlerde, geri kalanı lenfatik yolla olmaktadır. Kan dolaşımına ulaşan HA'nın yaklaşık %85-90'ı hepatik sinüzoidal hücrelerde katabolizmaya uğrar. Böbreklerde yaklaşık %10 kadarı elimine olur. Yalnızca %1-2 kadarı idrarla birlikte atılır.

## **2.5. HYALÜRONİDAZLAR**

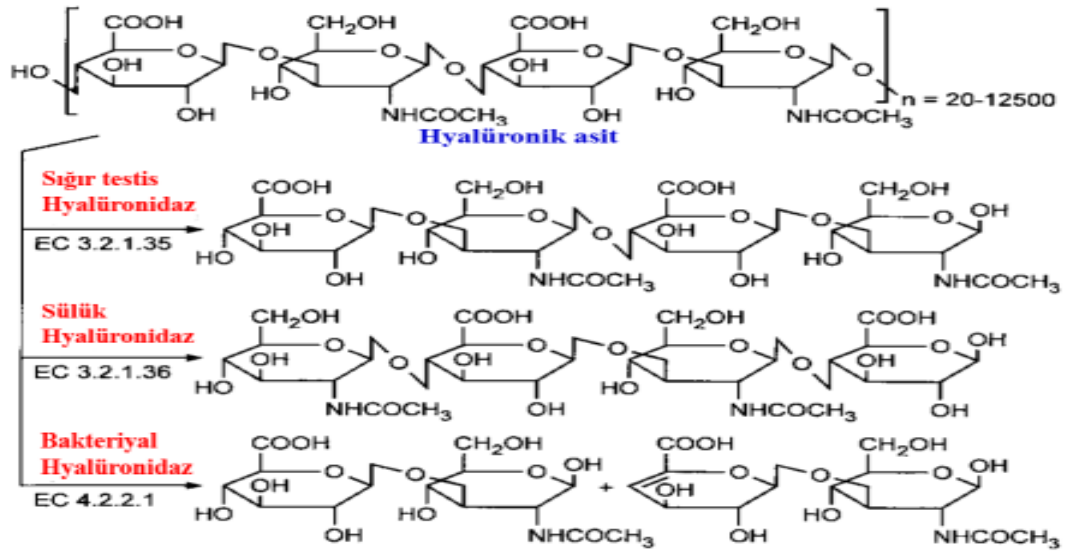
HYAL'ler esas olarak HA'yı yıkan bir grup enzimdir.  $\beta$ -N-asetil-D-glukozaminidik bağları yıkarak endoglikozidaz aktivitesi gösterirler. Küçük bir oranda da kondroitin sülfat ve kondroitini de yıkmaktadırlar. Karl Meyer tarafından 1941 yılında enzime HYAL ismi verilmiştir (74). HYAL'lerin ilk sınıflandırılması Meyer tarafından 1971 yılında yapılmıştır. Bu sınıflandırmada HYAL'lerin substrat özgülüğü ve biyokimyasal analizlerinin yanı sıra bu reaksiyonların ürünleri baz

alınmıştır. Katalitik mekanizmalarına göre HYAL türleri üç ana aileye ayrılır. Memeli HYAL'leri (EC 3.2.1.35); bakteriyal HYAL'ler (EC 4.2.2.1); sülük, diğer parazit ve kabuklu HYAL'leri (EC 3.2.1.36). Meyer'in sınıflandırması enzimler ve tepkime ürünlerinin biyokimyasal analizine dayanmaktadır (75). Moleküler genetik analizi, HYAL'lerin amino asit dizisi homolojisine göre iki ana grup altında ökaryotlar ve prokaryotlar olarak toplanabileceğini göstermiştir.

### Ökaryot hyalüronidazları:

#### Memeli Hyalüronidazları (EC 3.2.1.35):

İnsan genomunda iki farklı bölgede yerleşimli altı HYAL geni bulunmuştur. HYAL-1, -2, -3 genleri kromozom 3p21.3; HYAL-4, HYAL-P1 ve PH 20 (testiküler HYAL'i kodlar) ise kromozom 7q31.3'te yerleşmiştir. HYAL-1 ve HYAL-2 insan dokularındaki HA polimerlerini yıkan majör HYAL'lerdir.



**Şekil 1.** Katalitik mekanizmalarına göre HYAL türlerinin sınıflandırılması Muckensnabel I. et al'den (75).

#### Hyalüronidaz-1 (HYAL-1):

HYAL-1 insan plazmasından ilk izole edilen enzimdir ve memeli idrarında da bulunan bir HYAL'dir. Memeli HYAL'lerinin içinde baskın olan HYAL-1, karaciğer, böbrek, dalak ve kalpte de yüksek miktarda bulunmaktadır. HYAL-1 enzimi lizozomlarda yer alır ve asidik pH'lerde aktiftir (76).

## 2.6. KANSER VE HYALÜRONİDAZLAR

HA'ların insan vücudunda çok yüksek bir turnover'ı vardır. 70 kilogramlık bir insanda ortalama 15 gram HA bulunur. Bu HA'nın günlük 5 gramı yıkılıp tekrar yapılmaktadır. Hızlı turnover içinde yıkılıp tekrar yapılan HA'nın boyutuna spesifik olarak biyolojik fonksiyonları mevcuttur. YMA HA'lar genellikle anti-anjiojenik ve immüsupresif etki gösterirler. HYAL-2 tarafından sindirilmiş küçük molekülü HA'lar; immünostimulatör, anjiojenik, enflamatuvar ve matriks metalloproteinazların transkripsiyonunu arttırıcı etki gösterirler (77). HYAL-1 ise DMA HA partiküllerini hidrolize edip; tetrasakkarit ünitelerini açığa çıkarır. Bu durum anti-apoptotik etkili olup onkogeneze sebep olur (78). Prostat, mesane, meme, kolorektal kanserleri ve beyin tümörlerinde artmış HYAL-1 düzeylerine rastlanmıştır. Özellikle pankreatik adenokanserlerde yüksek HYAL-1 düzeyi düşük sağ kalımı göstermektedir (79-81). PK'de HYAL düzeylerinin incelendiği birçok çalışma vardır. Bu çalışmaların tümü de doku düzeyindedir ve literatürde PK'li hastaların serumlarında HYAL düzeylerinin incelendiği hiçbir çalışma yoktur.

Lokeshwar ve ark.'ları normal prostat dokusu ve BPH dokularına kıyasla, PK'li tümör dokularında 3-10 kat artmış HYALa'yı göstermiştir. PK'de yüksek düzeyde HYAL-1 eksprese eden hücrelerin varlığı, hastalığın malign ve agresif ilerleyeceğine işaret eder (23). Klinik lokalize PK'de incelenen radikal prostatektomi örneklerinde, HYAL-1 düzeylerinin biyokimyasal rekürrensini bağımsız prediktörü olduğu gösterilmiştir (HYAL-1 için duyarlılık %84, özgüllük %80.5) (15, 16, 19, 82). Skarmoutsos ve ark.'ları PK tanısında inceledikleri hastaların idrar örneklerinde HYAL enziminin duyarlılığını %70, özgüllüğünü %55.2 bulmuşlardır (97). HYAL-1 enzimi PK'de, tümör hücrelerinin büyümesini, anjiojenezi, vasküler ve lenfatik invazyonu teşvik eder. Yüksek HYAL düzeyleri, tümör hücrelerinin invaziv ve metastatik özellikleriyle koreledir (18, 20, 22, 83, 84).

## 2.7. HYAL ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

HYALa ölçümleri; biyolojik, fizikokimyasal ve kimyasal yöntemler olarak ayrılabilir (85). Biyolojik yöntemlerde, HYAL'in hayvan cildinde geçirgenliği arttırmasına bağlı olarak spesifik boyaların dokuda yayılma etkisi belirlenir (86).

Fizikokimyasal yöntemlerden biri olarak müsin pıhtı önleme testi, çözeltilerde fibröz pıhtı halinde bulunan HA'nın HYAL ile inkübasyonundan sonra HYAL tarafından yıkımına bağlı olarak pıhtılaşmanın engellenmesi temeline dayanır (87). Bu yöntemler HYALa'nın kantitatif tayini için uygun değildir ve günümüzde kullanılmamaktadır. Fizikokimyasal yöntemlerden bir diğeri viskozimetre, HYALa'nın ölçülmesi ve HA'nın ortalama molekül ağırlığının tahmini için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bazı dezavantajları vardır. Viskozimetrede belirlenen HYALa'nın başlangıçtaki viskoziteye bağlı olması ve yöntemin 1500 disakkarit ünitesinin altındaki HA'ları saptayamaması, viskozimetrenin hassasiyetinin kullanılan HYAL türüne bağlı olarak değişmesi dezavantajlarıdır. Bir diğeri fizikokimyasal analiz grubunu oluşturan türbidimetrik yöntemler, HYALa'nın ve enzim inhibisyonunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu yöntemde serumda enzimatik olarak yıkılamayan materyalin çökeltisi ve buna bağlı oluşan bulanıklık ölçülerek HYALa hesaplanır (88).

Kimyasal yöntemlerde karbonhidrat polimerlerinin HYALa sonucu açığa çıkan indirgeyici uçları, şekerlerin indirgenmesine yönelik geleneksel kimyasal analizlerle belirlenir (89). İndirgeyici uçta N-asetil-D-glukozamin parçasının saptanması da mümkündür. Kolorimetrik HYALa'nın serum ve plazmada ölçümü ilk kez 1933'te Morgan ve Elson tarafından yapılmıştır. Asidik bir p-dimetilaminobenzaldehit çözeltisi (Ehrlich reaktifi) ile kolorimetrik olarak glukozamin ve kondrosaminin (galaktosamin) miktar tayinini yapmışlardır (90). Yazarlar bir yıl sonra yöntemi modifiye etmişlerdir (91). Yöntem "Morgan-Elson reaksiyonu" veya "Morgan-Elson testi" olarak adlandırılmaktadır. Reissig ve ark. 1955'te Morgan-Elson kolorimetrik tayin yöntemini, pH, substrat konsantrasyonu ve kromojen konsantrasyonu değişiklikleriyle optimize edilmiştir (92). Günümüzde temel olarak bu versiyon kullanılmaktadır. Serum veya plazmada HYALa'yı belirlemek amacıyla sonrasında bu versiyonda bazı değişiklikler yapılmıştır. Bu değişiklikler, proteinlerin numunelerde neden olduğu bulanıklığı gidermeye

yöneliktir. Gacesa ve ark. proteinlerin numunede neden olduğu bulanıklığı gidermeye yönelik son basamakta santrifüj öncesi etil asetat ekleyerek proteinlerin çöktürülmesini sağlamış ve santrifüj sonrası berrak protein içermeyen bir supernatan elde etmişlerdir (93). Başka bir çalışmada reaksiyon karışımı asidik tampon içinde 3 dakika kaynar su banyosunda tutulmuş ve daha berrak bir supernatan elde edilmiştir (94). Takahashi ve ark. daha yüksek santrifüj gücü kullanarak (18.000 g) veya daha hassas olan alternatif floresan ölçümleriyle çalışmalar yapmıştır (95, 96).

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile HYAL konsantrasyonu (HYALc) immünokimyasal olarak tayin edilebilmektedir. ELISA yöntemi ile idrarda PK ile HYALc ilişkisini araştıran bir çalışma bulunmaktadır (97). Test prensibi olarak sandviç ve yarışmalı yöntem kullanan çok sayıda ticari ELISA kitleri mevcuttur. Farklı ticari kitlerde farklı monoklonal antikorlar (örneğin insan HYAL'e karşı antikor, insan HYAL-1'e karşı antikor veya insan HYAL PH-20 (SPAM1)'e karşı antikor gibi) kullanılabilir. Bu durumda ölçülen HYAL tipi farklı olacaktır. Daha özgül yöntemlerdir, HYAL ve analogları arasında önemli bir çapraz reaktivite veya interferans gözlenmez. Ticari kitler arasında duyarlılık, ölçüm aralıkları ve presizyon açısından farklılıklar bulunmaktadır.

Stern ve ark. tarafından geliştirilen "ELISA-like" yöntem ile PK için dokuda ve mesane kanseri için idrarda HYALa'nın incelendiği çalışmalar vardır (15, 23, 98, 99). Bu yöntemde önceden HA substratı ile kaplanmış reaksiyon plağına, HYALc bilinen standartlar ve örnekler eklenir. HA-HYAL enzim reaksiyonu gerçekleşmesi için inkübasyona bırakılır. Daha sonra ortama biyotinlenmiş HA-bağlayıcı protein eklenir. Bu protein keratan sülfat içermektedir. İkinci bir anti-keratan sülfat monoklonal antikoru ile ölçüm duyarlılığı artırılır. Biyotinize kompleks, avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi ile o-phenylenediamine substratı kullanılarak elde edilen sinyaller ölçülür. Standart eğrilerden oluşturulan grafikte enzim aktivitesi belirlenir. Prensip olarak ortamdaki yıkılmamış HA substratı ölçülmektedir. Bu yöntemin duyarlılık karşılaştırılması Rensing metodu ile yapılmış ve yöntem 1000 kat daha duyarlı bulunmuştur (100).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARI

Çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Biyokimya Bölümü'nde yapıldı ve Üroloji Kliniği işbirliğiyle yürütüldü. Çalışmamızın protokolü Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu (Karar No: 23; ve 01.11.2017) (Bkz. EK 1), Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı (Karar No: 2018-10/1; ve 11.01.2018) (Bkz. EK 2) ve Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu (Karar No: 2462/2019; ve 21.02.2019) (Bkz. EK 3) tarafından onaylandı. Tüm hastalara ve kontrol bireylerine çalışma hakkında bildirim yapıldı, tüm katılımcıların sözlü ve yazılı onayları alındı (Bkz. EK 4).

Çalışmanın hasta grubu, Eylül 2018-Temmuz 2019 tarihleri arasında idrarda kanama olması, idrar yaparken yanma ve ağrı, kasıklarda ağrı, sık idrar yapma veya alt üriner sistem şikayetleriyle Üroloji Kliniği'ne başvuran ve ileri inceleme olarak yapılan prostat biyopsisi sonucuna göre BPH, Kronik Prostatit (KrP) ve PK tanısı konulan kişilerden seçildi. Çalışmaya yeni tanı almış olan 72 BPH, 53 KrP ve 37 PK hastası dahil edildi. Karşılaştırma grubuna ise, tamamen sağlıklı olan 30 birey dahil edildi.

PK dışında başka kanseri olan ve serum HYAL düzeyi yüksek olabilecek karaciğer hastalığı, romatolojik hastalıklar, transplant, kollajen doku hastalığı, dermatolojik rahatsızlığı olanlar hasta ve kontrol grubuna dahil edilmedi. HYALa ölçümü için sonuçta 63 BPH, 45 KrP, 33 PK hastası ve 30 kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. HYALc ölçümü için her gruptan 22 hasta çalışmaya dahil edildi.

Mevcut 141 hastanın 56'sında serum HYAL düzeyini yükseltme olasılığı olan diabetes mellitus (DM), hipertansiyon (HT) ve/veya koroner arter hastalığı (KAH) bulunmaktaydı. PK hasta sayısı azalacağı için başlangıçta bu üç hastalık dışlandı. Kontrol grubunda ise bu üç hastalık dışlandı. Çalışmanın sonunda kontrol ve hasta grupları arasında spektrum bias'ını önlemek için bu üç hastalık da dışlandı. Dışlama sonucunda 46 BPH, 20 KrP ve 19 PK hastası kaldı.

18 yaş altı ve 80 yaş üstü olan hastalar ile hemolizli, lipemik ve ikterik numuneler çalışmaya dahil edilmedi. Çalışmaya dahil edilen 141 hasta ve 30 kontrol grubunun demografik özellikleri benzerdi (Tablo 2 ve 3).

PK'de Gleason skorlama sistemi, 1966 yılında tanımlanmış olup tümörün yapısal paternine dayalı bir derecelendirme sistemidir. 2014 yılında International Society of Urological Pathology (ISUP) konferansında modifiye edilmiş ve yeni bir sınıflama sistemi oluşturulmuştur (Tablo 4). 37 PK hastası bu yeni sınıflandırma sistemine göre Grade Grup 1, 2, 3, 4 ve 5 olarak gruplandırıldı (Tablo 5).

**Tablo 2.** Kontrol grubunun demografik özellikleri

KONTROL GRUBU	(n=30)
Yaş, yıl; M±IQR	64 ± 16

M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik

**Tablo 3.** Hasta gruplarının demografik özellikleri

	BPH	KrP	PK
Hasta (n)	(n = 63)	(n = 45)	(n = 33)
Yaş, yıl; M±IQR	62 ± 9	64 ± 13	66 ± 13
DM, n (%)	11 (17.4)	10 (22.2)	6 (18.1)
HT, n (%)	11 (17.4)	23 (51.1)	9 (27.2)
KAH, n (%)	2 (3.1)	10 (22.2)	5 (15.1)
Astım, n (%)	3 (4.7)	2 (4.4)	2 (6.0)
KOAH, n (%)	9 (14.2)	5 (11.1)	4 (12.1)
Hiperlipidemi, n (%)	6 (9.5)	7 (15.5)	3 (9.0)
Anemi, n (%)	5 (7.9)	4 (8.8)	4 (12.1)
Ailede kanser öyküsü, n (%)	0	1 (2.2)	2 (6.0)

n=hasta sayısı, %=hasta yüzdeleri

**Tablo 4.** Prostat kanseri ISUP 2014 sınıflandırması

Gleason Skoru	ISUP Derecesi
6 (3+3)	Grade Grup 1
7 (3+4)	Grade Grup 2
7 (4+3)	Grade Grup 3
8 (4+4 veya 3+5 veya 5+3)	Grade Grup 4
9-10 (4+5 veya 5+4 veya 5+5)	Grade Grup 5

**Tablo 5.** Kanser grubunun başlangıçta Gleason Skorlarına göre değerlendirilmesi

ISUP Derecesi	Grade Grup 1	Grade Grup 2	Grade Grup 3	Grade Grup 4	Grade Grup 5
PK (n), HYALa	23	5	2	2	5
PK (n), HYALc	14	yok	1	2	5

n=hasta sayısı

### 3.2. NUMUNELERİN ALINMASI VE HAZIRLANMASI

Kan numuneleri (serum) hasta ve kontrol grubunda 10-12 saat açlığı takiben serum için jel ayırıcı 16×100 mm'lik Vacutainer SST tüplerine (Becton Dickinson) alındı. Kan örneklerinin alınması biyopsi işleminden hemen önce gerçekleştirildi. Hasta ve kontrol grubundan alınan kan numuneleri 30 dakika içerisinde 1300 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra glikoz, üre, kreatinin, total protein, albümin, ALT, AST, sodyum, potasyum, kalsiyum, Total PSA, CRP ve hemogram testleri çalışılıp, geri kalan serum numuneleri HYALa ve HYALc ölçümü için -80 °C'de saklandı.

### 3.3. KULLANILAN CİHAZLAR

- Total PSA testi, Roche Cobas 6000 e601 analizöründe immünokimyasal olarak elektrokemilüminesan yöntemle (ECLIA) çalışıldı. Sandviç prensibinin kullanıldığı bu yöntem, Stanford Referans Standardı/WHO 96/670'e göre standardize edilmiştir.
- Rutin biyokimya testleri Roche Diagnostics-Cobas 8000 c702 analizöründe fotometrik yöntemlerle çalışıldı.

- Hemogram testleri Sysmex XN-3000 analizöründe çalışıldı.
- Tüm bu testlerde üretici firma kitleri kullanıldı. Düzenli kalite kontrol işlemleri yapıldı.
- HYALa ölçümü için CL-770 Shimadzu Spektrofotometre kullanıldı.
- HYALc ölçümünde; yıkama basamağı için ELx50 Bio-Tek, ölçüm için ELx800 kullanıldı.

### 3.4. KULLANILAN KİMYASALLAR

HYALa ölçümü için kullanılan kimyasal listesi aşağıdaki gibidir.

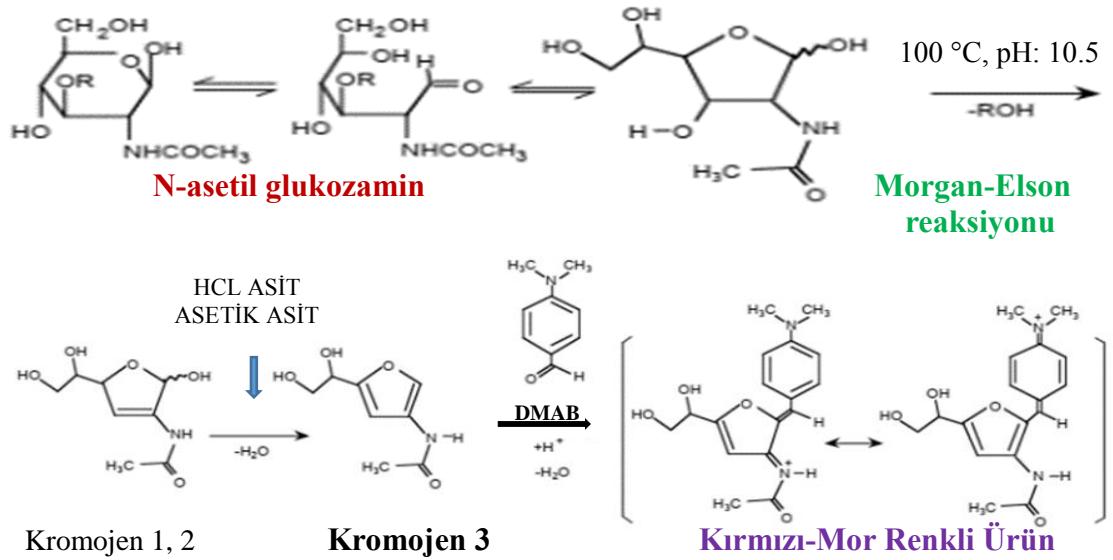
- D-Sakkarik asit 1,4-lakton (Sigma Aldrich, Kod: S0375, 2 g)
- %99 N-Asetil-D-glukozamin  $\geq$ %99 (Sigma Aldrich, Kod: A8625, 5 g)
- Hyalüronik asit sodyum tuzu *F. streptococcus equi sp.* (Sigma Aldrich, Kod: H9390, 1 g)
- Potasyum tetraborat tetrahidrat (Sigma Aldrich, Kod: P5754, 500 g)
- DMAB (dimetil amino benzaldehid) (Merck Schuchardt, 250 g)
- Formik asit (Sigma Aldrich, Kod: F0507, 1000 mL)
- Asetik asit
- Konsantre hidroklorik asit (10 N)
- Sodyum klorür

HYALc düzeylerinin belirlenmesinde sandviç ELISA yöntemini kullanan ticari ‘‘Hase ELISA Kit’’ kullanıldı (*Cloud-Clone Corp. Enzyme-linked immunosorbent assay for Hyaluronidase (HAase), Alkit, Kod: SEB21Hu, 96 Tests*).

### 3.5. HYALÜRONİDAZ AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜ

Takahashi ve ark. 2003 yılında Reissig yöntemini optimize etmişlerdir. Serumdaki  $\beta$ -D-glukuronidazlar HA ile reaksiyona girerek terminal glukuronik asitleri açığa çıkarır. Daha sonra yine serumdaki N-asetil- $\beta$ -D-hekzoaminidazlar bu glukuronik asitler ile reaksiyona girerek, Reissig kolorimetrik yöntemiyle ölçülen N-asetil-glukozaminlerin (NAG) artışına neden olur (95). Takahashi ve ark. kolorimetrik HYALa ölçümünde, serumda  $\beta$ -D-glukuronidaz interferansını önlemek için yonteme sakkarolakton ( $\beta$ -D-glukuronidaz inhibitörü) eklemişlerdir. Çalışmamızda temel olarak, Takahashi ve ark.’nın optimize ettiği yöntem kullanıldı.

Prencip: Substrat olarak HA kullanıldı. Substrat çözeltisi numunedeki HİYAL ile 37 °C’de 15 dakika inkübe edildi. Enzim reaksiyonunu durdurmak için 5 dakika boyunca kaynar su banyosunda ısıtıldı. Reaksiyon ortamı soğuk su banyosu ile oda sıcaklığına getirildi ve üzerine alkali ortamda tetraborat ayırıcı eklendi. Tekrar kaynar su banyosunda 3 dakika daha tutularak Morgan-Elson renk reaksiyonuna göre kromojen 1 ve 2 konfigürasyonunun oluşması sağlandı. Oda sıcaklığına getirildikten sonra, asidik ortamda kromojen 1 ve 2 konfigürasyonu, kromojen 3 konfigürasyonuna dönerek DMAB ayırıcı ile tepkimeye girdi ve 20 dakika boyunca 37 °C’de inkübe edildi. 10 dakika boyunca 4 °C’de 1500 g’de bulanıklığı gidermek amacıyla santrifüj edildikten sonra, köre (blank) karşı supernatanın 585 nm’deki absorbansı ölçüldü. Körün hazırlanmasında kullanılan bütün reaktifler ve inkübasyon süreleri aynı şekilde gerçekleştirildi. Reaksiyon başlatılmadan önce 0. dk’da substrat çözeltisine numune yerine, numune ile aynı miktarda deiyonize su eklenerek kör hazırlandı. HİYAL ile HA’nın 37 °C’de oluşturduğu renk Şekil 2’de gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Hyalüronidaz ile hyalüronik asidin oluşturduğu tepkime – Takahashi ve ark.’dan (95).

### 3.5.1. Ayıraçlar, Substrat ve Standartların Hazırlanması

#### 0.1 M tampon içinde 1.5 mg/mL HA içeren 0.1 M NaCl ve 1.5 mM D-sakkarik asit 1,4-lakton pH: 3.9 substrat tamponunun hazırlanışı:

150 mg HA sodyum tuzu *F. streptococcus equi* sp, 584.4 mg NaCl (MA: 58.44 g/mol), 31.5 mg D-sakkarik asit 1,4-lakton (MA: 210 g/mol) tartıldı. pH 3.9'a 0.1 M formik asit ile ayarlandı. Deiyonize su ilavesiyle son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

#### 0.8 M Tetraborat çözeltisi pH: 10.5 hazırlanışı:

12.22 g potasyum tetraborat tetrahidrat (MA: 305.5 g/mol) tartıldı ve 50 mL deiyonize suya tamamlandı. Ek bir işlem yapmadan pH yaklaşık 10.5 geldi.

#### DMAB ayırıcının hazırlanışı:

Stok DMAB çözeltisi hazırlamak için 10 g DMAB tartıldı ve 12,5 mL'si konsantre (10 N) hidroklorik asit ve 87.5 mL'si asetik asit olan 100 mL çözeltide çözüldü. Stok DMAB çözeltisi 1/9 oranında asetik asit ile seyreltilerek, her çalışmadan önce taze DMAB çözeltisi hazırlandı. Stok DMAB çözeltisi 2 °C'de 1 ay stabildir.

#### Standart hazırlanışı:

25 mg N-Asetil-D-glukozamin 25 mL deiyonize suda çözüldü ve 1000 mg/L konsantrasyonda bir ön standart hazırlandı. Bu ön standarttan seri dilüsyonlar ile 500, 200, 100, 50 mg/L N-Asetil-D-glukozamin içeren standartlar hazırlandı. Sıfır standardı olarak sadece deiyonize su kullanıldı.

### 3.5.2. Hyalüronidazın Spektrofotometrik Ölçümü

- Dondurulan serum numuneleri oda sıcaklığına getirildi ve vorteks karıştırıcı ile karıştırıldı.
- 50 µL'lik hasta serumu üzerine 250 µL substrat tampon eklendi ve karıştırıldı. 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi. Enzim reaksiyonunu durdurmak için 5 dakika boyunca kaynar su banyosunda tutuldu (95 – 100 °C).
- Örnekler soğuk su ile soğutularak oda sıcaklığına getirildi. Ardından alkali ortamda tetraborat ayırıcı ilave edildi ve karıştırıldı. Tekrar kaynar su banyosunda 3 dakika daha tutularak kromojen 1 ve 2 konfigürasyonunun oluşması sağlandı.

- Örnekler soğuk su ile soğutularak oda sıcaklığına getirildikten sonra asit çözeltisi içinde DMAB ayıracı eklendi ve karıştırıldı. 37 °C’de 20 dakika inkübe edildi.
- Bulanıklığı gidermek amacıyla 10 dakika boyunca 4 °C’de 1500 g’de santrifüj edildikten sonra, supernatanın 585 nm’deki absorbansı ayıraç körüne karşı ölçüldü.
- Ölçülen standart absorbansı kullanılarak HYALa hesaplandı.

Serum HYALa çalışma prosedürü Tablo 6’da özet olarak gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Serum HYAL aktivitesinin çalışma prosedürü

	Numune (µL)	Kör (µL)	Standart (µL)
Numune (µL)	50	-	-
Standart (µL)	-	-	50
Deiyonize su (µL)	-	50	-
Substrat çözelti	250	250	250
İnkübasyon		37 °C, 15 dk	
Su banyosu		95 – 100 °C, 5 dk	
Tetraborat ayıracı	100	100	100
Su banyosu		95 – 100 °C, 3 dk	
Dimetilamino benzaldehit ayıracı	1500	1500	1500
İnkübasyon		37 °C, 20 dk	
1500 g’de santrifügasyon		4 °C, 10 dk	
585 nm’de köre karşı okuma	+	+	+

### **Hesaplama:**

$$\text{HYAL aktivitesi U/L } (\mu\text{mol/dk/L}) = (\Delta A_{585}/\text{dk} \times 10^6 \times V_T) / (\epsilon \times d \times V_S)$$

10<sup>6</sup>: mol/L'den  $\mu\text{mol/L}$ 'ye dönüştürme faktörü

$\epsilon$ : NAG'nin 585 nm'deki molar absorbtivite katsayısı; 20 598 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

d: ışık yolu (cm)

V<sub>T</sub>: toplam hacim

V<sub>S</sub>: numune hacmi

Verilen değerler denkleme yerleştirilerek

$$\text{HYAL aktivitesi U/L } (\mu\text{mol/dk/L}) = (\Delta A_{585}/\text{dk} \times 10^6 \times 300) / (20\ 598 \times 1 \times 50)$$

$$\text{HYAL aktivitesi U/L } (\mu\text{mol/dk/L}) = \Delta A \times 19.41$$

Sonuçlar U/L olarak hesaplandı. Bir enzim ünitesi 37 °C'de 1  $\mu\text{mol}$  substratı (NAG) 1 dk'da ürüne dönüştüren enzim aktivitesi olarak tanımlandı.

### **3.5.3. METOT PERFORMANSI ÇALIŞMALARI**

#### **Doğrusallık Çalışması**

Doğrusallık çalışması için yüksek HYAL içeren serum havuzu örneği oluşturuldu. Yüksek serum havuzu örneği ve bundan elde edilen seri dilüsyonlu örnekler (1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) kullanıldı. Ölçümler çift çalışıldı. Sonuçlar lineer regresyon grafiği ve formülü ile verildi.

#### **Kesinlik Çalışması**

Düşük, orta ve yüksek düzeyde analit içeren serum havuzları oluşturularak HYALa ölçüm yönteminin kesinlik (presizyon) çalışması yapıldı. Serum havuzları 80 eş numuneye ayrıldı ve -80 °C'de saklandı. Kesinlik çalışması düşük, orta ve yüksek düzeyde HYALa serum havuzları her gün sabah 1 çift numune ve akşam 1 çift numune çözülerek günde iki kez çalışıldı. Her çalışma çift yapıldı. Bu işlem art arda yirmi gün boyunca tekrarlandı. Tüm sonuçların ortalama, standart sapma ve % varyasyon katsayıları (%CV) hesaplandı.

### **Geri Kazanım Çalışması**

Düşük ve yüksek düzeyde HYAL içeren iki ayrı serum havuzu HYAL geri kazanım çalışması için kullanıldı. Düşük ve yüksek havuzların HYALa sırasıyla, 893 mU/L ve 12054 mU/L bulundu. Havuzlar 3Y:1D, 2Y:1D, 1Y:1D, 1Y:2D ve 1Y:3D oranında karıştırılarak aynı anda çift olarak çalışıldı ve % geri kazanım (recovery) hesaplandı.  $\%R = \frac{\text{ölçülen analit konsantrasyonu}}{\text{beklenen analit konsantrasyonu}} * 100$  formülü hesaplamada kullanıldı.

### **Saptama Sınırları (Limit of Blank, LOB; Limit of Detection, LOD; Limit of Quantification LOQ)**

20 kez çalışılan kör numune sonuçlarının absorbandsından elde edilen ortalama (xkör) ve standart sapmalar (skör) kullanılarak LOB, LOD, LOQ değerleri hesaplandı. Kullanılan formüller aşağıdaki gibidir:

$$\text{LOB} = x_{\text{kör}} + 1.645 * s_{\text{kör}}$$

$$\text{LOD} = x_{\text{kör}} + 3.3 * s_{\text{kör}}$$

$$\text{LOQ} = x_{\text{kör}} + 10 * s_{\text{kör}}$$

### **Serum HYAL Aktivitesinin Receiver Operating Curve (ROC) Analizi, Kesim Değeri, Duyarlılık, Özgüllük ve Olabilirlik Oranları (Likelihood Ratio)**

Klinik performansın değerlendirilmesinde biyopsi sonuçları esas alınarak ROC analizi yapıldı. Youden indeksi ((spesifite+sensitivite)-1) ile ROC eğrilerinin koordinatlarından en uygun kesim değerleri hesaplandı. Bu kesim değerlerine göre HYALa, HYALc ve PSA düzeylerinin duyarlılık ve özgüllükleri belirlendi.  $\text{LR}(+) = \frac{\text{Duyarlılık}}{(1-\text{Özgüllük})}$ ;  $\text{LR}(-) = \frac{(1-\text{Duyarlılık})}{\text{Özgüllük}}$  formülünden hesaplandı. Klinik duyarlılık, özgüllük ve olabilirlik oranları biyopsi sonuçları ve kesim değeri esas alınarak hesaplandı.

### 3.6. HYALÜRONİDAZ KÜTLE ÖLÇÜMÜ

HYALc ELISA yöntemi ile immünokimyasal olarak tayin edilebilmektedir. Bu yöntemin temel prensibinde monoklonal antikorlarla kaplı reaksiyon plağına numunedeki ölçülecek ligand bağlanmaktadır. Daha sonra ortama enzim işaretli ikinci bir monoklonal antikor bağlanır. Kromojenik çözelti eklenir. Enzim etkileşimi sonucu oluşan rengin şiddeti ile ölçülmek istenen HYALc doğru orantılıdır. ELISA yöntemiyle HYAL sonuçları kütle konsantrasyonu üzerinden ng/mL olarak standart grafikten belirlenmektedir.

Çalışmamızda hasta serumunda HYALc düzeylerinin belirlenmesinde ticari ‘‘Hase ELISA Kit (*Cloud-Clone Corp.*)’’ kullanılmıştır. Üreticinin sağladığı kit bilgileri şu şekildedir:

Okuma aralığı: 0.312-20 ng/mL.

Analitik duyarlılık (LOD): 0.119 ng/mL

Analitik özgüllük: Hyalüronidaz ve analoglar arasında önemli bir çapraz reaktivite veya interferans gözlenmemiştir.

Geri kazanım (recovery): Serum örnekleri için ortalama geri kazanım %97.

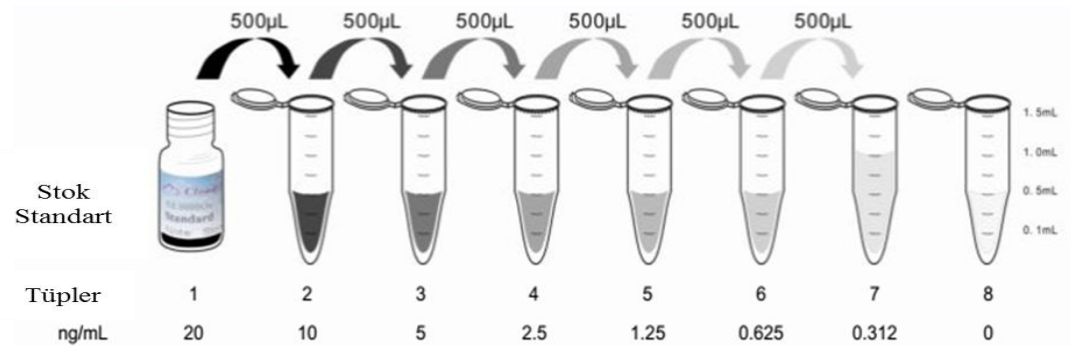
Doğrusallık: Bilinen yüksek konsantrasyonda HYAL içeren serum örneğinden elde edilen seri dilüsyonlu örnekler (1:2, 1:4, 1:8, 1:16) için doğrusallık yüzdeleri sırasıyla, %84-93; %78-94; %88-102 ve %86-101.

Kesinlik: çalışma içi CV <%10, çalışmalar arası CV <%12.

Çalışma öncesi HYALa çalışması ile eş zamanlı olarak -80 °C’de saklanan numuneler oda sıcaklığına getirildi ve vorteks karıştırıcı ile karıştırıldı. Çalışmaya başlamadan önce 1.0 mL standart dilüenti ile çözülerek, konsantrasyonu 20 ng/mL olan stok standart çözeltisi hazırlandı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Ardından kullanılacak standartlar uygun dilüsyonlarda hazırlandı (Tablo 7, Şekil 3). Sıfır standardı sadece standart dilüenti içermekteydi. Kit içeriğinde mevcut olan 20 mL’lik yıkama tamponu, üreticinin önerdiği oranda deiyonize su ile seyreltildi ve 600 mL’lik yıkama çözeltisi hazırlandı. Standartlar ve yıkama çözeltisi hazırlandıktan sonra ELISA deneyine kit protokolüne uygun olarak devam edildi.

**Tablo 7.** Standart çözeltilerin dilüsyonları

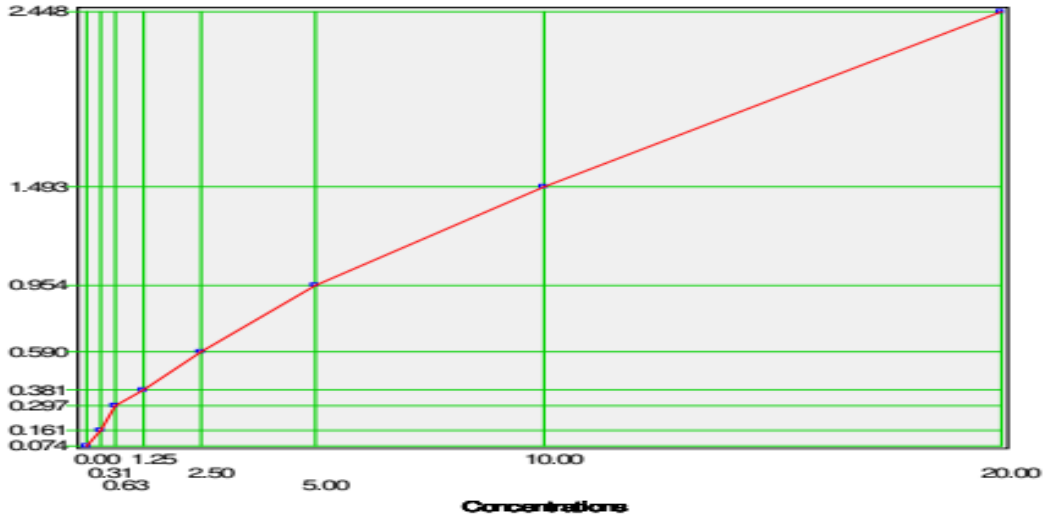
Konsantrasyon	Standart No	Dilüsyon
10 ng/mL	S6	500 µL stok standart + 500 µL standart dilüent
5 ng/mL	S5	500 µL standart 6 + 500 µL standart dilüent
2.5 ng/mL	S4	500 µL standart 5 + 500 µL standart dilüent
1.25 ng/mL	S3	500 µL standart 4 + 500 µL standart dilüent
0.625 ng/mL	S2	500 µL standart 3 + 500 µL standart dilüent
0.312 ng/mL	S1	500 µL standart 2 + 500 µL standart dilüent



**Şekil 3.** Standart çözeltilerin hazırlanması

- Standart kuyularına her bir standarttan 100 µL ve örnek kuyularına serum numunelerinden 100 µL eklendi.
- Plate kapatıcı ile kaplandı ve 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- Kapatıcı kaldırıldıktan sonra kalan sıvı uzaklaştırılarak her bir kuyuya 100 µL saptama reaktif A çözeltisi eklendi.
- Plate kapatıcı ile kaplandı ve 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- Kapatıcı kaldırıldıktan sonra yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.
- Her bir kuyuya 100 µL saptama reaktif B çözeltisi eklendi.
- Plate kapatıcı ile kaplandıktan sonra 37 °C’de 30 dakika inkübe edildi.
- Yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı.
- Her bir kuyuya 90 µL TMB (Tetrametilbenzidin) substrat çözeltisi eklendi.
- Plate kapatıcı ile kaplandı ve 37 °C’de 20 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrası kapatıcı kaldırıldı ve her bir kuyuya 50 µL durdurma çözeltisi eklendi.
- Örnekler durdurma çözeltisi eklendikten sonra 30 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda absorbans (OD) değerleri ölçüldü.
- Standartların konsantrasyonları ve ilgili absorbans değerlerine göre, standartların kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 4).
- Örneklerin absorbans değerleri grafiğe yerleştirilerek örnek konsantrasyonları ng/mL olarak belirlendi.

Serum HYALc çalışma prosedürü Tablo 8’de özet olarak gösterilmiştir



Şekil 4. Serum HYAL konsantrasyon ölçümü ELISA için kalibrasyon grafiği

Tablo 8. Serum HYAL konsantrasyonu çalışma prensibi

	Numune (µL)	Kör (µL)	Standart (µL)
Numune	100	-	-
Standart dilüenti	-	100	-
Standart	-	-	100
İnkübasyon		37 °C, 1 saat	
Detection reagent A	100	100	100
İnkübasyon		37 °C, 1 saat	
<b>3 kez yıkama</b>			
Detection reagent B	100	100	100
İnkübasyon		37 °C, 30 dk	
<b>5 kez yıkama</b>			
Substrat çözeltisi	90	90	90
İnkübasyon		37 °C, 20 dk	
Durdurma çözeltisi	50	50	50
450 nm'de okuma	+	+	+

### 3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tanımlayıcı istatistiksel analizler (ortalama ( $\bar{x}$ ), standart sapma ( $s$ ), ortanca ( $M$ ), çeyreklikler arası genişlik (IQR), en küçük ve en büyük değerler) yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarının normal dağılım gösterip göstermediği Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Hasta ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar, normal dağılım gösteren parametreler için varyans analizi (ANOVA) ile, grup içi karşılaştırmalar Student t testi ile yapıldı. Normal dağılım göstermeyen veriler için parametrik olmayan testler kullanıldı. Hasta ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ile, grup içi karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için  $p < 0.05$  kabul edildi. Değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon katsayısı ile değerlendirildi. Bu işlemler için ‘‘IBM SPSS Statistics version 24.0’’ ve ‘‘Analyse it’’ paket istatistik programları kullanıldı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. KONTROL GRUBU VE HASTA GRUPLARINDA ÖLÇÜLEN DEĞİŞKENLERİN KARŞILAŞTIRILMASI

BPH, KrP, PK ve kontrol grubunda glukoz, üre, kreatinin, total protein, albümin, ALT, AST, sodyum, potasyum, kalsiyum ve hemoglobin değerleri ölçülmüştür. Gruplarda bahsedilen analitlerin normal dağılım gösterdikleri Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlendikten sonra ( $p > 0.05$ ) varyans analizi (ANOVA) ile ölçülen analitler arasında anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 9).

**Tablo 9.** Kontrol grubu ve hasta grupları arasında değişkenlerin karşılaştırılması

Analit (birim)	Kontrol (n=30) x ± s	BPH (n=63) x ± s	KrP (n=45) x ± s	PK (n=33) x ± s	p
Glukoz (mg/dL)	97 ± 8	107 ± 39	104 ± 34	100 ± 22	>0.05
Üre (mg/dL)	32 ± 6	38 ± 13	37 ± 10	39 ± 13	>0.05
Kreatinin (mg/dL)	0.96 ± 0.10	0.99 ± 0.23	0.97 ± 0.24	0.98 ± 0.24	>0.05
Total protein (g/dL)	7.36 ± 0.44	7.59 ± 0.42	7.49 ± 0.54	7.41 ± 0.61	>0.05
Albümin (g/dL)	4.70 ± 0.30	4.72 ± 0.31	4.72 ± 0.27	4.56 ± 0.38	>0.05
AST (U/L)	16 ± 5	18 ± 4	18 ± 5	18 ± 5	>0.05
ALT (U/L)	20 ± 7	18 ± 6	18 ± 8	16 ± 6	>0.05
Na (mmol/L)	141 ± 2	141 ± 2	140 ± 3	141 ± 2	>0.05
K (mmol/L)	4.36 ± 0.27	4.39 ± 0.43	4.35 ± 0.36	4.30 ± 0.39	>0.05
Ca (mg/dL)	9.82 ± 0.40	9.73 ± 0.40	9.60 ± 0.54	9.57 ± 0.55	>0.05
Hb (g/dL)	15.4 ± 0.8	14.9 ± 1.2	14.8 ± 1.4	14.9 ± 1.2	>0.05

x: ortalama, s: standart sapma

## 4.2. KONTROL GRUBU VE HASTA GRUPLARININ YAŞ AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmamızda BPH, KrP, PK ve kontrol gruplarının yaş dağılımı Tablo 10'da verilmiştir. Kolmogorov-Smirnov testi ile hasta gruplarının ve kontrol grubunun yaş değerlerinin normal dağılmadığı belirlendi ( $p < 0.05$ ). Parametrik olmayan testlerden bağımsız Kruskal Wallis testi yapıldı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 10.** Kontrol grubu ve hasta gruplarında yaş dağılımları

	Kontrol (n=30)	BPH (n=63)	KrP (n=45)	PK (n=33)	p
Yaş, yıl; M±IQR	64 ± 16	62 ± 9	64 ± 13	66 ± 13	>0.05

M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik

## 4.3. KONTROL GRUBU VE HASTA GRUPLARI ARASINDA SERUM HYAL AKTİVİTE ÖLÇÜMLERİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

BPH, KrP, PK ve kontrol grubuna ait serum HYALa (mU/L) ortanca, çeyreklikler arası genişlik ve p değerleri Tablo 11'de gösterilmiştir.

Gruplar arasında HYALa Kruskal Wallis testiyle karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0.01$ ) (Şekil 5).

Gruplar arasındaki anlamlı farkı araştırmak için grup içi karşılaştırmalar Mann Whitney U testi yapıldı. Kontrol ve BPH grubu arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0.145$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ). Kontrol ile KrP, Kontrol ile PK, BPH ile KrP, BPH ile PK ve KrP ile PK grupları arasındaki p değerleri sırasıyla,  $p=0.001$ ;  $p < 0.001$ ;  $p=0.007$ ;  $p < 0.001$ ;  $p < 0.001$  olarak bulundu.

Ek hastalıklar (DM, HT, KAH) dışlandıktan sonra 46 BPH, 20 KrP, 19 PK hastası ile 30 kontrol grubunun serum HYALa karşılaştırıldı (Tablo 11). Grup içi farklar benzer bulundu. Kontrol ile BPH, Kontrol ile KrP, Kontrol ile PK, BPH ile KrP, BPH ile PK ve KrP ile PK grupları arasındaki p değerleri sırasıyla,  $p > 0.05$ ;  $p=0.003$ ;  $p < 0.001$ ;  $p=0.040$ ;  $p < 0.001$ ;  $p=0.001$  olarak bulundu.

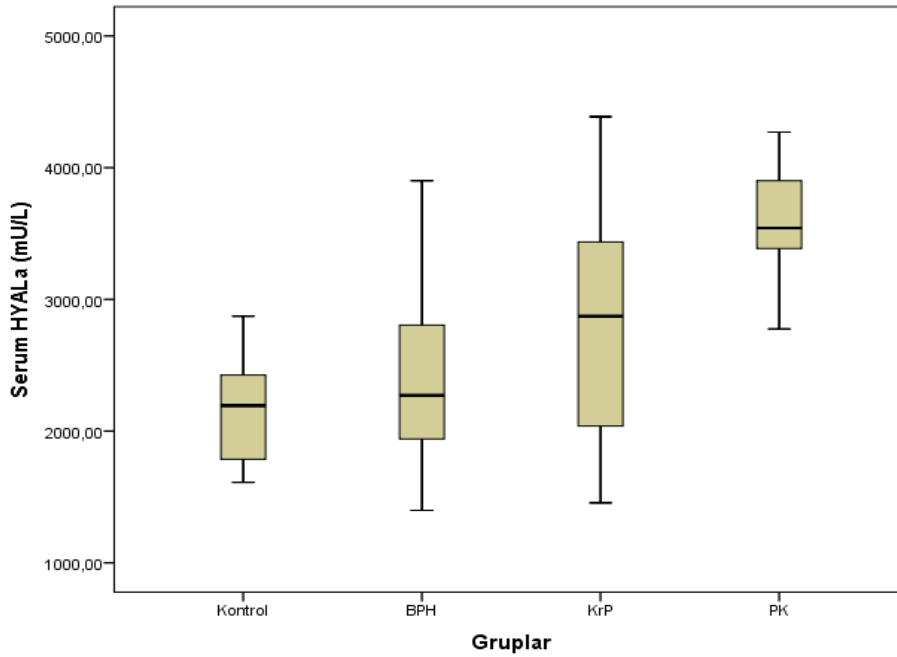
**Tablo 11.** Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYALa

	<b>Kontrol</b> (n=30)	<b>BPH</b> (n=63)	<b>KrP</b> (n=45)	<b>PK</b> (n=33)	<b>p</b>
HYALa (mU/L) M±IQR	2193 ± 664	2271 ± 892	2873 ± 1417	3533 ± 582	<0.01

	<b>Kontrol</b> (n=30)	<b>BPH</b> (n=46)	<b>KrP</b> (n=20)	<b>PK</b> (n=19)	<b>p</b>
HYALa (mU/L)* M±IQR	2193 ± 664	2280 ± 878	2950 ± 1247	3513 ± 369	<0.01

\*Hasta gruplarında DM, HT ve KAH dışlandı, M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik



**Şekil 5.** Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYALa (n=171)

Kutu, çeyreklikler arası genişlik (IQR): 25. ile 75. persentiller arası; yatay çizgi: ortanca (M); düşey çizgi: ±1.5 IQR;

#### 4.4. KONTROL GRUBU VE HASTA GRUPLARI ARASINDA SERUM HYAL KÜTLE ÖLÇÜMLERİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

BPH, KrP, PK ve kontrol grubuna ait serum HYALc (ng/mL) ortanca, çeyreklikler arası genişlik ve p değerleri Tablo 12’de gösterilmiştir.

Gruplar arasında HYALc Kruskal Wallis testiyle karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p <0.01) (Şekil 6).

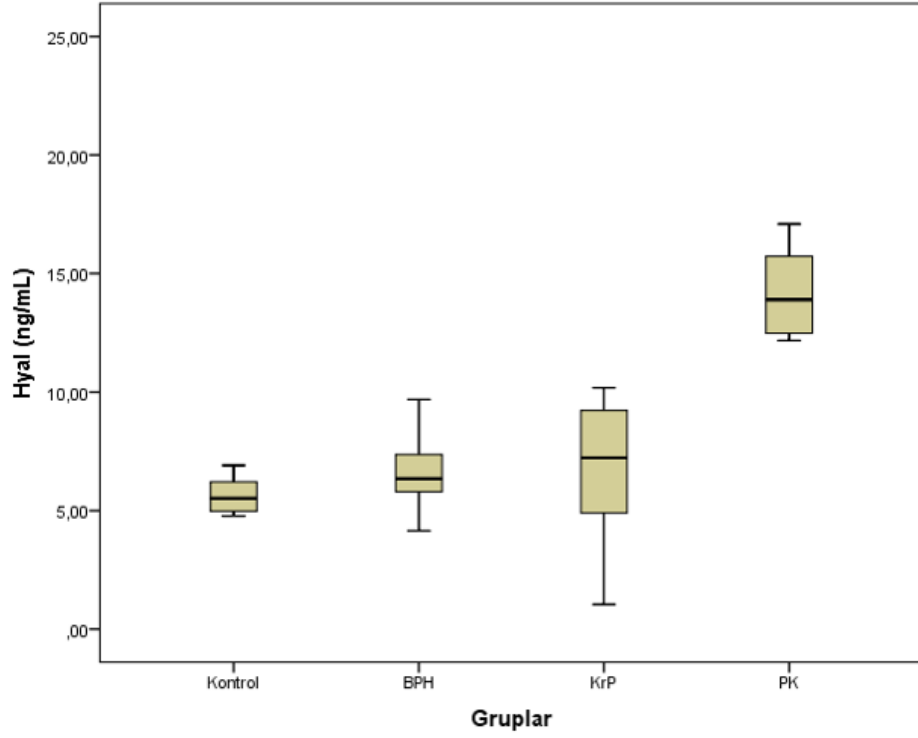
Gruplar arasındaki anlamlı farkı araştırmak için grup içi karşılaştırmalar Mann Whitney U testi yapıldı. Kontrol ile BPH, Kontrol ile KrP ve BPH ile KrP grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (p değerleri sırasıyla, p=0.127, p=0.216, p=0.527). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptandı (p <0.05). Kontrol ile PK, KrP ile PK ve BPH ile PK grupları arasındaki p değerleri sırasıyla, p <0.001; p=0.002; p <0.001 olarak bulundu.

Aynı hasta gruplarında serum HYALa ayrıca değerlendirildi (Tablo 12). HYALa için gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü (p <0.01) (Şekil 7). Grup içi karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Kontrol ile BPH grubu arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0.218). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptandı (p <0.05).

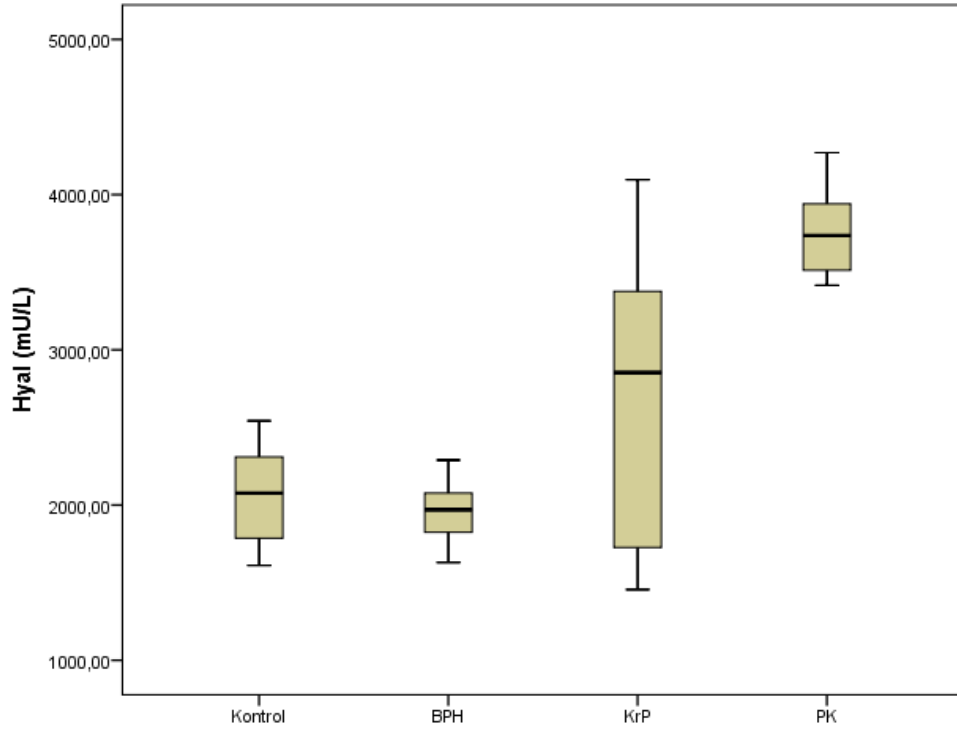
**Tablo 12.** Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYALc ve HYALa

	<b>Kontrol</b> (n=22)	<b>BPH</b> (n=22)	<b>KrP</b> (n=22)	<b>PK</b> (n=22)	<b>p</b>
HYALc (ng/mL) M±IQR	5.52 ± 1.30	6.35 ± 1.76	7.23 ± 4.58	13.89 ± 3.38	<0.01
HYALa (mU/L) M±IQR	2076 ± 558	1970 ± 296	2853 ± 1684	3736 ± 470	<0.01

M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik



Şekil 6. Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYALc (n=88)



Şekil 7. Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum HYALa (n=88)

#### 4.5. KONTROL GRUBU VE HASTA GRUPLARI ARASINDA SERUM TOTAL PSA ÖLÇÜMLERİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

BPH, KrP, PK ve kontrol grubuna ait serum total PSA ortanca, çeyreklikler arası genişlik ve p değerleri Tablo 13'te gösterilmiştir.

Gruplar arasında serum total PSA düzeyi Kruskal Wallis testiyle karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0.01$ ).

Gruplar arasındaki anlamlı farkı araştırmak için grup içi karşılaştırmalar Mann Whitney U testi yapıldı. BPH ile KrP grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.699$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ).

Ek hastalıklar (DM, HT, KAH) dışlandıktan sonra 46 BPH, 20 KrP, 19 PK hastası ile 30 kontrol grubunun serum total PSA düzeyi karşılaştırıldı (Tablo 13). Gruplar arasındaki farklar benzer bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Tablo 13.** Kontrol grubu ve hasta gruplarında serum Total PSA düzeyleri

	<b>Kontrol</b> <b>(n=30)</b>	<b>BPH</b> <b>(n=63)</b>	<b>KrP</b> <b>(n=45)</b>	<b>PK</b> <b>(n=33)</b>	<b>p</b>
Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ ) M $\pm$ IQR	0.86 $\pm$ 0.79	5.83 $\pm$ 4.29	6.14 $\pm$ 4.16	14.35 $\pm$ 25.90	<0.01
	<b>Kontrol</b> <b>(n=30)</b>	<b>BPH</b> <b>(n=46)</b>	<b>KrP</b> <b>(n=20)</b>	<b>PK</b> <b>(n=19)</b>	<b>p</b>
Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ )* M $\pm$ IQR	0.86 $\pm$ 0.79	6.01 $\pm$ 4.45	6.65 $\pm$ 3.69	12.61 $\pm$ 25.30	<0.01
	<b>Kontrol</b> <b>(n=22)</b>	<b>BPH</b> <b>(n=22)</b>	<b>KrP</b> <b>(n=22)</b>	<b>PK</b> <b>(n=22)</b>	<b>p</b>
Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ )** M $\pm$ IQR	0.84 $\pm$ 0.79	6.94 $\pm$ 6.06	6.37 $\pm$ 4.06	22.0 $\pm$ 25.51	<0.01

\*Hasta gruplarında DM, HT ve KAH dışlandı.

\*\*HYALc ölçülen hasta gruplarında ayrıca değerlendirme yapıldı.

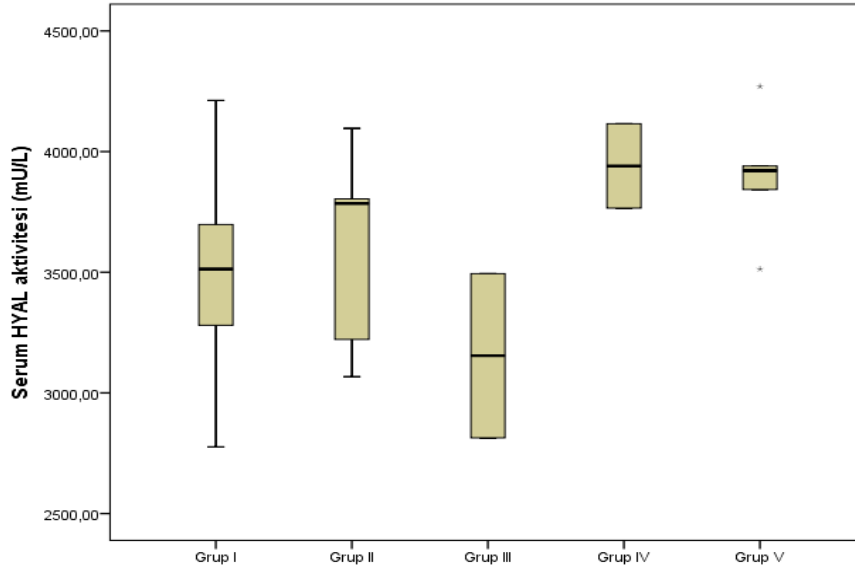
M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik

#### 4.6. PK HASTALARININ SERUM HYAL SEVİYELERİNİN GLEASON SKORLARINA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

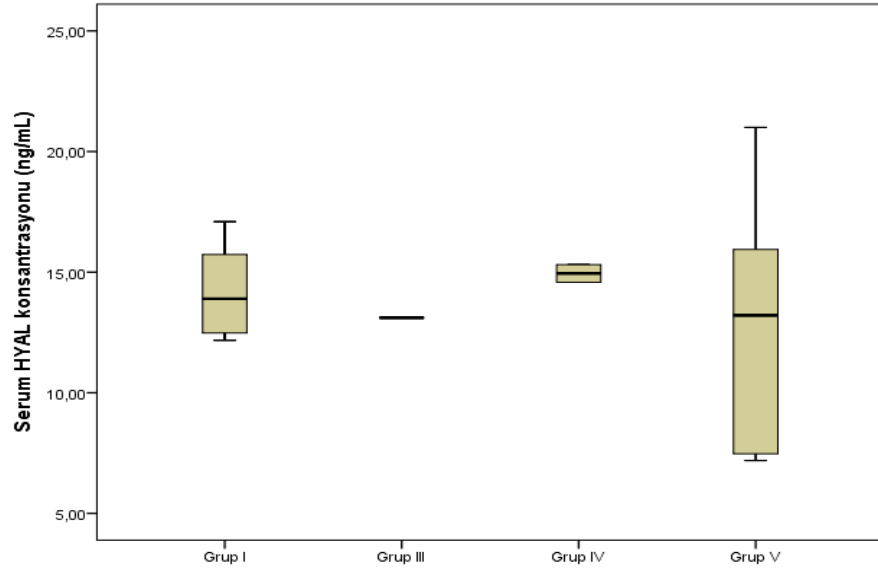
PK hastaları Gleason Skorlarına göre 5 gruba ayrıldı (Grade Grup 1, 2, 3, 4 ve 5). Gruplar arasında HYALa (n=37) ve HYALc (n=22) Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ) (Şekil 8 ve 9).

HYALa düzeylerinin değerlendirmesinde grup içi hasta sayıları çok düşük olduğu için, sadece Grade Grup 1 ve 5 değerlendirmeye alınarak istatistiksel analiz yapıldı. Mann Whitney U testi ile karşılaştırılan iki grup arasında anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ) (Şekil 10). Grade Grup 1 ve 5 serum HYALa ortanca ve çeyreklikler arası genişlik sırasıyla, Grade Grup 1 için:  $3513 \pm 446$ ; Grade Grup 5 için:  $3921 \pm 427$  olarak bulundu.

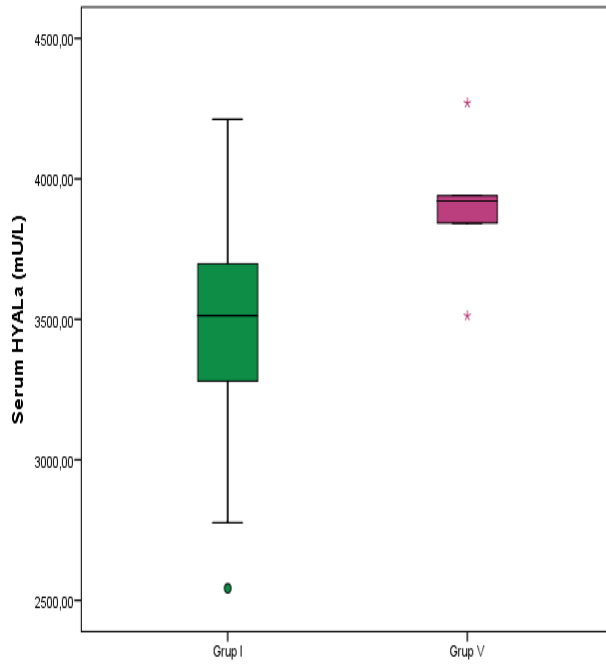
Serum HYALc değerlendirmesinde iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ) (Şekil 11). Grade Grup 1 ve 5 serum HYALc ortanca ve çeyreklikler arası genişlik sırasıyla, Grade Grup 1 için:  $13.89 \pm 3.46$ ; Grade Grup 5 için:  $13.21 \pm 11.14$  olarak bulundu.



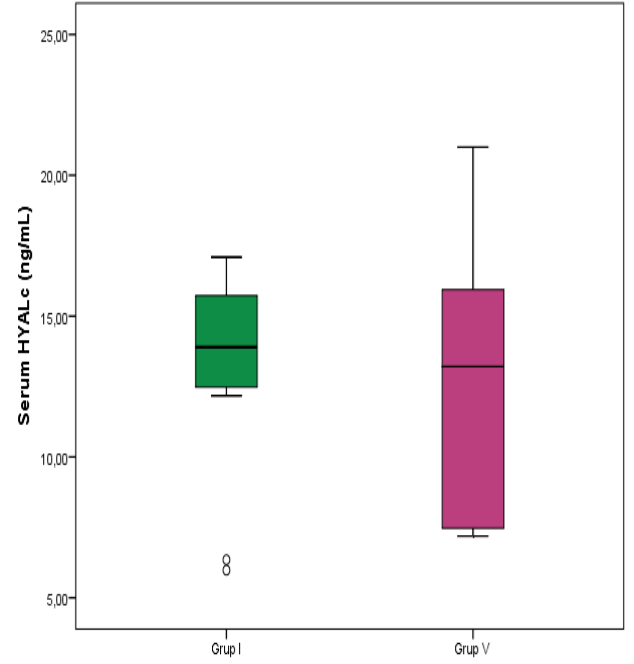
**Şekil 8.** Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYALa (Grade Grup 1: n=23; Grade Grup 2: n=5; Grade Grup 3: n=2; Grade Grup 4: n=2; Grade Grup 5: n=5)



**Şekil 9.** Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYALc  
(Grade Grup 1: n=14; Grade Grup 2: n=yok; Grade Grup 3: n=1; Grade Grup 4: n=2; Grade Grup 5:n=5)



**Şekil 10.** Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYALa  
(Grade Grup 1: n=23; Grade Grup 5: n=5)



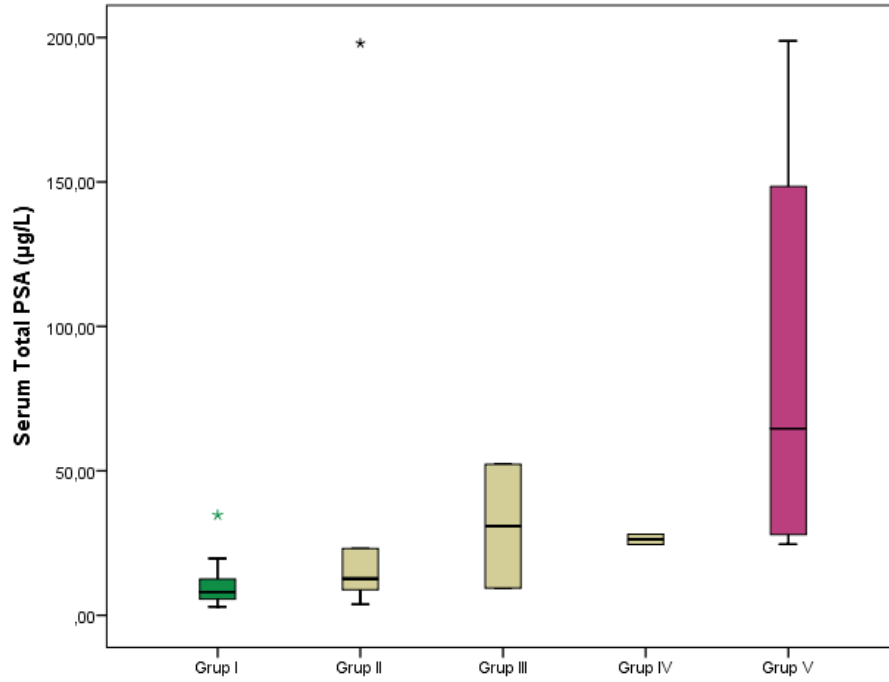
**Şekil 11.** Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum HYALc  
(Grade Grup 1: n=14; Grade Grup 5: n=5)

°Kutudan 1.5–3 IQR (çeyreklikler arası genişlik) uzaktaki veriler: uç değer, \*Kutudan 3 IQR (çeyreklikler arası genişlik) uzaktaki veriler: aşırı değer

#### 4.7. PK HASTALARININ SERUM TOTAL PSA DÜZEYLERİNİN GLEASON SKORLARINA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

PK hastaları Gleason Skorlarına göre 5 gruba ayrıldı (Grade grup 1, 2, 3, 4 ve 5).

Grupların serum total PSA düzeyi (n=37) Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0.003). Uç ve aşırı değerler dışlanarak yapılan istatistiksel analizde anlamlılık değişmedi (p <0.05) (Şekil 12).



**Şekil 12.** Gleason Sistemine göre gruplandırılan kanser hastalarının serum total PSA düzeyleri

(Grade Grup 1: n=23; Grade Grup 2: n=5; Grade Grup 3: n=2; Grade Grup 4: n=2; Grade Grup 5: n=4)

\*Kutudan 3 IQR (çeyreklikler arası genişlik) uzaktaki veriler: aşırı değer

#### 4.8. PSA DÜZEYİ GRİ ZONDA OLAN (4-10 µg/L) BPH, KrP ve PK GRUPLARI ARASINDA SERUM HYAL SEVİYELERİ VE TOTAL PSA ÖLÇÜMLERİ VE KARŞILAŞTIRILMASI

Kontrol grubunda gri zonda birey olmadığı için değerlendirmeye alınmadı. BPH, KrP ve PK gruplarına ait serum HYALa, HYALc ve total PSA düzeylerinin ortanca, çeyreklikler arası genişlik ve p değerleri Tablo 14’te gösterilmiştir.

Gruplar arasında HYALa ve HYALc seviyeleri Kruskal Wallis testiyle karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ) (Şekil 13 ve 14).

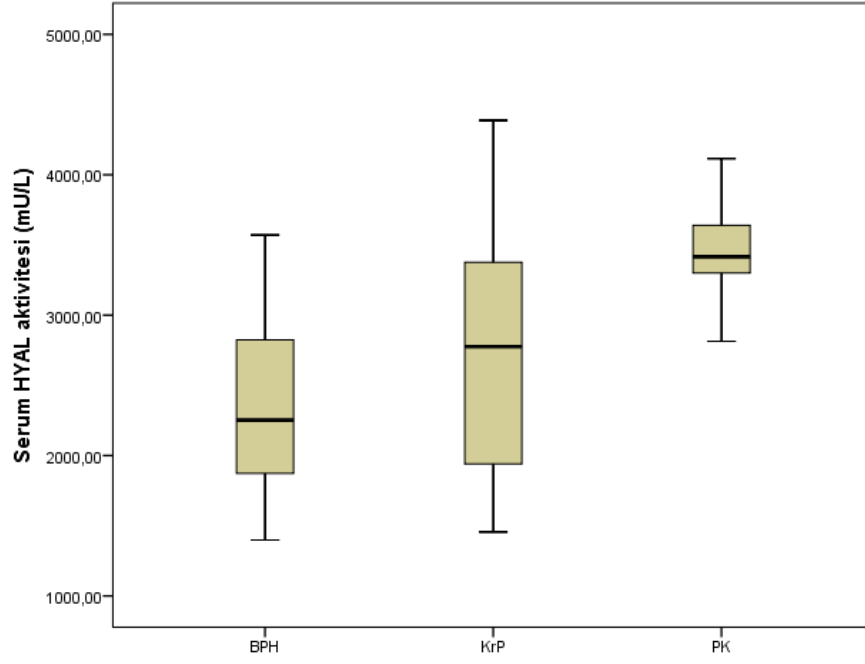
Gruplar arasındaki anlamlı farkı araştırmak için grup içi Mann Whitney U testi yapıldı. BPH ile KrP, BPH ile PK ve KrP ile PK grupları arasında HYALa için p değerleri sırasıyla,  $p=0.033$ ;  $p < 0.001$  ve  $p=0.015$  olarak, HYALc için p değerleri sırasıyla,  $p=0.575$ ;  $p=0.003$  ve  $p=0.024$  olarak bulundu.

Gruplar arasında serum total PSA yönünden anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ) (Şekil 15). Boxplot grafiğinde görsel olarak fark görüldüğü için grup içi karşılaştırma yapıldı. Sadece BPH ile PK arasında anlamlı fark saptandı ( $p=0.025$ ).

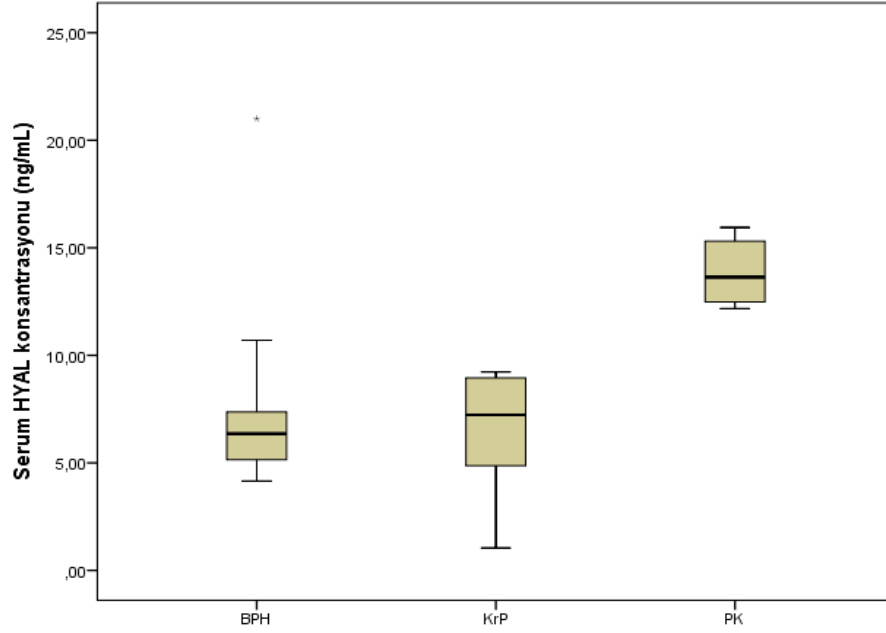
**Tablo 14.** Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarında serum HYALa, HYALc ve Total PSA düzeyleri

	<b>BPH (n=43)</b>	<b>KrP (n=38)</b>	<b>PK (n=11)</b>	<b>p</b>
HYALa (mU/L) M±IQR	2252 ± 971	2775 ± 1450	3416 ± 466	<0.05
Total PSA (µg/L) M±IQR	5.83 ± 2.41	5.96 ± 3.99	8.04 ± 2.48	>0.05
	<b>BPH (n=14)</b>	<b>KrP (n=20)</b>	<b>PK (n=6)</b>	<b>p</b>
HYALc (ng/mL) M±IQR	6.35 ± 2.95	7.23 ± 4.24	13.63 ± 3.07	<0.05

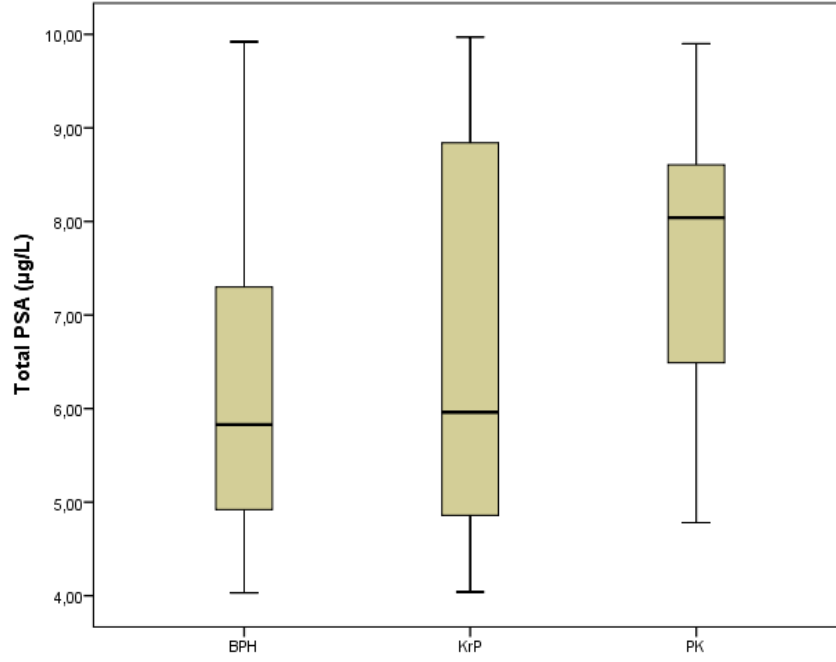
M: ortanca, IQR: çeyreklikler arası genişlik



Şekil 13. Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarında serum HYALa (n=92)



Şekil 14. Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarında serum HYALc (n=40)



**Şekil 15.** Gri zondaki BPH, KrP ve PK gruplarındaki serum Total PSA düzeyi (n=92)

#### **4.9. KONTROL GRUBU VE HASTA GRUPLARINDA SERUM HYAL SEVİYELERİ İLE TOTAL PSA ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Kontrol grubu ve BPH, KrP, PK grupları total olarak değerlendirildiğinde bulunan korelasyonlar aşağıdaki gibidir:

Serum HYALa ile total PSA arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı ( $r=0.405$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=171$ ).

Serum HYALc ile total PSA arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı ( $r=0.344$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=88$ ).

Serum HYALa ve HYALc arasında pozitif yönde güçlü korelasyon saptandı ( $r=0.743$ ,  $p < 0.01$ ,  $n=88$ ).

#### 4.10. YAŞ İLE SERUM HYAL DÜZEYLERİ VE PSA ARASINDAKİ İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Kontrol grubu ve BPH, KrP, PK grupları total olarak değerlendirildiğinde bulunan korelasyonlar aşağıdaki gibidir:

Yaş ile serum HYALa arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı ( $r=0.252$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=171$ ).

Yaş ile serum HYALc arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı ( $r=0.242$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=88$ ).

Yaş ile total PSA arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptandı ( $r=0.202$ ,  $p < 0.05$ ,  $n=171$ ).

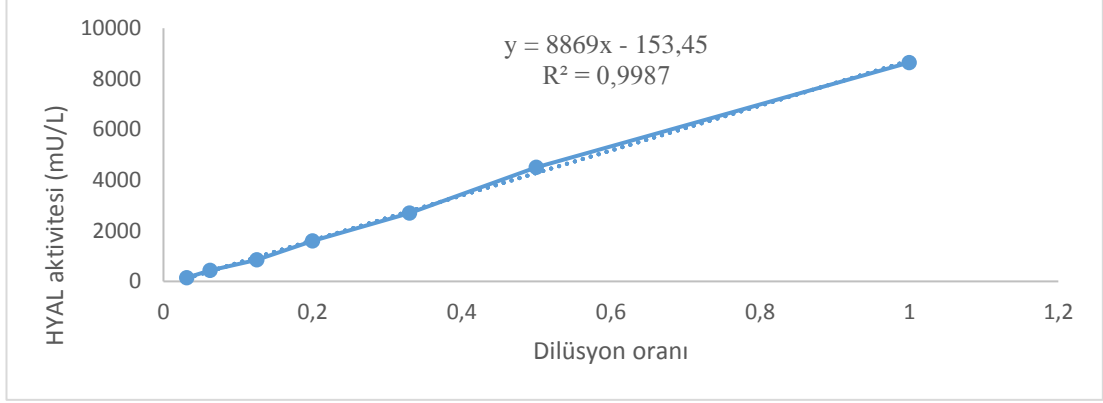
#### 4.11. SERUM HYAL AKTİVİTESİ ÖLÇÜMÜNÜN PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

##### 4.11.1. Doğrusallık Çalışması

Doğrusallık çalışması için HYAL yüksek serum havuzu (8645 mU/L) ve bundan elde edilen seri dilüsyonlu numuneler (1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) kullanıldı. Yaptığımız doğrusallık çalışmasına göre yöntemin 8645 mU/L'ye kadar lineer olduğu görüldü. Tablo 15 ve Şekil 16'da sonuçlar ve lineer regresyon grafiği verilmiştir.

**Tablo 15.** Doğrusallık çalışmasında elde edilen HYAL aktivitesi ve seyreltme oranları

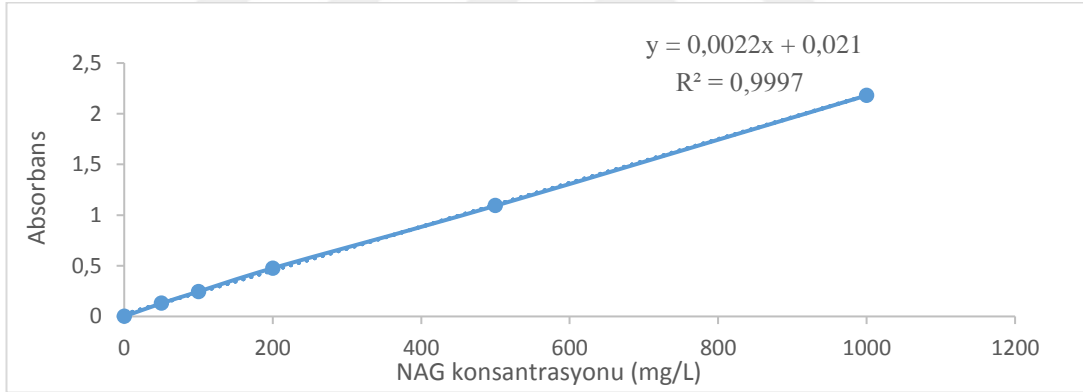
HYAL aktivitesi (mU/L)	Seyreltme oranları
8645	-
4505	1/1
2702	1/2
1615	1/4
856	1/8
430	1/16
145	1/32



**Şekil 16.** Doğruluk çalışması sonuçlarının Lineer regresyon grafiği ve denklemi.

#### 4.11.2. N-Asetil-D-Glukozaamin'in Standart Absorbans Eğrisi

Şekil 17'de seri dilüsyonlarla hazırlanan N-asetil-glukozaamin (NAG) standart ölçümlerinin absorbansa karşı konsantrasyon grafiği gösterildi.



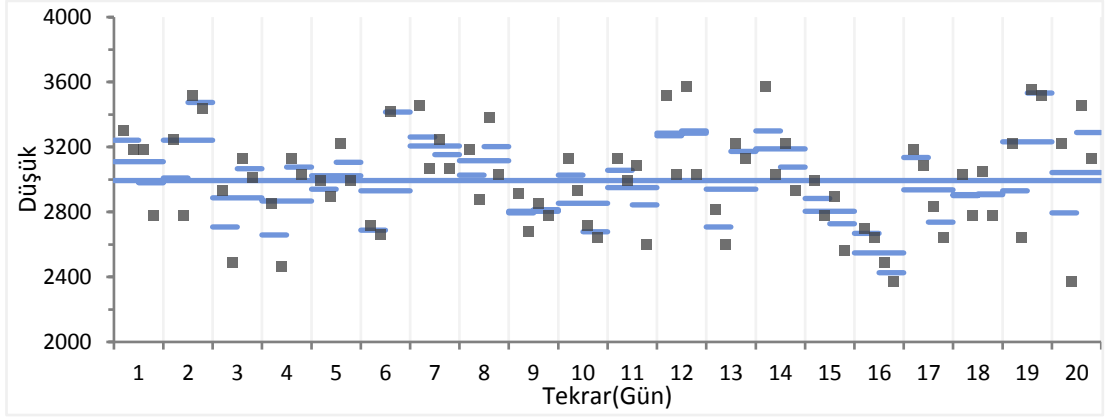
**Şekil 17.** NAG konsantrasyon-absorbans lineer regresyon grafiği ve denklemi.

#### 4.11.3. HYALa Kesinlik Çalışması

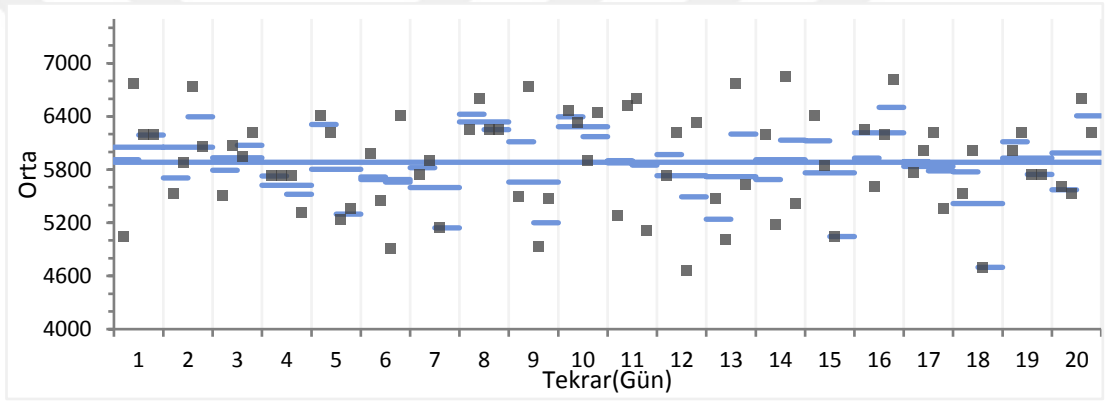
CLSI EP-5A önerileri doğrultusunda HYALa kesinlik çalışması için hazırlanan üç farklı seviyedeki örnekler (düşük, orta ve yüksek seviye) 20 gün boyunca her gün 2 kez (sabah, akşam) ve çift çalışıldı. Elde edilen sonuçlardan "Analyse it" programı ile çalışmalar arası ve günler arası %CV değerleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 16'da gösterilmiştir. Düşük, orta ve yüksek seviye için 20 günlük dağılımlar sırasıyla Şekil 18, 19 ve 20'de gösterilmiştir.

**Tablo 16.** HYALa kesinlik çalışması ve sonuçları

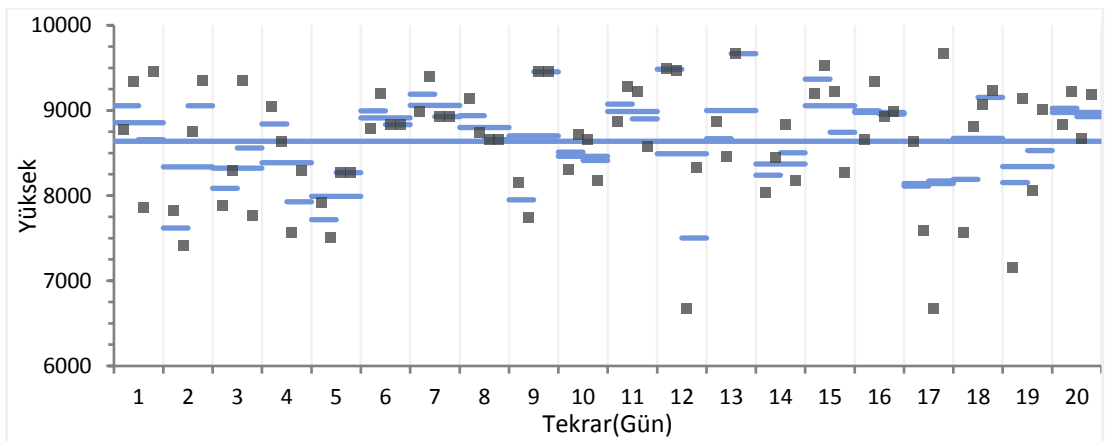
Günler	SABAHA						AKŞAM					
	1.Çalışma			2.Çalışma			1.Çalışma			2.Çalışma		
	Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek	Düşük	Orta	Yüksek
1	3300	5047	8773	3183	6774	9336	3183	6192	7861	2776	6192	9453
2	3241	5532	7822	2776	5881	7415	3436	6056	9356	3513	6735	8754
3	2484	6075	8288	2931	5512	7880	3009	6211	7764	3125	5939	9356
4	2853	5726	9045	2465	5726	8637	3028	5318	8288	3125	5726	7570
5	2989	6405	7919	2892	6211	7512	2989	5357	8269	3222	5241	8269
6	2659	5454	9200	2717	5978	8793	3416	6405	8832	3649	4911	8832
7	3067	5901	9394	3455	5745	8987	3067	7337	8929	3241	5144	8929
8	3183	6250	9142	2873	6599	8735	3377	6250	8657	3028	6250	8657
9	2912	5493	8152	2679	6735	7745	2853	4930	9453	2776	5474	9453
10	2931	6328	8715	3125	6464	8307	2640	6444	8172	2717	5901	8657
11	2989	6522	9278	3125	5280	8870	3086	6599	9220	2601	5105	8579
12	3513	5726	9491	3028	6211	9472	3028	6328	8327	3571	4658	6677
13	2814	5474	8870	2601	5008	8463	3222	6774	9666	3125	5629	6017
14	3028	5182	8443	3571	6192	8036	3222	6852	8832	2931	5415	8172
15	2776	5842	9530	2989	6405	9200	2562	7046	8269	2892	5047	9220
16	2698	6250	8657	2640	5609	9336	2368	6813	8987	2484	6192	8929
17	3183	5765	8637	3086	6017	7589	2834	6211	6677	2640	5357	9666
18	2776	6017	8812	3028	5532	7570	3047	7123	9064	2776	4697	9239
19	2640	6211	9142	3222	6017	7162	3552	5745	8055	3513	5745	9006
20	2368	5532	9220	3222	5609	8832	3455	6599	8676	3125	6211	9181
				Düşük			Orta			Yüksek		
				Seviye			Seviye			Seviye		
% CV çalışmalar arası				% 7.65			% 9.42			% 7.22		
% CV günler arası				% 10.01			% 9.75			% 8.19		



**Şekil 18.** HYALa düşük seviye kesinlik çalışması ve 20 günlük dağılımı



**Şekil 19.** HYALa orta seviye kesinlik çalışması ve 20 günlük dağılımı



**Şekil 20.** HYALa yüksek seviye kesinlik çalışması ve 20 günlük dağılımı

#### 4.11.4. Geri Kazanım Çalışması

Tüm havuzların ortalamaları üzerinden HYAL için % geri kazanım (recovery) 100.19 hesaplandı. Sonuçlar Tablo 17’de gösterilmiştir.

**Tablo 17.** HYALa geri kazanım çalışması

Oran	Beklenen değer (mU/L)	Ölçülen değer (mU/L)	R (%)
Y		12054	
3Y/1D	9263	9278	100.16
2Y/1D	8333	8579	102.95
1Y/1D	6473	6425	99.25
1Y/2D	4613	4348	94.25
1Y/3D	3683	3843	104.35
D		893	
Ortalama			100.19

D: düşük, Y: yüksek

#### 4.11.5. Kör, Tayin ve Ölçüm Sınırları (LOB, LOD, LOQ)

20 kez çalışılan kör numune absorbansı sonuçlarından elde edilen ortalama ve standart sapmalar LOB, LOD ve LOQ hesaplanmasında kullanıldı. Kör numunenin ortalama ve standart sapma absorbans değerleri sırasıyla 0.049 ve 0.004 bulundu (Tablo 18).

LOB, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 1087, 1217, 1745 mU/L olarak hesaplandı.

**Tablo 18.** HYALa kör okuma sınırı (LOB) belirleme çalışması

	<b>KÖR ABSORBANSLARI</b>
1. ölçüm	0.046
2. ölçüm	0.048
3. ölçüm	0.052
4. ölçüm	0.052
5. ölçüm	0.046
6. ölçüm	0.049
7. ölçüm	0.048
8. ölçüm	0.056
9. ölçüm	0.045
10. ölçüm	0.054
11. ölçüm	0.045
12. ölçüm	0.046
13. ölçüm	0.052
14. ölçüm	0.044
15. ölçüm	0.048
16. ölçüm	0.048
17. ölçüm	0.059
18. ölçüm	0.056
19. ölçüm	0.045
20. ölçüm	0.054
<b>x</b>	<b>0.049</b>
<b>ss</b>	<b>0.004</b>
<b>%VK</b>	<b>8.21</b>

x: Ortalama, ss: Standart sapma, VK: Varyasyon katsayısı

#### **4.11.6. Serum HYAL Düzeylerinin ve Total PSA'nın Receiver Operating Curve (ROC) Analizi, Kesim Değeri, Duyarlılığı, Özgüllüğü ve Olabilirlik Oranları (Likelihood Ratio)**

Klinik performansın değerlendirilmesinde biyopsi sonuçları esas alınarak ROC analizi yapıldı. ROC eğrileri HYALa ve PSA düzeyi için Şekil 21'de, HYALc için Şekil 22'de gösterildi. ROC eğrilerinin koordinatları Tablo 19, 20 ve 21'de verildi.

ROC analizinde HYALa, HYALc ve PSA için eğri altında kalan alanlar (AUC) sırasıyla, 0.866 (%95 CI= 0.807–0.926); 0.826 (%95 CI= 0.719–0.933) ve 0.813 (%95 CI= 0.718–0.908) bulundu.

HYALa, HYALc ve PSA için en uygun kesim değerleri sırasıyla, 3047 mU/L; 11.43 ng/mL ve 8.03 µg/L olarak hesaplandı.

Bu kesim değerlerine göre duyarlılık ve özgüllük sırasıyla, HYALa için %88 ve %71, HYALc için %82 ve %89, PSA için %79 ve %71 olarak belirlendi.

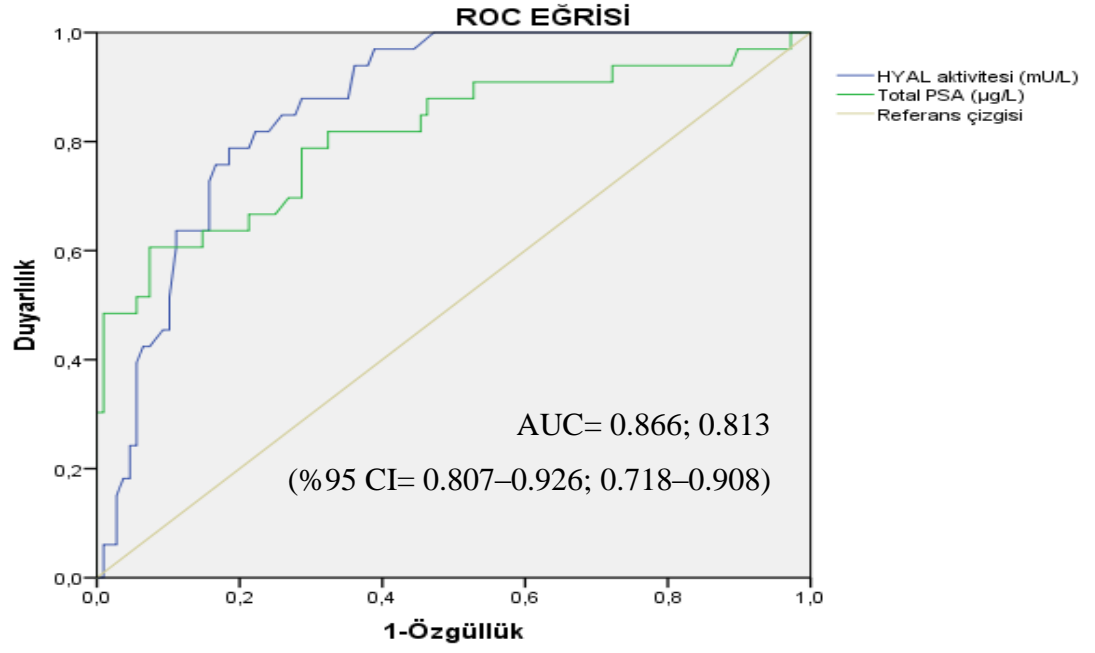
LR(+) ve LR(-) değerleri sırasıyla, HYALa için 3 ve 0.1, HYALc için 8 ve 0.2, PSA için 3 ve 0.2 olarak hesaplandı.

Gri zonda olan hasta grupları için serum HYAL ve PSA düzeylerinin ROC analizi ayrıca yapıldı. Biyopsi sonuçlarına göre ROC eğrileri HYALa ve PSA için Şekil 23'de, HYALc için Şekil 24'de gösterildi.

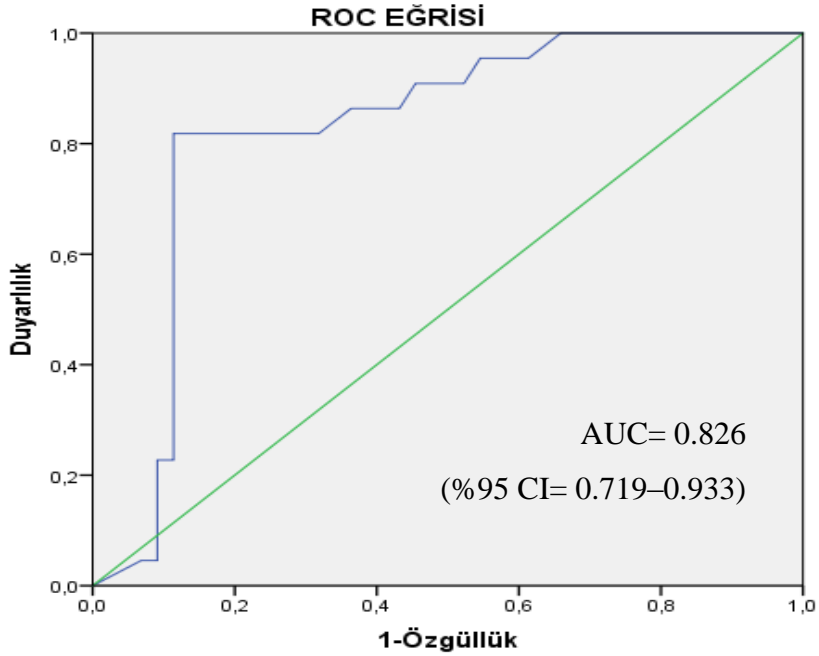
Gri zon için HYALa, HYALc ve PSA düzeyinin eğri altında kalan alanları (AUC) sırasıyla, 0.808 (%95 CI= 0.699–0.918); 0.858 (%95 CI= 0.742–0.974) ve 0.632 (%95 CI= 0.463–0.801) bulundu.

Gri zon için duyarlılık ve özgüllük sırasıyla HYALa için %75 ve %78, HYALc için %83 ve %85, PSA için %75 ve %55 olarak belirlendi.

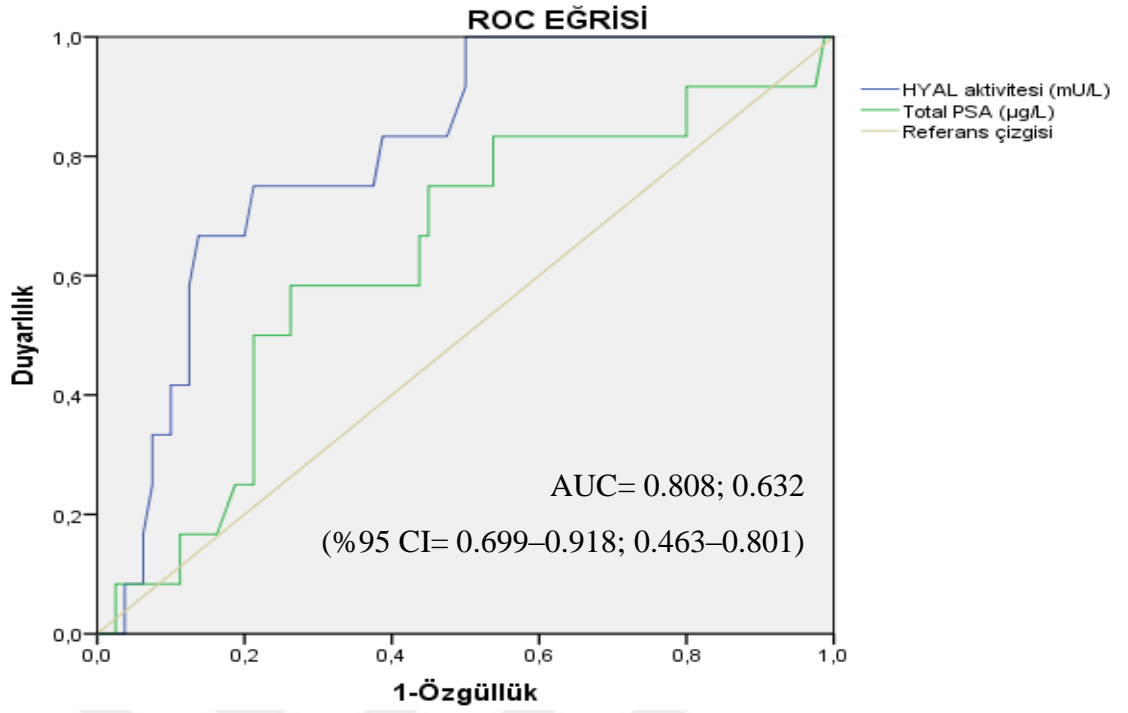
Gri zon için LR(+) ve LR(-) değerleri sırasıyla, HYALa için 3 ve 0.3, HYALc için 6 ve 0.2, PSA için 2 ve 0.5 olarak hesaplandı.



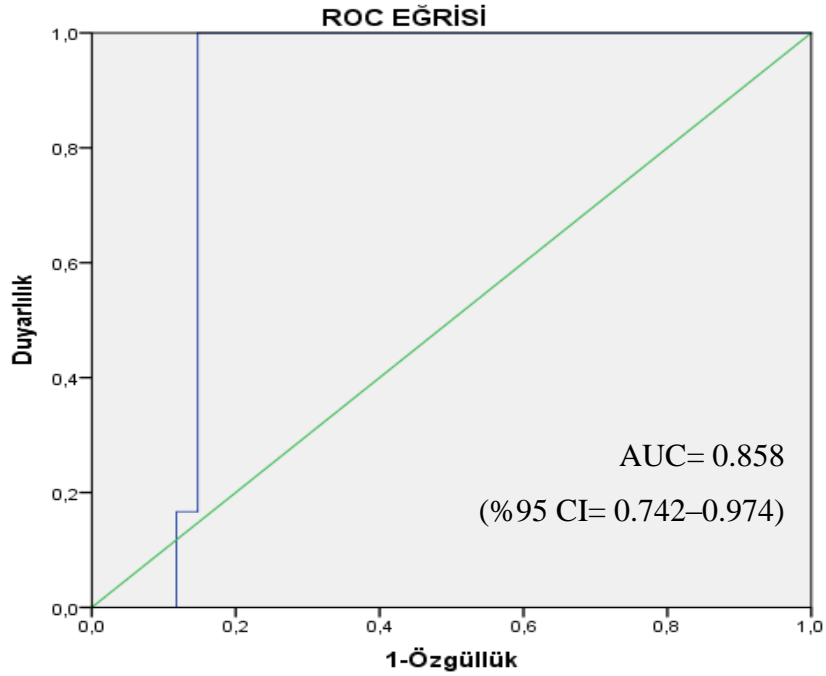
**Şekil 21.** Serum HYALa (mU/L) ve Total PSA (µg/L) ROC grafiği (n=141; 33 PK, 108 biyopsi (-) hasta)



**Şekil 22.** Serum HYALc (ng/mL) ROC grafiği (n=66; 22 PK, 44 biyopsi (-) hasta)



**Şekil 23.** Gri zon için serum HYALa (mU/L) ve Total PSA (µg/L) ROC grafiği (n=92; 11 PK, 81 biyopsi (-) hasta)



**Şekil 24.** Gri zon için serum HYALc (ng/mL) ROC grafiği (n=40; 6 PK, 34 biyopsi (-) hasta)

**Tablo 19.** Serum HYALa (mU/L) ROC analizi verileri (n = 141)

ROC eğrisi koordinatları					
HYALa (mU/L)	Duyarlılık	1- Özgüllük	HYALa (mU/L)	Duyarlılık	1- Özgüllük
1397	1,00	1,00	2804	0,93	0,36
1504	1,00	0,98	2843	0,87	0,34
1640	1,00	0,94	2931	0,87	0,31
1669	1,00	0,92	2969	0,87	0,30
1698	1,00	0,90	3008	0,87	0,29
1717	1,00	0,89	3047	0,87	0,28
1756	1,00	0,88	3076	0,84	0,27
1795	1,00	0,88	3096	0,84	0,26
1853	1,00	0,84	3202	0,81	0,22
1873	1,00	0,81	3231	0,78	0,21
1902	1,00	0,80	3251	0,78	0,18
1931	1,00	0,78	3280	0,75	0,18
1950	1,00	0,75	3319	0,75	0,17
1970	1,00	0,75	3358	0,75	0,16
2028	1,00	0,70	3426	0,63	0,15
2057	1,00	0,65	3445	0,63	0,13
2086	1,00	0,64	3474	0,63	0,11
2135	1,00	0,62	3523	0,51	0,10
2164	1,00	0,61	3542	0,48	0,10
2203	1,00	0,60	3561	0,45	0,10
2242	1,00	0,59	3581	0,45	0,09
2261	1,00	0,58	3610	0,42	0,07
2280	1,00	0,57	3659	0,42	0,06
2300	1,00	0,56	3697	0,39	0,05
2319	1,00	0,55	3736	0,36	0,05
2339	1,00	0,54	3785	0,33	0,05
2358	1,00	0,53	3823	0,30	0,05
2387	1,00	0,52	3862	0,27	0,05
2416	1,00	0,51	3891	0,24	0,05
2436	1,00	0,50	3911	0,24	0,04
2455	1,00	0,50	3930	0,21	0,04
2494	1,00	0,48	3979	0,18	0,04
2630	0,97	0,41	4124	0,06	0,02
2708	0,97	0,40	4173	0,06	0,00
2766	0,97	0,38	4328	0,00	0,00
2785	0,93	0,38	4388	0,00	0,00

**Tablo 20.** Serum HYALc (ng/mL) ROC analizi verileri (n = 66)

ROC eğrisi koordinatları					
HYALc (ng/mL)	Duyarlılık	1- Özgüllük	HYALc (ng/mL)	Duyarlılık	1- Özgüllük
0,03	1,00	1,00	8,44	0,81	0,27
2,59	1,00	0,97	8,62	0,81	0,25
4,28	1,00	0,95	8,95	0,81	0,22
4,49	1,00	0,93	9,32	0,81	0,20
4,63	1,00	0,90	9,55	0,81	0,18
4,73	1,00	0,88	9,93	0,81	0,15
4,80	1,00	0,84	10,44	0,81	0,13
4,87	1,00	0,81	11,43	0,81	0,11
4,98	1,00	0,79	12,32	0,77	0,11
5,10	1,00	0,75	12,79	0,72	0,11
5,33	1,00	0,72	13,16	0,68	0,11
5,61	1,00	0,70	13,26	0,63	0,11
5,75	1,00	0,68	13,52	0,54	0,11
5,89	1,00	0,65	13,89	0,50	0,11
6,07	0,95	0,61	14,37	0,45	0,11
6,21	0,95	0,56	14,89	0,40	0,11
6,30	0,95	0,54	15,25	0,36	0,11
6,44	0,90	0,52	15,52	0,27	0,11
6,58	0,90	0,50	15,88	0,22	0,09
6,91	0,90	0,45	16,09	0,18	0,09
7,23	0,86	0,43	16,30	0,13	0,09
7,32	0,86	0,38	16,72	0,09	0,09
7,42	0,86	0,36	17,30	0,04	0,09
7,61	0,81	0,31	19,25	0,04	0,06
8,02	0,81	0,29	22,00	0,00	0,00

**Tablo 21.** Serum Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ ) ROC analizi verileri (n = 141)

ROC eğrisi koordinatları					
Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ )	Duyarlılık	1- Özgüllük	Total PSA ( $\mu\text{g/L}$ )	Duyarlılık	1- Özgüllük
0,08	1,00	1,00	7,13	0,81	0,38
1,51	1,00	0,99	7,21	0,81	0,37
2,11	1,00	0,98	7,27	0,81	0,36
2,60	1,00	0,97	7,30	0,81	0,35
3,03	0,97	0,97	7,39	0,81	0,34
3,17	0,97	0,96	7,48	0,81	0,33
3,21	0,97	0,95	7,50	0,81	0,32
3,67	0,97	0,89	7,61	0,78	0,31
3,92	0,93	0,88	7,63	0,78	0,30
4,01	0,93	0,88	7,83	0,78	0,29
4,03	0,93	0,87	8,03	0,78	0,28
4,13	0,93	0,85	8,12	0,75	0,28
4,26	0,93	0,84	8,66	0,69	0,27
4,30	0,93	0,83	8,77	0,69	0,26
4,34	0,93	0,81	8,87	0,66	0,25
4,39	0,93	0,80	8,93	0,66	0,24
4,45	0,93	0,77	9,13	0,66	0,23
4,54	0,93	0,76	9,32	0,66	0,22
4,60	0,93	0,74	9,46	0,63	0,20
4,68	0,93	0,73	9,51	0,63	0,19
4,76	0,93	0,72	9,53	0,63	0,18
4,80	0,90	0,72	9,58	0,63	0,17
4,82	0,90	0,71	9,63	0,63	0,16
4,84	0,90	0,70	9,68	0,63	0,15
4,88	0,90	0,69	9,91	0,60	0,14
4,92	0,90	0,68	10,06	0,60	0,13
4,96	0,90	0,67	10,44	0,60	0,12
4,99	0,90	0,65	10,89	0,60	0,11
5,26	0,90	0,63	11,88	0,60	0,08
5,38	0,90	0,60	12,42	0,57	0,07
5,53	0,90	0,56	16,90	0,48	0,02
5,57	0,90	0,55	22,00	0,42	0,00
5,62	0,90	0,54	25,76	0,39	0,00
5,67	0,90	0,52	27,53	0,36	0,00
5,75	0,87	0,51	29,64	0,33	0,00
5,87	0,87	0,50	32,82	0,30	0,00
5,95	0,87	0,49	33,14	0,27	0,00
6,01	0,87	0,48	39,17	0,21	0,00
6,09	0,87	0,47	47,95	0,18	0,00
6,25	0,87	0,46	70,07	0,15	0,00
6,61	0,84	0,45	92,94	0,12	0,00
6,73	0,81	0,44	148,01	0,09	0,00
6,83	0,81	0,42	198,40	0,06	0,00
6,97	0,81	0,41	339,90	0,03	0,00
7,09	0,81	0,40	482,00	0,00	0,00

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda biyopsi sonucuna göre tanı konulan BPH, KrP, PK hastalarında ve sağlıklı bireylerde serum HYALa ve HYALc ölçüldü. Bunun yanı sıra serum HYALa ölçüm yönteminin analitik ve klinik performansı değerlendirildi. Çalışmamızda PK olan hastalarda serum HYAL düzeyleri benign hasta gruplarına göre yüksek saptandı. PK'nin değerlendirilmesinde tanısız duyarlılık ve özgüllük PSA'ya göre daha yüksek bulundu. Özellikle PSA'nın düşük olduğu gri zondaki hastaların (PSA düzeyi 4-10 µg/L) ayrıca değerlendirilmesinde hem HYALa hem de HYALc ölçümlerinin duyarlılık ve özgüllükleri PSA'ya göre yüksek saptandı. HYALa ölçüm yöntemi analitik performans açısından yeterli bulundu. HYAL aktivite ve kütle ölçümleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulundu.

PK, erkekler arasında ikinci sıklıkta görülen kanserdir ve kansere bağlı ölüm sebepleri arasında beşinci sırada yer almaktadır (1). PK, erken tanı ve tedavinin artması ile birlikte insidansı artan kanser türlerinden biridir. PK'li hastaların tanı ve takibinde PRM, serum PSA konsantrasyonu ölçümü ve TRUS kullanılmaktadır (6). Bu yöntemlerle elde edilen bulgular ışığında PK ayırıcı tanısında, TRUS eşliğinde prostat biyopsisi ve patolojik değerlendirme altın standart kabul edilmektedir. Biyopsi sayısını azaltmak ve hastanın hayat kalitesini bozmamak için PK tanısında invaziv olmayan tanı yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur.

PSA günümüzde, BPH takibinde, bireyselleştirilmiş PK taramasında, lokalize PK küratif tedavileri sonrası izlemde, hormonoterapi ve kemoterapiye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılan değerli bir parametredir. PSA tanısız değildir; bir erkeğin PK riskini değerlendirmeye yardımcı olur ve biyopsinin ne zaman yapılmasının uygun olacağını belirlemek için diğer parametrelerle birlikte kullanılmalıdır. PSA'nın dezavantajı kansere değil organa özgü bir biyokimyasal belirteç olmasıdır. Özgüllüğü yetersizdir ve tanı anında klinik bakımdan önemli kanseri, klinik olarak önemi olmayan kanserden ayırt edememektedir (10, 11).

İdrar, serum ve plazmada HA ile HYAL testi bakılabilmektedir (24). Doku, serum ve idrarda birçok hastalık ve kanserde farklı düzeylerde HYAL tespit edilmiştir (15-17). PK'nin bilinen tanı ve takibinde, serumda ölçülen yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip PK biyobelirteçlerinin kullanılması yararlı olabilir. Bu biyobelirteçler

mevcut yöntemlerle birlikte veya tek başına PK tanı ve takibinde daha etkili bir yöntem olarak kullanılabilir. Taramada, uygun tedavi yönteminin seçiminde, tedaviye verilen yanıtın izlenmesinde, rekürrens takibinde ve prognozun öngörülmesinde güvenilir bir PK belirteci fayda sağlayacaktır.

HA metabolizmasında düzenleyici işlevlerinden dolayı HYAL'ler önemlidir. HYAL (EC 3.2.1.35) HA'nın yıkımını sağlayan bir endoglikozidazdır. Glikozaminoglikandaki  $\beta$ -1,4 glikozidik bağlarını yıkarak oligosakkaritler (tetra ve hekza) oluşur. Son ürün olarak indirgeyici terminalde N-asetil glukozamin kalır. HYAL analizlerinden en yaygın kullanılanlarında prensip, N-asetil glukozamin oluşumu veya HA yıkımına bağlı viskozite veya bulanıklığın ölçümüne dayanır.

Çalışmamızda serum HYALa ölçümünde Takahashi ve ark. kullandığı indirgeyici terminalde oluşan N-asetil glukozaminin kolorimetrik yolla saptanmasına dayanan yöntem kullanılmıştır (95).

Sağlıklı popülasyon için literatürde farklı serum HYALa değerleri bulunmaktadır. Örneğin, Wilkinson ve ark. serum HYAL düzeylerini ortalama ve standart sapma olarak  $17.1 \pm 3.6$  U/L olarak bulurken, Natowicz ve ark.  $4476 \pm 1144$  mU/L, Muckenschnabel ve ark. 1.4-1.8 U/L arasında, Laudat ve ark.  $9.3 \pm 1.7$  U/L, Kucur ve ark.  $2838 \pm 417.67$  mU/L bulmuşlardır (75, 101-104). Kontrol grubunun özellikleri ve HYAL ölçümünde kullanılan yöntem farklılığı literatürdeki bu farklılıklara sebep olabilir. Çalışma prosedürleri arasında farklar aynı yöntemi kullanan makalelerde bile bulunmaktadır. Bu farklılıklara örnek olarak ünite hesabında kullanılan keyfi birimler, santrifüj hız ve süreleri, ortam pH'si, substrat konsantrasyonu, inkübasyon süreleri ve sıcaklıkları, numune miktarı verilebilir.

Yazarların farklı üniteler kullanması farklı serum HYALa değerleri bulunmasına neden olabilir. Bonner ve Cantey yaptıkları çalışmada 0.1 mL hacimde 0.05 mg/mL bovine testiküler HYAL tarafından ortaya çıkan ürün N-asetil glukozamin miktarını 1 U/L olarak tarif etmiştir (94). Diğer makalelerde bir enzim ünitesi  $37^\circ\text{C}$ 'de 1  $\mu\text{mol}$  substratı 1 dk'da ürüne dönüştüren enzim aktivitesi olarak klasik ünite tarifi kullanılmıştır (92, 93, 104). Çalışmamızda bu tanım ile HYAL aktivitesi U/L ( $\mu\text{mol}/\text{dk}/\text{L}$ ) =  $(\Delta A_{585}/\text{dk} \times 10^6 \times V_T) / (\epsilon \times d \times V_S)$  formülü kullanılarak ünite hesabı yapıldı.  $\epsilon$  (NAG'nin 585 nm'deki molar absorbtivite katsayısı) çalışmamızda  $20\,598$  L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> olarak bulundu. Çalışmamızda bulunan  $\epsilon$  katsayısı, Reissig ve ark.'nın

bulduğu katsayı ( $21\ 000\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ile uyumludur (92). Wilkinson ve ark.  $582\ \text{nm}$ 'de  $\epsilon$  katsayısını  $15\ 700 \pm 291\ \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  bulmuşlardır (103).

Yapılan çalışmalar enzim reaksiyonunda türbidite kaynaklı interferansı önlemek için santrifüj yapılmasını önermektedir. Ancak önerilen santrifüj hızları arasında farklılıklar vardır. Muckenschnabel ve ark.'nın çalışmasında, reaksiyon ortamı  $4\ ^\circ\text{C}$ 'de  $6000\ \text{g}$ 'de 10 dakika santrifüj edilirken; Wilkinson ve ark.'nın çalışmasında,  $1500\ \text{g}$ 'de 10 dakika; Takahashi ve ark.'nın çalışmasında,  $18000\ \text{g}$ 'de 10 dakika santrifüj edilmiştir (75, 95, 103). Yüksek devirde ve uzun sürelerde santrifüj zaman alıcıdır ve tüplerin kırılma ihtimali artabilir. Özgün ve ark.'nın çalışmasında,  $6000\ \text{g}$ 'de 10 dakika ve  $18000\ \text{g}$ 'de 10 dakika santrifügasyon sonrasında supernatanların spektrofotometrik okumaları arasında fark bulunmadığı görülmüştür (105). Bu veriden yola çıkarak çalışmamızda Takahashi ve ark.'nın çalışmasındaki santrifüj hızına uyulmadı. Çalışmamızda Özgün ve ark.'nın çalışmasına uygun şekilde 10 dakika boyunca  $4\ ^\circ\text{C}$ 'de  $1500\ \text{g}$ 'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir.

Enzimin optimum aktivitesi için enzim analizlerinde en uygun pH'de bir tampon kullanılır. Yapılan çalışmalarda HYAL'in optimum pH'si için kullanılan tampon pH'si 2-5 arasında değişir. Kucur ve ark.'ları, Natowicz ve ark.'ları, Laudat ve ark.'ları çalışmalarında pH: 3.9 kullanmışlardır (101, 102, 104). Serum HYAL'in optimum pH'sinin, lizozomal enzimin pH'si (pH: 3.5) ile benzer olduğu ve testiküler HYAL'in pH'sinden (pH: 4.5-6) farklı olduğu bildirilmiştir (103). HYALa çalışma yöntemimizde pH: 3.9 kullanıldı. Bu pH'nin tercih edilmesinin sebebi serum HYALa'nın ağırlıklı olarak lizozomal kaynaklı olduğunun düşünülmesidir.

Yine farklı çalışmalarda 0.8 M tetraborat çözeltisinin pH değerleri 9.5 ile 11 arasında değişmektedir. Çalışmamızda pH: 10.5 kullanıldı. Kullanılan kimyasal ve yapılan işlem Takahashi ve ark. ile benzerdir (95). Muckenschnabel ve ark. alkali borat solüsyonunu borik asit ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), potasyum hidroksit (KOH) ve potasyum karbonat ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) kullanarak hazırlamışlar ve pH: 9.1'e ayarlamışlardır (75). Reissig ve ark. ise pH: 8.9'u tercih etmişlerdir (92).

DMAB ayırıcının hazırlanmasında da farklılıklar görülmektedir. Yapılan çalışmaların tamamında DMAB stok çözeltisi, belli bir miktar DMAB'nin, konsantre HCl asit ve asetik asit içeren çözeltide çözünmesiyle hazırlanır. Çalışmadan

hemen önce stok ayıraç, asetik asitle seyreltilerek taze kullanılır. DMAB ayırıcının hazırlanışındaki fark DMAB miktarı ve stoktaki konsantre HCl asit ve asetik asit oranlarından veya çalışma ayırıcının seyretme oranından kaynaklanmaktadır. Sharma ve ark.'nın çalışmasında, 1 g DMAB 1/9 oranında HCl/asetik asit karışımında çözülerek stok hazırlanmış ve çalışma sırasında bu stok 1/9 oranında asetik asitle seyreltilmiştir (106). Reissig ve ark.'nın çalışmasında, 10 g DMAB 12.5/87.5 oranında HCl/asetik asit olacak şekilde stok hazırlanıp çalışma anında stoktan 1/9 oranında asetik asitle seyreltilmiştir (92). Muckenschnabel ve ark.'nın çalışmasında, 20 g DMAB 25/75 oranında HCl/asetik asit olacak şekilde stok hazırlanıp çalışma anında stoktan 1/4 oranında asetik asitle seyreltilmiştir (75). Çalışmamızda stok çözelti, 10 g DMAB'nin %12.5 10 N HCl ve %87.5 asetik asit çözeltisinde çözülmesiyle hazırlandı. Çalışma sırasında 1/9 oranında asetik asit ile seyrelterek kullanıldı.

Çalışmalar arasındaki bir başka farklılık da ortamdaki substrat konsantrasyonundan kaynaklanmaktadır. HYAL enzimi substrat olarak HA'yı kullanır. Wilkinson ve ark. 4 mg/mL; Kucur ve ark., Natowicz ve ark., Laudat ve ark. 250 mg/L; Sharma ve ark. 50 mg/L ve Takahashi ve ark. ise 1,5 mg/mL HA konsantrasyonu kullanmışlardır. Substrat konsantrasyonu enzim hızını etkiler. Rutin çalışmalarda enzimler için yeterli substrat miktarı yaklaşık olarak 10 Km'dir. HYAL-1, insan plazmasından izole edilen ve karakterize edilen ilk HYAL'dir ve tümörlerde eksprese edilen ve sadece asidik pH'lerde aktif olan majör HYAL'dir. Natowicz ve ark. tarafından HYAL enziminin pH= 3.9'daki Km'sinin 114 mg/L, Vmax'ının ise 5102 mU/L olduğu bulunmuştur (104). Böylece HYAL enzimi için yeterli substrat konsantrasyonunun en az 1140 mg/L olacağı düşünülebilir. Buradan hareketle çalışmamızda HA miktarı 1.5 mg/mL (1500 mg/L) olacak şekilde substrat tamponu hazırlandı ve 50 µL serum örneği kullanıldı.

İnkübasyon sürelerindeki farklılıklara örnek olarak; Wilkinson ve ark. 37 °C'de 24 saat; Natowicz ve ark., Laudat ve ark., Kucur ve ark. 37 °C'de 4 saat; Takahashi ve ark. ise 37 °C'de 15 dakika inkübasyon süresi kullanmışlardır (95, 101-104). Ancak, uzun bir ön inkübasyon süresi enzim inhibisyonuna yol açabilir. Sonuç verme süresini uzatarak tanı ve tedaviyi geciktirebilir.

Çalışmamızın hasta grubu, idrarda kanama olması, idrar yaparken yanma ve ağrı, kasıklarda ağrı, sık idrar yapma veya alt üriner sistem şikayetiyle Üroloji Kliniği'ne başvuran kişilerden seçildi. Hasta grupları ileri inceleme olarak yapılan prostat biyopsi sonucuna tanı konulan 141 kişiden oluşmaktaydı (63 BPH, 45 KrP, 33 PK). Bu kişilerin demografik özelliklerini inceleyecek olursak 56'sında DM, HT ve/veya KAH mevcuttu. HYAL düzeyleri yüksek olabilecek başka tümör tanısı konulan, karaciğer hastalığı, romatolojik hastalıklar, transplant hastaları, dermatolojik rahatsızlığı ve kollajen doku hastalığı olanlar hasta gruplarına dahil edilmedi. Kontrol grubuna ise tamamen sağlıklı olan 30 birey dahil edildi.

### **5.1. GRUPLAR ARASINDA SERUM HYAL AKTİVİTESİ VE KONSANTRASYONU KARŞILAŞTIRILMASI**

Kontrol grubu ve hasta gruplarına (BPH, KrP, PK) ait serum HYALa ve HYALc ölçümleri değerlendirildiğinde PK grubunda serum HYAL düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır (p <0.01).

Çalışmamızda hasta gruplarının 56'sında DM, HT ve/veya KAH öyküsü bulunmaktadır, bu üç klinik durumun serum HYAL düzeylerini arttırdığı bilinmektedir (101). Bu hastalıkları olan vakaları dışladıktan sonra yapılan karşılaştırmalarda da benzer olarak serum HYAL düzeylerinin kanser grubunda anlamlı yüksek olduğu (p <0.01) ve kontrol grubu ile BPH grubu arasında anlamlı fark olmadığı saptandı (p >0.05). Bu bulgular ışığında, serum HYAL düzeyleri ölçümünün kanser grubu ile benign gruplar arasında iyi bir ayırım yapabildiği düşünülebilir. Hem PK dışı tüm hastalıklar dışlandığında hem de dışlama yapılmadığında benzer olarak saptanan sonuçlarımız, serum HYAL düzeylerinin PK tanı ve takibi için değerini artırdığını düşündürmektedir.

Dokularda, vücut sıvılarında ve hücre kültürlerinde HYALa ölçümü "ELISA-like" yöntemi sayesinde mümkün olmuştur (100). Bu testin modifiye bir versiyonu prostat ve mesane kanseri olan hastalarda doku ve hücrelerde, mesane kanseri olan hastalarda idrarda HYALa ölçmek için kullanılmıştır (23, 98). PK'de HYALa'nın incelendiği birçok çalışma vardır. Bu çalışmaların tümü doku düzeyinde çalışmalardır. Literatürde PK'de serumda yapılan bir çalışma yoktur. Lokeshwar ve ark.'ları normal prostat dokusu ve BPH dokularına kıyasla, PK'li tümör dokularında HYALa'nın 3-10 kat arttığını göstermişlerdir. PK'de yüksek düzeyde HYAL-1 eksprese eden hücrelerin

varlığı, hastalığın malign ve agresif ilerleyeceğine işaret eder (23). Birçok çalışmada klinik lokalize PK'de incelenen radikal prostatektomi örneklerinde, artan HYAL-1 düzeylerinin rekürrensizin bağımsız prediktörü olduğu gösterilmiştir (15, 16, 19, 82). HYAL-1 enzimi PK'de, tümör hücrelerinin büyümesini, anjiogenez, vasküler ve lenfatik invazyonu teşvik eder. Yüksek HYAL düzeyleri, tümör hücrelerinin invaziv ve metastatik özellikleriyle koreledir (18, 20, 22, 83, 84). PK tanısında yeni bir biyobelirteç olarak, idrar HYALc ölçümlerinin yararlı olduğunu gösteren bir çalışma bulunmaktadır (97). Bu çalışmada Skarmoutsos ve ark.'ları PK tanısında idrar HYALc'nun klinik performansını değerlendirmişlerdir. Çalışmada HYALc duyarlılığı %70, özgüllüğü %55 ve LR (+) değeri 3.67 bulunmuştur.

Çalışmamızda serum örneklerinde HYALa ve HYALc ölçümleri kanser hastalarında benign gruplara kıyasla anlamlı yüksek saptanmıştır (p <0.05). Literatürde serum örneği ile karşılaştırma yapabileceğimiz bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden doku ve idrarda yapılan diğer çalışmalarla kıyaslandığında sonuçlarımız literatür ile uyumludur.

Kontrol ve BPH grupları arasında her iki ölçüm yönteminde anlamlı fark saptanmadı (p >0.05). KrP grubunda, kontrol ve BPH gruplarına kıyasla serum HYALc ölçümünde fark saptanmadı (p >0.05). Ancak HYALa ölçümünde anlamlı yükseklik saptanmıştır (p <0.05). Bu durumun KrP grubunda görülen enflamatuvar duruma bağlı enzim aktivite artışı ile ilişkili olabileceğini düşündük.

Enflamatuvar hastalıklarda serum HA seviyelerinde patolojik artışlar olabilmektedir. Yüksek moleküler ağırlıklı doku HA'ları; kimyasal, mekanik veya normal doku organizasyonunda görüldüğü gibi HYAL enzimleri ile yıkılabilmektedir (70, 107-109). Yapılan çalışmalar, çoğalan ve göç eden hücreleri çevreleyen perisellüler matrikslerin HA'dan oldukça zengin olduğunu göstermiştir (110, 111). Buradan anlaşılacağı üzere normal doku organizasyonu ve işlevi için HA sentezi ve yıkımı arasındaki denge önem arz etmektedir. HA yıkımının diğer ESM moleküllerine kıyasla nispeten hızlı olduğu bulunmuştur (110, 112). Bu gözlemlerden yola çıkarak, patolojik koşullarda HA katabolizmasının, HYALa'daki artışa ve katabolik yol boyunca üretilen ürünlere bağlı olduğu sonucuna varılabilir. Prostat parankimi içerisinde enflamatuvar hücrelerin sayısında artış saptanması histopatolojik prostatit olarak tanımlanmaktadır. Otopsi serilerinde bilinen bir prostat hastalığı olmayan

olguların prostat dokusu örneklerinin %44'ünde enflamasyon bulunmuştur (57). Kronik enflamasyon paternleri, prostat hastalığı bulunan veya bulunmayan hastaların prostat dokularında görülebilir. En sık görülen enflamasyon şekli stromada yer alan, prostat asinilerinin hemen yakınındaki lenfositik infiltrasyondur. Çalışmamızda biyopsi yapılan hastaların %33'ü prostatit tanısı almıştır. Bu bilgilerden yola çıkarak prostat dokusunda enflamasyona bağlı HA artışıyla birlikte, KrP hasta grubunda HYAL enziminde aktivite artışı beklenmektedir. Çalışmamızda KrP grubundaki HYALa'nın kontrol ve BPH grubuna göre anlamlı yüksek saptanması bu düşüncemizi desteklemektedir. HYALc için kontrol grubu ve benign hasta grupları arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Bu üç grup için enzim konsantrasyonunun birbirine benzer olduğunu, ancak HYALa ölçüm yöntemi ile KrP grubunda HYALa'nın diğer gruplara göre artış gösterdiğini düşünmekteyiz.

Kontrol grubunda gri zonda birey olmadığından; kontrol grubu gri zon değerlendirmesine alınmamıştır. Gri zondaki hastalar değerlendirildiğinde, kanser grubunda serum HYAL düzeylerinin benign gruplara göre anlamlı yüksek olduğu görülmüştür ( $p < 0.05$ ). HYAL düzeyinin PSA düzeyleri düşük olan hasta grubunda da malign-benign hastalık ayırımında etkili olabileceği düşünülmektedir. Literatürde gri zondaki verilerimizin karşılaştırılabileceği bir çalışma yoktur. PK'de gri zonda serum HYAL düzeylerinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır.

## **5.2. GRUPLAR ARASINDA TOTAL PSA ÖLÇÜMLERİ KARŞILAŞTIRILMASI**

Kontrol grubu ve hasta gruplarına ait serum total PSA düzeyi ölçümleri değerlendirildiğinde; BPH ile KrP grubu arasında fark saptanmazken ( $p > 0.05$ ), diğer tüm grupların arasında anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0.05$ ). Kanser grubunda serum total PSA düzeyinin diğer benign gruplara göre anlamlı yüksek olduğu görülmüştür ( $p < 0.01$ ). Gri zon değerlendirilmesinde serum total PSA ölçümünde tüm gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Grup içi incelemelerde BPH ile PK grubu arasında anlamlı fark saptanmıştır. Gri zonda olan hastalarda serum total PSA düzeyi, PK grubunda BPH grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Ancak gri zonda PK hastalarını BPH'den ayırt etmede serum PSA düzeyleri anlamlı gelmiş olsa da p değerinin istatistiksel gücünün düştüğü görüldü. Total hasta gruplarının değerlendirmesinde serum PSA için, PK-BPH ayırımında p değeri,  $p < 0.01$  iken, gri

zon için  $p=0.025$  saptanmıştır. PK tanısında serum PSA organa özgü bir belirteç olduğu için duyarlılığı yüksek iken, özellikle düşük PSA düzeylerinde özgüllüğü düşüktür. Gri zonda bu durum belirgin hale gelmektedir.

PSA'nın klinik kullanıma girmesi ile PK teşhisinde çok büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Hastalara erken dönemde kanser tanısı koymak mümkün hale gelmiştir. Öte yandan PSA'nın PK taramasındaki bu önemli etkisi, sonuçta klinik açıdan önemsiz sayılabilecek kanserlerin aşırı tedavi almasına yol açmıştır (8). PSA ile ilgili süregelen tartışma PK tanısında  $4 \mu\text{g/L}$  sınırının geçerli olup olmadığıdır. PSA halen ürolojide kullanılmakta olan önemli belirteçlerden biridir. PSA PK'de taramada, tanıda, evrelemede ve tedavi sonrası izlemde yaygın olarak kullanılmaktadır. 1990'lı yılların başında PK tanısı için  $4 \mu\text{g/L}$  değeri kesim değeri olarak kabul görmeye başlamıştır. Bu değer aynı zamanda PRM'si normal olan erkeklerde prostat biyopsi endikasyonu için de sınır olarak değerlendirilse de halen mutlak tanı koyduracak PSA kesim değeri bulunmamaktadır (7, 34).

PK tanısı amacıyla PSA kesim değerinin düşürülmesi ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. 1997 yılında PSA  $2.5-4.0 \mu\text{g/L}$  aralığında olan ve PRM bulguları tamamen normal olan hastalarda %22 oranında kanser saptanabileceği gösterilmiştir (43). Böylece  $2.5 \mu\text{g/L}$  değeri klinikte yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Bu konuda önemli sonuçlar doğuran PCPT çalışmasında ise PSA düzeyi  $4 \mu\text{g/L}$ 'nin altında olan erkeklerde %15.2 oranında kanser saptanmıştır. Saptanan kanserlerin patolojik özelliklerine bakıldığında çoğu düşük grade'li olmakla birlikte azımsanmayacak oranda yüksek grade'li kanser varlığı görülmektedir (113). Diğer bir çalışmada PSA düzeyi  $2.0-3.9 \mu\text{g/L}$  olan hastalarda, bu aralıkta azımsanmayacak oranda (%21) kanser saptandığı, bu kanserlerin %24'ünün Gleason skoru 7 veya üzerinde olduğu bulunmuştur (114). Çalışmamızda  $2.6-4.0 \mu\text{g/L}$  aralığında kanser saptanma oranı, literatür ile uyumlu olarak %15.3 bulunmuştur. PSA düzeyi bu aralıkta olan on üç hastadan iki hasta kanser tanısı almıştır. Bu hastaların PSA düzeyleri 2.93 ve  $3.84 \mu\text{g/L}$ 'dir. Ancak çalışmamızda, bu iki hastaya kanser tanısı koyabilmek için %84 oranında hastaya gereksiz biyopsi yapılmıştır.

Gri zon olarak tanımlanan aralıkta yapılan çalışmalara bakacak olursak PSA düzeyi  $4-10 \mu\text{g/L}$  arasındaki erkeklerin %25-40'ı PK olup, %60-75'ine de gereksiz biyopsi yapılmaktadır (34, 42). Gilbert ve ark.'ları 36.316 prostat biyopsisininin

sonuçlarını değerlendirdikleri çalışmada PSA düzeyi 4.0-10.0 µg/L olan grupta kanser saptanma oranını %30.08 olarak bulmuşlardır (115). Avusturya Tyrol Tarama çalışma verileri de bu bulguları desteklemektedir. Bu çalışmada serum PSA düzeyi 4-10 µg/L arasında olan hastalarda kanser saptanma oranı %30 olarak tespit edilmiştir (114). Literatüre bakıldığında gri zonda kanser saptanma oranı çalışmamızda daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızda serum PSA düzeyi 4-10 µg/L arasında olan hastalarda kanser saptanma oranı %16 olarak bulunmuş olup, gri zondaki erkeklerin %84'üne gereksiz biyopsi yapılmıştır.

Avrupa Üroloji Derneği (EAU) PK kılavuzuna göre, normal PSA düzeyi dedirtecek bir kesim değeri henüz yoktur fakat genç erkeklerde PSA <2.5-3.0 µg/L normal olarak kabul edilebileceği Grade C tavsiye olarak belirtilmiştir (Grade C; tavsiye edilmekle birlikte bu konuda kesin sonuçlara varmak için çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır) (7).

### **5.3. KANSER HASTALARININ GLEASON SKORLARINA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Gleason Skorlarına göre gruplandırılan PK hastalarında gruplar arasında serum HYALa ve HYALc açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p >0.05). Gruplarda veri sayısının düşmesi ve veri dağılımının büyük olması istatistiksel farkı etkilediği için sadece Grade Grup 1 ve 5 arasında değerlendirme yapılmıştır. HYALa için iki grup arasında anlamlı fark saptanırken (p <0.05), HYALc için anlamlı fark saptanmamıştır (p >0.05). HYALc değerlendirilmesinde veri sayımızın düşük olmasının (Grade Grup 1: n=14; Grade Grup 5: n=5) çalışmamızın zayıf yönü olduğu ve daha fazla hasta sayısı ile daha anlamlı sonuçlar elde edilebileceği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda PK'de yüksek HYAL düzeyleri rapor edilmiştir (19, 23). Lokeshwar ve ark.'larının yaptıkları çalışma ilk kez tümör progresyonu ve HYAL düzeyleri arasında bağlantı kurmuştur. Bu çalışmada, düşük grade'li (Gleason skoru 5-7) PK dokularıyla karşılaştırıldığında yüksek grade'li (Gleason skoru >7) PK dokularında 3-7 kat artmış HYALa bulmuşlardır. Metastatik PK lezyonlarında, yüksek grade'li primer tümörlere oranla artmış HYALa gösterilmiştir. Prostat tümör dokusunda eksprese edilen HYAL'in tümör progresyonuyla ilişkili olduğu ve artan HYAL düzeylerin tümörün agresif potansiyelini gösterdiği sonucuna varılmıştır (23). Çalışmamızda Gleason skorlarına göre değerlendirdiğimiz hastalarda anlamlı fark

bulunmamıştır. Bu durumun yüksek dereceli hasta sayımızın yetersiz olmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Bu yüzden sadece en düşük ve yüksek dereceli grupları karşılaştırdığımızda HYALa için bulgularımız literatür ile uyumlu gözükmektedir. Bu konuda daha fazla hasta sayısı ile yapılan ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu ve bu çalışmalarla bulgularımızın desteklenebileceği düşünülmektedir.

Serum total PSA düzeyi için Gleason grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p < 0.05$ ). Özellikle Grade Grup 5'te serum PSA düzeylerinin diğer gruplara göre anlamlı yüksek olduğu görülmüştür ( $p < 0.05$ ). PK'de Gleason skor değerlendirmesinde HYAL ölçümleri için yaptığımız istatistiksel elemeyi, serum PSA düzeyi için uyguladığımızda ve uç değerleri dışladığımızda; Grade Grup 1 ile 5 arasındaki anlamlılık bozulmamıştır ( $p < 0.05$ ). PSA düzeyi arttıkça kanser saptanma oranı, özellikle yüksek grade'li kanser oranı artmaktadır (113, 116-118). Bu da verilerimizin literatür ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

#### **5.4. GRUPLARDA HYAL DÜZEYLERİ İLE PSA ARASINDAKİ İLİŞKİ VE YAŞ KORELASYONLARI**

PK, esas olarak yaşlı erkeklerde görülen bir hastalıktır. Yeni PK tanısı konulmuş erkeklerin %75'ini 65 yaşın üstü erkekler oluşturmaktadır. 50-59 yaş arası erkeklerde PK insidansı 1970'lerden bugüne belirgin bir şekilde artış göstermektedir. Bu artma eğilimi tarama çalışmalarının neticesinde oluşmuştur. Böylece yeni PK'ye daha erken yaşta tanı konulur hale gelmiştir. Çalışmamızda tüm vakalar incelendiğinde yaş ile HYALa, HYALc ve total PSA arasında zayıf ama anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur. Çalışmamızda kontrol ve hasta gruplarının yaşları arasında anlamlı fark saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). Çalışmamızdaki bulguların ışığı altında literatürle uyumlu olarak, yeni tanı konulan PK'nin giderek orta yaş hastalığı olmaya başladığını söyleyebiliriz (119). Yapılan çalışmalarda serum HYAL düzeyleri arasında yaş ve cinsiyet incelendiğinde anlamlı fark bulunmamıştır (93, 103). Bu da serumdaki HYAL'in kaynağının testiküler doku olmadığını desteklemektedir. Verilerimiz literatür ile uyumludur. Tüm hastalar değerlendirildiğinde serum HYALa ve HYALc ile total PSA arasında pozitif yönde zayıf korelasyon saptanmıştır (sırasıyla  $r=0.405$ ,  $p < 0.05$ ;  $r=0.344$ ,  $p < 0.05$ ). Serum HYALa ve HYALc arasında ise pozitif yönde güçlü korelasyon saptanmıştır ( $r=0.743$ ,  $p < 0.01$ ). Sonuçlarımız iki yöntemin birbiriyle uyumlu olduğunu göstermektedir.

## 5.5. HYAL AKTİVİTESİ ÖLÇÜM YÖNTEMİ ANALİTİK PERFORMANSI

Serum HYALa ağırlıklı olarak lizozomal kaynaklıdır. Ama serumda testiküler kaynaklı HYAL de bulunmaktadır. Bu iki enzimin optimum pH'leri farklıdır. PK açısından lizozomal kaynaklı enzim aktivitesindeki değişiklikler daha anlamlıdır. Bu yüzden, reaksiyon ortamının lizozomal enzim optimum pH'sine yakın olması önemlidir. Bu veriler doğrultusunda çalışmamızda lizozomal enzim için optimum pH 3.9 olarak tercih edilmiştir.

Yöntemde son olarak oluşan renkli ürün kararlı değildir. Bu ürün zamanla henüz tanımlanmamış başka bileşiklere dönüşebildiği için, spektrofotometrik okumaların hızlı yapılması (30 dakika içinde) önemlidir. Çalışmamız manuel olduğu için bu süreler dikkat edilerek tek seferde en fazla 40 örnek çalışılmıştır.

Çalışmamızda HYALa ölçüm yönteminin analitik performans değerlendirilmesi kesinlik, doğruluk, geri kazanım, tespit ve tayin sınırları belirleme çalışmaları ile yapıldı. Doğruluk çalışmasında yöntemin 8645 mU/L'ye kadar lineer olduğu görüldü. LOB, LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 1087, 1217, 1745 mU/L olarak belirlendi. Sağlıklı bireylerde normalde serum HYALa'nın çok düşük olduğu ve bazı çalışmalarda da sağlıklı bireylerde HYALa'nın saptanamayacağı belirtilmiştir (103). Çalışmamızda LOD değerinin altında serum HYALa'ne sahip numune yoktu.

Kesinlik çalışmasında hesaplanan çalışmalar arası ve günler arası % CV değerleri sırasıyla, düşük seviye için %7.65, %10.01, orta seviye için %9.42, %9.75 ve yüksek seviye için %7.22, %8.19'dur. Yapılan bir çalışmada gün içi CV düşük seviye %4.6, yüksek seviye %7.4 ve günler arası CV %8.4 bulunmuştur (104). Manuel ve enzimatik bir test için bulduğumuz veriler yöntemin kesinliğinin kabul edilebilir olduğunu gösterir. Sonuçlar literatür bilgisiyle uyumlu bulunmuştur.

HYALa için henüz referans ölçüm yöntemi yoktur ve referans materyal de bulunmamaktadır. Bu yüzden, yöntemin doğruluğunu test etmek için geri kazanım çalışmaları yapıldı. Ortalama % geri kazanım 100.19 olarak hesaplandı. Çalışma sonuçlarına göre yöntemin doğruluğunun kabul edilebilir olduğunu söylemek mümkündür.

## 5.6. HYAL DÜZEYLERİ VE TOTAL PSA KLİNİK PERFORMANSI

HYAL yönteminin ve PSA'nın klinik performansını değerlendirmek için, çalışmamızda duyarlılık, özgüllük, ROC analizi, kesim değeri ve olabilirlik oranlarına bakılmıştır.

ROC analizinde AUC sırasıyla, HYALa için 0.866 (%95 CI: 0.807-0.926), HYALc için 0.826 (%95 CI= 0.719-0.933), PSA için 0.813 (%95 CI: 0.718-0.908) bulunmuştur. AUC'nin 1'e yakın olması testin diyagnostik gücünün çok yüksek olduğunu göstermektedir.

ROC grafiğinin koordinatları üzerinden en uygun kesim değeri sırasıyla, HYALa için 3047 mU/L, HYALc için 11.43 ng/mL, PSA için 8.03 µg/L hesaplanmıştır.

Bu kesim değerlerine göre testin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla, HYALa için %88 ve %71, HYALc için %82 ve %89, PSA için %79 ve %71 olarak belirlenmiştir.

LR(+) ve LR(-) oranları sırasıyla, HYALa için 3 ve 0.1, HYALc için 8 ve 0.2, PSA için 3 ve 0.2 hesaplanmıştır. HYALc'nin LR(+) 'in 10'a yakın olması ve LR(-)'in de 0.1'e yakın olması testin klinik performansının çok iyi olduğunu göstermektedir.

Serum HYAL düzeylerinin klinik performansı literatürle uyumludur. Lokeshwar ve ark. PK'de inceledikleri radikal prostatektomi örneklerinde HYALa için duyarlılığı %84, özgüllüğü %80.5 bulmuşlardır (82). Skarmoutsos ve ark. PK'de inceledikleri idrar örneklerinde HYALc için duyarlılığı %70, özgüllüğü %55.2, LR (+) değerini 3.67 bulmuşlardır (97). Araştırmamıza göre literatürde PK hastalarında serumla karşılaştırma yapabileceğimiz bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak sonuçlarımızı kanserli tümör dokularında ve kanserli hastaların idrarında yapılan çalışmalarla karşılaştırdığımızda, bulgularımız literatür ile uyum göstermektedir.

Gri zonda olan hastaların serum HYALa, HYALc ve PSA düzeylerinin ROC analizi ayrıca yapılmıştır. Eğri altında kalan alan HYALa ve HYALc için benzer bulunurken; PSA'nın eğri altında kalan alanı gri zonda azalmıştır. HYAL düzeylerinin kanseri benign hastalıklardan ayırma gücü gri zonda da yüksek saptanmıştır. Literatürle de uyumlu olarak PSA'nın gri zonda tanısal yeterliliğinde azalma görülmüştür. Catalona ve ark.'nın 4 µg/L kesim değerinin yaygın kabul görmesini sağlayan ve FDA onayına referans olan çalışmasında çok daha düşük özgüllük oranı rapor edilmiştir (duyarlılık %82, özgüllük %48) (46). Çalışmamızda PSA için

literatürde önerilen kesim değeri 4 µg/L olarak alındığında ise duyarlılık %94'e yükselirken, özgüllük %14'e kadar düşmektedir.

Gri zondaki hastalar ayrıca incelendiğinde testin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla HYALa için %75 ve %78, HYALc için %83 ve %85, PSA için %75 ve %55 olarak belirlenmiştir. Literatürle uyumlu olan bulgularımız PSA'nın düşük düzeylerde tanısız özgüllüğünün azaldığını göstermektedir. Hem HYALa hem de HYALc ölçümlerinin duyarlılık ve özgüllüğünün PSA'ya göre yüksek saptanması gelecekte HYAL'in PK tanısında önemli bir yer tutabileceğini ve PSA'nın yerini alabileceğini düşündürmektedir.

HYALa ve HYALc'nin laboratuvar şartlarında ölçülebilmesi, HYALa ölçümünün analitik ve klinik performans özelliklerinin iyi olması rutin çalışmalar için bu yöntemi uygun kılmaktadır. Ancak HYALa ölçümünde çok sayıda işlem basamağının olması, inkübasyon süresinin ve sıcaklığının fazla olması nedeniyle kolorimetrik yöntemi otomatize etmek zordur. Bu da HYALa ölçümlerinin klinik kullanıma girmesini kısıtlamaktadır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda hem serum HYALa hem de HYALc'nin PK hastalarında benign hasta gruplarına göre anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca HYALa ve HYALc ölçümleri arasında pozitif yönde güçlü korelasyon bulunmuştur.

Çalışmamızdaki önemli bir bulgu, gri bölge olarak tarif edilen ve serum PSA'nın 4-10 µg/L aralığında olduğu hastalarda serum HYAL düzeylerinin PK'yi benign durumlardan ayırt edebilme gücü olarak gözükmemektedir. Çalışmamızda PSA'nın düşük değerlerde tanısız özgüllüğünün azaldığının belirlenmesi ve hem HYALa hem de HYALc ölçümlerinin duyarlılık ve özgüllüğünün PSA'ya göre gri zondaki hastalar için yüksek saptanması gelecekte HYAL'in PK tanısında önemli bir yer tutabileceğini ve PSA'nın yerini alabileceğini göstermektedir. Buna rağmen HYAL ile ilgili geniş hasta grupları ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Dolayısıyla gelecekteki çalışmalarda alt üriner sistem şikayetleriyle kliniğe başvuran hastalarda yapılacak serum HYAL ölçümlerinin PSA, klinik muayene ve TRUS ile kombine edilmesi, PK tanısında HYAL'in önemini belirlemede yol gösterici olacaktır.

HYALa ölçümünde önemli bir zorluk HA'nın yapısının viskozitesi nedeniyle, HA konsantrasyonunun arttıkça (özellikle >4 mg/mL) pipetlemede güçlük yaşanmasıdır ve bu durumda ters pipetleme işleminin yapılması önerilmektedir (103). Yüksek HA konsantrasyonlarında yanlış pipetlemeye bağlı analitik hata oluşabilmektedir. Bu yüzden çalışmamızda substrat tampon çözeltisi hazırlanırken optimum HA konsantrasyonu (1.5 mg/mL) kullanılmıştır. Dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta renkli son ürünün stabil olmamasıdır. Bu yüzden örneklerin santrifüj işleminden sonra spektrofotometrede bekletilmeden okutulması gerekmektedir. Absorbansın 30 dakikaya kadar değişmediğini gösteren kaynaklar bulunmaktadır (101-104).

Kanser hastalarımızı Gleason skorlarına göre gruplandırdığımızda alt gruplardaki hasta sayılarının azalması çalışmamızın önemli bir kısıtlaması olarak görülmektedir. Buna karşılık, çalışmamızda HYAL aktivite ve kütle ölçümlerinin karşılaştırılması çalışmamızın güçlü yönü olarak düşünülmektedir.

Sonuç olarak serum HYAL ölçümlerinin PSA, klinik muayene ve TRUS ile beraber kullanılmasının, PK tanısında yol gösterici olduğunu düşünmekteyiz. Gelecek çalışmalarda, daha büyük hasta gruplarında periyodik aralıklarla yapılan HYAL ölçümleri ile HYAL ve PK arasındaki ilişkinin daha net bir şekilde tanımlanması mümkün gözükmemektedir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Zorlu F, Zorlu R, Divrik RT, Eser S, Yorukoglu K. Prostate cancer incidence in Turkey: an epidemiological study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(21):9125-30.
3. Chan JM, Jou RM, Carroll PR. The relative impact and future burden of prostate cancer in the United States. *J Urol.* 2004;172(5 Pt 2):S13-6.
4. Donovan JL, Kay HE, Peters TJ, Abrams P, Coast J, Matos-Ferreira A et al. Using the ICSOoL to measure the impact of lower urinary tract symptoms on quality of life: evidence from the ICS-BPH Study. *International Continence Society--Benign Prostatic Hyperplasia. Br J Urol* 1997;80(5):712-21.
5. Wirth M, Fossati N, Albers P, Bangma C, Brausi M, Comperat E et al. The European Prostate Cancer Centres of Excellence: A Novel Proposal from the European Association of Urology Prostate Cancer Centre Consensus Meeting. *European urology.* 2019.
6. Gerber GS, Chodak GW. Routine screening for cancer of the prostate. *J Natl Cancer Inst.* 1991;83(5):329-35.
7. Aus G, Abbou CC, Bolla M, Heidenreich A, Schmid HP, van Poppel H et al. European Association of U. EAU guidelines on prostate cancer. *Eur Urol.* 2005;48(4):546-51.
8. Etzioni R, Penson DF, Legler JM, di Tommaso D, Boer R, Gann PH et al. Overdiagnosis Due to Prostate-Specific Antigen Screening: Lessons From U.S. Prostate Cancer Incidence Trends. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94(13):981-90.
9. Park HG, Ko OS, Kim YG, Park JK. Efficacy of Repeated Transrectal Prostate Biopsy in Men Younger Than 50 Years With an Elevated Prostate-Specific Antigen Concentration (>3.0 ng/mL): Risks and Benefits Based on Biopsy Results and Follow-up Status. *Korean J Urol.* 2014;55(4):249-53.
10. Tawfik A. Prostate-Specific Antigen (PSA)-Based Population Screening for Prostate Cancer: An Economic Analysis. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2015;15(11):1-37.
11. Loeb S, Carter HB, Berndt SI, Ricker W, Schaeffer EM. Complications after prostate biopsy: data from SEER-Medicare. *J Urol.* 2011;186(5):1830-4.
12. Sita-Lumsden A, Dart DA, J Waxman J, Bevan CL. Circulating microRNAs as potential new biomarkers for prostate cancer. *Br J Cancer.* 2013;108(10):1925-30.
13. Stamey TA, Caldwell M, McNeal JE, Nolley R, Hemenez M, Downs J.. The prostate specific antigen era in the United States is over for prostate cancer: what happened in the last 20 years? *J Urol.* 2004;172(4 Pt 1):1297-301.
14. Knudson W. Tumor-associated hyaluronan. Providing an extracellular matrix that facilitates invasion. *Am J Pathol.* 1996;148(6):1721-6.
15. Lokeshwar VB, Rubinowicz D, Schroeder GL, Forgacs E, Minna JD, Block NL et al. Stromal and epithelial expression of tumor markers hyaluronic acid and HYAL1 hyaluronidase in prostate cancer. *J Biol Chem.* 2001;276(15):11922-32.

16. Gomez CS, Gomez P, Knapp J, Jorda M, Soloway MS, Lokeshwar VB. Hyaluronic acid and HYAL-1 in prostate biopsy specimens: predictors of biochemical recurrence. *J Urol.* 2009;182(4):1350-6.
17. Lokeshwar VB, Young MJ, Goudarzi G, Iida N, Yudin AI, Cherr GN et al. Identification of bladder tumor-derived hyaluronidase: its similarity to HYAL1. *Cancer Res.* 1999;59(17):4464-70.
18. Chao KL, Muthukumar L, Herzberg O. Structure of human hyaluronidase-1, a hyaluronan hydrolyzing enzyme involved in tumor growth and angiogenesis. *Biochemistry.* 2007;46(23):6911-20.
19. Posey JT, Soloway MS, Ekici S, Sofer M, Civantos F, Duncan RC et al. Evaluation of the prognostic potential of hyaluronic acid and hyaluronidase (HYAL1) for prostate cancer. *Cancer Res.* 2003;63(10):2638-44.
20. Bharadwaj AG, Kovar JL, Loughman E, Elowsky C, Oakley GG, Simpson MA. Spontaneous Metastasis of Prostate Cancer Is Promoted by Excess Hyaluronan Synthesis and Processing. *Am J Pathol.* 2009;174(3):1027-36.
21. Bharadwaj AG, Rector K, Simpson MA. Inducible hyaluronan production reveals differential effects on prostate tumor cell growth and tumor angiogenesis. *J Biol Chem.* 2007;282(28):20561-72.
22. Patel S, Turner PR, Stubberfield C, Barry E, Rohlff CR, Stamps A et al. Hyaluronidase gene profiling and role of hyal-1 overexpression in an orthotopic model of prostate cancer. *Int J Cancer.* 2002;97(4):416-24.
23. Lokeshwar VB, Lokeshwar BL, Pham HT, Block NL. Association of elevated levels of hyaluronidase, a matrix-degrading enzyme, with prostate cancer progression. *Cancer Res.* 1996;56(3):651-7.
24. Frost GI, Csoka AB, Wong T, Stern R. Purification, cloning, and expression of human plasma hyaluronidase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;236(1):10-5.
25. Aboughalia AH. Elevation of hyaluronidase-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 helps select bladder cancer patients at risk of invasion. *Arch Med Res.* 2006;37(1):109-16.
26. Lokeshwar VB, Cerwinka WH, Lokeshwar BL. HYAL1 hyaluronidase: a molecular determinant of bladder tumor growth and invasion. *Cancer Res.* 2005;65(6):2243-50.
27. TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Kanser İstatistikleri 2017 Raporu. Erişim adresi: <https://kanser.gov.tr/>
28. Walsh PC RA, Vaughan ED, Wein AD. Campbell Uroloji. Prostat Karsinomu. 8. Baskı Güneş Kitabevi İstanbul. 2005: 3003-24.
29. Albertsen PC. Prostate-specific antigen: how to advise patients as the screening debate continues. *Cleve Clin J Med.* 2005;72(6):521-7.
30. Thompson IM, Ankerst DP. Prostate-specific antigen in the early detection of prostate cancer. *CMAJ.* 2007;176(13):1853-8.
31. Venderbos LD, Roobol MJ. PSA-based prostate cancer screening: the role of active surveillance and informed and shared decision making. *Asian J Androl.* 2011;13(2):219-24.
32. Hong SK. Kallikreins as biomarkers for prostate cancer. *Biomed Res Int.* 2014;2014:526341.
33. Chu KC, Tarone RE, Freeman HP. Trends in prostate cancer mortality among black men and white men in the United States. *Cancer.* 2003;97(6):1507-16.
34. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Dodds KM, Coplen DE, Yuan JJ et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med.* 1991;324(17):1156-61.

35. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med.* 1987;317(15):909-16.
36. Morote Robles J, de Torres Mateos JA, Soler-Rosello A. Analysis of the serum concentration of prostate-specific antigen as a biological marker in the evolution of disseminated prostatic cancer. *Actas Urol Esp.* 1988;12(2):152-7.
37. Ferguson RA, Yu H, Kalyvas M, Zammit S, Diamandis EP. Ultrasensitive detection of prostate-specific antigen by a time-resolved immunofluorometric assay and the Immulite immunochemiluminescent third-generation assay: potential applications in prostate and breast cancers. *Clin Chem.* 1996;42(5):675-84.
38. Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, Howes SC, Fournier DR, Song L et al. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol.* 2010;28(6):595-9.
39. Stephan C. Prostate cancer: WHO standardization of PSA tests: clinical consequences. *Nat Rev Urol.* 2009;6(6):303-5.
40. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC et al. Comparison of Digital Rectal Examination and Serum Prostate Specific Antigen in the Early Detection of Prostate Cancer: Results of a Multicenter Clinical Trial of 6,630 Men. *J Urol.* 2017;197(2S):200-7.
41. Kıyıcı A, Yücel D. Prostat kanserinde en önemli belirteç: PSA. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2002;27(1).
42. Andriole GL, Levin DL, Crawford ED, Gelmann EP, Pinsky PF, Chia D et al. Prostate Cancer Screening in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial: findings from the initial screening round of a randomized trial. *J Natl Cancer Inst.* 2005;97(6):433-8.
43. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. *Jama.* 1997;277(18):1452-5.
44. Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(8):529-34.
45. Nogueira L, Corradi R, Eastham JA. Prostatic specific antigen for prostate cancer detection. *Int Braz J Urol.* 2009;35(5):521-9.
46. Catalona WJ, Hudson MA, Scardino PT, Richie JP, Ahmann FR, Flanigan RC et al. Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs for early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol.* 1994;152(6 Pt 1):2037-42.
47. Grossman DC, Curry SJ, Owens DK, Bibbins-Domingo K, Caughey AB, Davidson KW et al. Screening for Prostate Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Jama.* 2018;319(18):1901-13.
48. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J Med.* 2012;366(11):981-90.
49. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL 3rd, Buys SS, Chia D, Church TR et al. Prostate cancer screening in the randomized Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial: mortality results after 13 years of follow-up. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(2):125-32.

50. Fleshner K, Carlsson SV, Roobol MJ. The effect of the USPSTF PSA screening recommendation on prostate cancer incidence patterns in the USA. *Nat Rev Urol.* 2017;14(1):26-37.
51. Fenner A. Prostate cancer: USPSTF screening recommendation could lead to greater numbers of avoidable deaths. *Nat Rev Urol.* 2014;11(9):481.
52. Drazer MW, Huo D, Eggener SE. National Prostate Cancer Screening Rates After the 2012 US Preventive Services Task Force Recommendation Discouraging Prostate-Specific Antigen-Based Screening. *J Clin Oncol.* 2015;33(22):2416-23.
53. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Zappa M, Nelen V et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet.* 2014;384(9959):2027-35.
54. Pinsky PF, Prorok PC, Yu K, Kramer BS, Black A, Gohagan JK et al. Extended mortality results for prostate cancer screening in the PLCO trial with median follow-up of 15 years. *Cancer.* 2017;123(4):592-9.
55. Parsons JK. Benign Prostatic Hyperplasia and Male Lower Urinary Tract Symptoms: Epidemiology and Risk Factors. *Curr Bladder Dysfunct Rep.* 2010;5(4):212-8.
56. Wei JT, Calhoun E, Jacobsen SJ. Urologic diseases in America project: benign prostatic hyperplasia. *J Urol.* 2005;173(4):1256-61.
57. Nickel JC. Prostatit ve benzeri hastalıklar. *Campbell-Walsh Üroloji.* 2014:327-57.
58. Kennedy CI, Diegelmann RF, Haynes JH, Yager DR. Proinflammatory cytokines differentially regulate hyaluronan synthase isoforms in fetal and adult fibroblasts. *J Pediatr Surg.* 2000;35(6):874-9.
59. Meyer K, Palmer JW. The polysaccharide of the vitreous humor. *J Biol Chem.* 1934;107:629-34.
60. Balazs EA, Laurent TC, Jeanloz RW. Nomenclature of hyaluronic acid. *Biochem J.* 1986;235(3):903.
61. J. Necas LB, P. Brauner, J. Kolar. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina* 2008;53(8):397-411.
62. Huang L, Cheng YY, Koo PL, Lee KM, Qin L, Cheng JC et al. The effect of hyaluronan on osteoblast proliferation and differentiation in rat calvarial-derived cell cultures. *J Biomed Mater Res A.* 2003;66(4):880-4.
63. Agrali OB, Yildirim S, Ozener HO, Kose KN, Ozbeyli D, Soluk-Tekkesin M et al. Evaluation of the Effectiveness of Esterified Hyaluronic Acid Fibers on Bone Regeneration in Rat Calvarial Defects. *Biomed Res Int.* 2018;2018:3874131.
64. Casale M, Moffa A, Vella P, Sabatino L, Capuano F, Salvinelli B et al. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2016;29(4):572-82.
65. Dicker KT, Gurski LA, Pradhan-Bhatt S, Witt RL, Farach-Carson MC, Jia X. Hyaluronan: a simple polysaccharide with diverse biological functions. *Acta Biomater.* 2014;10(4):1558-70.
66. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev.* 2011;91(1):221-64.
67. Laurent TC, Fraser JR. Hyaluronan. *FASEB J.* 1992;6(7):2397-404.
68. Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *J Intern Med.* 1997;242(1):27-33.

69. Durdu M, Bozca C, Koçer NE. Filler Reactions: Case Report and Review of the Literature. *Türk Dermatoloji Dergisi*. 2017;11:131-8.
70. Stern R. Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. *Eur J Cell Biol*. 2004;83(7):317-25.
71. Prince CW. Roles of hyaluronan in bone resorption. *BMC Musculoskelet Disord*. 2004;5:12.
72. Vigezzi D, Karousou E, Viola M, Deleonibus S, De Luca G, Passi A. Hyaluronan: biosynthesis and signaling. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1840(8):2452-9.
73. Yung S, Chan TM. Pathophysiology of the peritoneal membrane during peritoneal dialysis: the role of hyaluronan. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:180594.
74. Hobby GL, Dawson MH, Meyer K, Chaffee E. The Relationship between Spreading Factor and Hyaluronidase. *J Exp Med*. 1941;73(1):109-23.
75. Muckenschnabel I, Bernhardt G, Spruss T, Dietl B, Buschauer A. Quantitation of hyaluronidases by the Morgan-Elson reaction: comparison of the enzyme activities in the plasma of tumor patients and healthy volunteers. *Cancer letters*. 1998;131(1):13-20.
76. Csoka AB, Frost GI, Stern R. The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biol*. 2001;20(8):499-508.
77. Taylor KR, Trowbridge JM, Rudisill JA, Termeer CC, Simon JC, Gallo RL. Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR4. *J Biol Chem*. 2004;279(17):17079-84.
78. Xu H, Ito T, Tawada A, Maeda H, Yamanokuchi H, Isahara K et al. Effect of hyaluronan oligosaccharides on the expression of heat shock protein 72. *J Biol Chem*. 2002;277(19):17308-14.
79. Chanmee T, Ontong P, Itano N. Hyaluronan: A modulator of the tumor microenvironment. *Cancer letters*. 2016;375(1):20-30.
80. Bouga H, Tsouros I, Bounias D, Kyriakopoulou D, Stavropoulos MS, Papageorgakopoulou N et al. Involvement of hyaluronidases in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2010;10(1):499.
81. Liu D, Pearlman E, Diaconu E, Guo K, Mori H, Haqqi T et al. Expression of hyaluronidase by tumor cells induces angiogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(15):7832-7.
82. Ekici S, Cerwinka WH, Duncan R, Gomez P, Civantos F, Soloway MS et al. Comparison of the prognostic potential of hyaluronic acid, hyaluronidase (HYAL-1), CD44v6 and microvessel density for prostate cancer. *Int J Cancer*. 2004;112(1):121-9.
83. Lokeshwar VB, Cerwinka WH, Isoyama T, Lokeshwar BL. HYAL1 hyaluronidase in prostate cancer: a tumor promoter and suppressor. *Cancer Res*. 2005;65(17):7782-9.
84. Madan AK, Pang Y, Wilkiemeyer MB, Yu D, Beech DJ. Increased hyaluronidase expression in more aggressive prostate adenocarcinoma. *Oncol Rep*. 1999;6(6):1431-3.
85. Meyer K. The biological significance of hyaluronic acid and hyaluronidase. *Physiol Rev*. 1947;27(3):335-59.
86. Chain E, Duthie ES. Identity of Hyaluronidase and Spreading Factor. *Br J Exp Pathol*. 1940;21(6):324-38.
87. Warren GH, Durso JG. A synovial fluid clot prevention test for the determination of hyaluronidase activity. *Endocrinology*. 1951;48(4):408-12.

88. Kass EH, Seastone CV. The Role of the Mucoïd Polysaccharide (Hyaluronic Acid) in the Virulence of Group a Hemolytic Streptococci. *J Exp Med.* 1944;79(3):319-30.
89. Rapport MM, Meyer K, Linker A. Correlation of reductimetric and turbidimetric methods for hyaluronidase assay. *J Biol Chem.* 1950;186(2):615-23.
90. Elson LA, Morgan WT. A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine. *Biochem J.* 1933;27(6):1824-8.
91. Morgan WT, Elson LA. A colorimetric method for the determination of N-acetylglucosamine and N-acetylchondrosamine. *Biochem J.* 1934;28(3):988-95.
92. Reissig JL, Storminger JL, Leloir LF. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl amino sugars. *J Biol Chem.* 1955;217(2):959-66.
93. Gacesa P, Savitsky MJ, Dodgson KS, Olavesen AH. A recommended procedure for the estimation of bovine testicular hyaluronidase in the presence of human serum. *Anal Biochem.* 1981;118(1):76-84.
94. Bonner WM, Jr., Cantey EY. Colorimetric method for determination of serum hyaluronidase activity. *Clin Chim Acta.* 1966;13(6):746-52.
95. Takahashi T, Ikegami-Kawai M, Okuda R, Suzuki K. A fluorimetric Morgan–Elson assay method for hyaluronidase activity. *Anal Biochem.* 2003;322(2):257-63.
96. Asteriou T, Deschrevel B, Delpech B, Bertrand P, Bultelle F, Merai C et al. An improved assay for the N-acetyl-D-glucosamine reducing ends of polysaccharides in the presence of proteins. *Anal Biochem.* 2001;293(1):53-9.
97. Skarmoutsos I, Skarmoutsos A, Katafigiotis I, Tataki E, Giagini A, Adamakis I et al. Hyaluronic acid and hyaluronidase as possible novel urine biomarkers for the diagnosis of prostate cancer. *Med Oncol.* 2018;35(7):97.
98. Lokeshwar VB, Obek C, Pham HT, Wei D, Young MJ, Duncan RC et al. Urinary hyaluronic acid and hyaluronidase: markers for bladder cancer detection and evaluation of grade. *J Urol.* 2000;163(1):348-56.
99. Lokeshwar VB, Schroeder GL, Selzer MG, Hautmann SH, Posey JT, Duncan RC et al. Bladder tumor markers for monitoring recurrence and screening comparison of hyaluronic acid-hyaluronidase and BTA-Stat tests. *Cancer.* 2002;95(1):61-72.
100. Stern M, Stern R. An ELISA-like assay for hyaluronidase and hyaluronidase inhibitors. *Matrix.* 1992;12(5):397-403.
101. Kucur M, Karadag B, Isman FK, Ataev Y, Duman D, Karadag N et al. Plasma hyaluronidase activity as an indicator of atherosclerosis in patients with coronary artery disease. *Bratisl Lek Listy.* 2009;110(1):21-6.
102. Laudat A, Guechot J, Lecourbe K, Damade R, Palluel AM. Hyaluronidase activity in serum of patients with monoclonal gammopathy. *Clin Chim Acta.* 2000;301(1-2):159-67.
103. Wilkinson CR, Bower LM, Warren C. Measurement of hyaluronidase activity in normal human serum. *J Pharm Biomed Anal.* 1996;14(6):707-12.
104. Natowicz MR, Wang Y. Human serum hyaluronidase: characterization of a clinical assay. *Clin Chim Acta.* 1996;245(1):1-6.

105. Özgün T. Mesane kanserli hastalarda serum hyalüronidaz aktivitesi. SBÜ Ankara Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi. 2018. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
106. Sharma R, Mahadeswaraswamy YH, Harish Kumar K, Devaraja S, Kemparaju K, Vishwanath BS et al. Effect of anticoagulants on the plasma hyaluronidase activities. *J Clin Lab Anal.* 2009;23(1):29-33.
107. Yamazaki K, Fukuda K, Matsukawa M, Hara F, Yoshida K, Akagi M et al. Reactive oxygen species depolymerize hyaluronan: involvement of the hydroxyl radical. *Pathophysiology.* 2003;9(4):215-20.
108. Deguine V, Menasche M, Ferrari P, Fraisse L, Pouliquen Y, Robert L. Free radical depolymerization of hyaluronan by Maillard reaction products: role in liquefaction of aging vitreous. *Int J Biol Macromol.* 1998;22(1):17-22.
109. Berg S. Hyaluronan turnover in relation to infection and sepsis. *J Intern Med.* 1997;242(1):73-7.
110. Knudson W, Chow G, Knudson CB. CD44-mediated uptake and degradation of hyaluronan. *Matrix Biol.* 2002;21(1):15-23.
111. Laurent TC, Laurent UB, Fraser JR. Serum hyaluronan as a disease marker. *Ann Med.* 1996;28(3):241-53.
112. Tammi MI, Day AJ, Turley EA. Hyaluronan and homeostasis: a balancing act. *J Biol Chem.* 2002;277(7):4581-4.
113. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL. Prevalence of Prostate Cancer among Men with a Prostate-Specific Antigen Level  $\leq 4.0$  ng per Milliliter. *N Engl J Med.* 2004;350(22):2239-46.
114. Pelzer AE, Tewari A, Bektic J, Berger AP, Frauscher F, Bartsch G et al. Detection rates and biologic significance of prostate cancer with PSA less than 4.0 ng/mL: observation and clinical implications from Tyrol screening project. *Urology.* 2005;66(5):1029-33.
115. Gilbert SM, Cavallo CB, Kahane H, Lowe FC. Evidence suggesting PSA cutpoint of 2.5 ng/mL for prompting prostate biopsy: review of 36,316 biopsies. *Urology.* 2005;65(3):549-53.
116. Zhu H, Roehl KA, Antenor JA, Catalona WJ. Biopsy of men with PSA level of 2.6 to 4.0 ng/mL associated with favorable pathologic features and PSA progression rate: a preliminary analysis. *Urology.* 2005;66(3):547-51.
117. Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, Lucia MS, Goodman PJ, Crowley JJ et al. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/ml or lower. *JAMA.* 2005;294(1):66-70.
118. Freedland SJ, Mangold LA, Walsh PC, Partin AW. The prostatic specific antigen era is alive and well: prostatic specific antigen and biochemical progression following radical prostatectomy. *J Urol.* 2005;174(4 Pt 1):1276-81.
119. Firdolaş F, Koç M, Ozan T, Karakeçi A, Pirinçi N, Yalçın O. Prostat kanseri ile benign prostat hiperplazisinin ayırıcı tanısında difüzyon ağırlıklı manyetik rezonans görüntülemenin yeri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi.* 2017;31(1):19-24.

# ÖZGEÇMİŞ

## Bireysel bilgiler

Adı-Soyadı: Zeynep Adıyaman Koçer

Doğum yeri ve tarihi: Akhisar/Manisa, 28/11/1989

Uyruğu: TC vatandaşı

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: zey.adiyaman@gmail.com, 0534 586 41 56

Yabancı dili: İngilizce

## Eğitimi

2015-2020: SBÜ Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Tıbbi Biyokimya İhtisası

2008-2014: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

2004-2007: Akhisar Anadolu Lisesi

1996-2003: Misak-ı Milli Ali Şefik İlköğretim Okulu

## Ünvanları

2014: Doktor

2020: Biyokimya uzmanı

## Mesleki Deneyimi

2014: Patnos Devlet Hastanesi

2014-2020: SBÜ Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi

## Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Türk Biyokimya Derneği

## Bilimsel İlgi Alanları

Posterleri:

Kan gazı cihazı ve otoanalizör elektrolit sonuçlarının karşılaştırılması. 27. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2015

Kardiyak belirteçler için referans değişim değeri. Preanalitik Evre Sempozyumu, 2016

Farklı antikoagülanların D-Dimer testine etkisi. 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2017

Mindray CL-2000I immünoassay sistemi verifikasyon çalışması. 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2017

Otomatize idrar analizörü ve idrar kültür sonuçlarının değerlendirilmesi. 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2017

Orak hücreli anemide akut faz reaktanları serum pentraksin 3 ve C-reaktif proteininin araştırılması. 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2017

HbA1c ölçümünde HPLC ve immünokimyasal yöntemlerin karşılaştırılması. 28. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2017

Cobas U701 ve U601 otomatik idrar analizi cihazlarında bir taşıma hatası çalışması. 29. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2018

İmmünoassay testlerinin altı sigma yöntemiyle değerlendirilmesi. 29. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2018

Laboratuvarımıza özgü düzeltilmiş kalsiyum formülünün belirlenmesi: vitamin D ve parathormon ile ilişkisi. 29. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2018

**Bildirileri:**

Serum hyalüronidaz düzeylerinin prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi hastalarını ayırmadaki önemi. 30. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2019

**Makaleleri:**

Erdosteine ameliorates the harmful effects of ischemia-reperfusion injury on the liver of rats. Acta Cirurgica Brasileria, 2017

Compatibility of the Results of an Automated Urine Analyzer with Urine Culture. Acta Scientific Medical Sciences, 2019

**Bilimsel Etkinlikleri:**

27. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2015

TBD Preanalitik Evre Sempozyumu, 2016

Klinik Laboratuvarlarda Kalite Kontrol: Sorunlar ve Çözümler, ODTÜ Vişnelik Sempozyumu, 2016

Kemik Metabolizması: Klinik ve Laboratuvar, ODTÜ Vişnelik Sempozyumu, 2016

Tüm Yönleriyle İdrar Analizleri, ODTÜ Vişnelik Sempozyumu, 2016

28. Ulusal Biyokimya Kongresi, 2017

Hemostaz Klinik ve Laboratuvar, ODTÜ Vişnelik Sempozyumu, 2017

29. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2018

Alkol Dışı Steatohepatit, ODTÜ Vişnelik Sempozyumu, 2018

30. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2019

**Diğer Bilgiler:**

II. Bilimsel Sysmex Sempozyumu, 2017

Flow Sitometre ve Kullanım Alanları, GATA, 2018

Metroloji nedir? Ölçüm kalitesi neden önemlidir? TÜBİTAK UME, 2019

Laboratuvarcılar İçin Araştırma Teknikleri ve Uygulamalı İstatistik, TBD Akademi Kursu, 2019

Applying Six Sigma to analytical performance in medical laboratories, 30. Uluslararası Biyokimya Kongresi, 2019

## **EKLER**

**EK 1:** Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Araştırma Uygulama Merkezi  
Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu Onayı

**EK 2:** Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

**EK 3:** SBÜ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik  
Kurulu Onayı

**Ek 4:** Hasta ve Kontrol Grubu İçin Aydınlatılmış Onam Formu



**EK 1: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi  
Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu Onayı**



**T.C.S.B.  
Sağlık Bilimleri Üniversitesi  
Ankara Sağlık Uygulama Uygulama Merkezi  
Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu  
Karar Defteri**

Toplantı No: **0023**

**01.11.2017**

**BAŞKAN  
Doç.Dr.M.Recep Pekci  
Başhekim**

**TUEK ASİL ÜYELERİ**

**TUEK YEDEK ÜYELERİ**

Prof.Dr.Murat Kekilli Gastroenteroloji Kliniği. (Eğitim Koordinatörü)	
Doç.Dr.Nadir Turgut Çavuşoğlu Genel Cerrahi Kliniği	Prof.Dr.Meliha Korkmaz Nükleer Tıp Kliniği
Prof.Dr.K.Bahadır Alemdaroğlu Ortopedi ve Travmatoloji Kliniği	Doç.Dr.Elif Ergün Radyoloji Kliniği
Prof.Dr.Uğur Koçer Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Kliniği	Doç.Dr.Ayşe Esra Karakoç Mikrobiyoloji Kliniği
Doç.Dr.Hülya Başar Anestezi ve Reanimasyon Kliniği	Doç.Dr.Necmi Arslan KBB Hastalıkları Kliniği
Doç.Dr.Sevim Aslan Felek KBB Hastalıkları Kliniği	Doç.Dr.Burcu Duyut Çakır Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği

**KARAR:**

**243.T.C.S.B.Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Kliniğinden Ast.Dr.Zeynep ADIYAMAN'ın "Serum hyalüronidaz düzeylerinin; prostat kanseri, benign prostat hiperplazisi ve prostatitli hastaları ayırmadaki önemi" konulu Tıpta Uzmanlık Tezi, Hastanemiz TUEK kurulu tarafından görüşüldü ve Sağlık Bilimleri Üniv.Tıp Fakültesi Dekanlığına Sunulmasına karar verilmiştir.**

**Doç.Dr.N.Turgut Çavuşoğlu**

**Prof.Dr.K.Bahadır Alemdaroğlu**

**Prof.Dr.Uğur Koçer**

**Doç.Dr.Hülya Başar**

**Doç.Dr.Sevim Aslan Felek**

**Prof.Dr.Murat Kekilli  
Eğitim Koordinatörü**

**Doç.Dr.M.Recep Pekci  
Başhekim**

## EK 2: Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

### SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

11.01.2018

Adı Soyadı	Zeynep ADIYAMAN
TC Kimlik No:	47551548582
Uzmanlık Dalı(Anadal)	Tıbbi Biyokimya
Uzmanlık Eğitim Kurumu:	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi

Yukarıda kimlik bilgileri belirtilmiş tıpta uzmanlık öğrencisinin Tez konusu, Akademik Kurulumuzda değerlendirilmiş, alınan karar aşağıda belirtilmiştir.



Prof. Dr. Fatih Gültekin  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

Akademik Kurul Karar Tarihi:	11/01/2018
Karar No:	2018-10/1
Tez Konusu:	( X ) Uygundur. ( ) Eleştirilen yönlerin giderilmesi şartıyla uygundur. Tekrar değerlendirmeye gerek yoktur ( ) Eleştirilerin giderilmesi veya cevaplanması sonrası tekrar değerlendirilmesi uygundur. ( ) Uygun değildir.

**Ek 3: SBÜ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onayı**



**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI**  
**ANKARA İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ**  
**SBÜ Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi**  
**Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı**

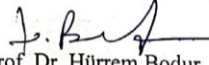


Sayı : E.Kurul -E-19-2462

2462-no'lu çalışma

SBÜ Ankara SUAM Tıbbi Biyokimya Kliniği'nden "Serum Hyalüronidaz Düzeylerinin Prostat Kanseri Ve Benign Prostat Hiperplazisi Hastalarını Ayırmadaki Önemi" konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.

21/02/2019

  
Prof. Dr. Hürrem Bodur  
Etik Kurul Başkanı

## EK 4: Hasta ve Kontrol Grubu İçin Aydınlatılmış Onam Formu

### GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU

Bir araştırma projesine davet edilmektesiniz. Bu araştırmanın yürütülmesi, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Bilimsel Araştırmalar Değerlendirme Komisyonu'nun 16.12.2015 tarih ve 5196 sayılı kararı ile onaylanmıştır. Araştırmaya katılmaya karar vermeden önce araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını anlamanız çok önemlidir. Araştırmaya katılım tamamen gönüllülük ilkesine bağlı olup katılmayı reddetmeniz herhangi bir cezaya ya da elde edilecek herhangi bir yararın kaybedilmesine kesinlikle yol açmayacaktır. Aynı şekilde araştırmaya katılmayı kabul ettikten sonra da araştırmanın herhangi bir yerinde hiçbir neden göstermeksizin herhangi bir zarar ya da elde edilmesi beklenen bir yarar kaybına yol açmadan araştırmadan çekilebilirsiniz. Lütfen biraz zaman ayırın ve aşağıdaki bilgileri dikkatlice okuyun, isterseniz başkalarıyla tartışın. Açık olmayan bir bölüm varsa ya da daha ayrıntılı bilgiye ihtiyaç duyuyorsanız lütfen bizi arayın. Ancak araştırmaya katılmak isteyip istemediğinize karar vermek için lütfen biraz düşünün.

**1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:**

**a. Araştırmanın bilimsel adı:** PSA (Prostat Spesifik Antijen) değeri gri zonda olan (4-10 µg/L) hastaların serum hyaluronidaz düzeylerinin; prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi hastalarını ayırmadaki tarama amaçlı kullanılabilirliğini araştırmak

**b. Araştırmanın anlaşılabilir basit adı:** Serum hyaluronidaz düzeylerinin; prostat kanseri ve benign prostat hiperplazisi hastalarını ayırmadaki önemi

**c. Sorumlu Araştırmacının adı ve görev yeri:** Uzm. Dr. Elmas ÖĞÜŞ, Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı

**d. Araştırmanın içeriği:** PSA, prostat dokusunda özgü olmakla birlikte prostat kanseri için özgün değildir. Bu yüzden prostat kanserinin tanısı biyopsi patoloji sonucu ile konulmaktadır. HAase tümör dokusu tarafından salgılanır. Prostat kanserinde yüksek hyaluronidaz-1 (HYAL-1) aktivitesi rapor edilmiştir. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği'nde, serum PSA değeri 4-10 µg/L aralığında ve patolojisi olan hastalar patoloji sonucuna göre benign prostat hiperplazisi ve prostat kanseri olarak sınıflandırılarak bu hastaların serumlarında hyaluronidaz düzeyleri ölçülecektir.

**e. Araştırmanın amacı:** Bu çalışmanın amacı gri bölge olarak tarif edilen ve serum PSA'nın 4-10 µg/L aralığında olduğu hastalarda, serum hyaluronidaz düzeylerinin prostat kanserini benign durumlardan ayırt edebilme gücünü araştırmaktır.

**f. Araştırmanın niteliği:** Uzmanlık Tezi

**g. Araştırmanın başlama tarihi ve öngörülen süresi:** Ocak 2018-Haziran 2019

**h. Araştırmaya katılması beklenen gönüllü sayısı:** 30 benign prostat hiperplazisi hastası ve 30 prostat kanseri hastası

**i. Katılmıyın araştırmaya dahil edilme nedeni:** Biyopsi yapılan hastaların tümü çalışmaya katılacaktır.

**j. Araştırmada uygulanacak yöntemler:** Biyokimyasal analiz yöntemleri

2. Uygulama Sırasında Karşılaşabileceğiniz Riskler ve Rahatsızlıklar: YOK

3. Araştırmaya Seçenek Olan Diğer Girişimler: YOK

Zararların Tazmini ve Araştırma Konusundaki Diğer Soruların Cevaplandırılması: Dr. Zeynep Adıyaman Koçer (Tıbbi Biyokimya Asistanı) bilgi alınabilir.

4. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma: Gönüllülerin çalışmayı reddetme, çalışmadan çekilme veya çıkarılma hakkı vardır.

5. Kimlik bilgilerinin ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak? Araştırmayı yapan kişi tarafından sağlanacak.

6. Araştırma sonunda gönüllülere bilgi verilecek mi? Hastalar laboratuvar sonuçlarına ulaşarak klinisyenden bilgi alabilirler.

Araştırmamıza katıldığınız için teşekkür ederiz.

### GÖNÜLLÜNÜN ÇALIŞMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıda açıkça tanımlanan çalışmanın ne amaçla, kimler tarafından ve nasıl gerçekleştirileceği anlayabileceğim bir ifade ile bana anlatıldı. Bu araştırmadan elde edilen bilgilerin bana ve başka insanlara sağlayacağı yararlar bana anlatıldı. Araştırma sırasında meydana gelebilecek riskler ve rahatsızlıklar bana anlayabileceğim bir dille anlatıldı. Araştırma sırasında oluşabilecek zarar durumunda gerçekleştirilecek işlemler bana anlatıldı. Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ve haklarım konusunda 24 saat bilgi alabileceğim bir yetkilinin adı ve telefonu bana verildi. Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyeceği bana anlatıldı. Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum. Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi. Sorumlu araştırmacı / hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum. Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı/hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir. Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, bu tür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır. Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren Gönüllü Bilgilendirme Formu adlı metni kendi anadilimde okudum.

Bu bilgilerin içeriği ve anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum. Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım. **Gönüllünün;** Adı- Soyadı: İmzası: Adresi (varsa telefon ve/veya fax numarası): Tarih:

.....

**Açıklamaları Yapan Araştırmacının;** Adı- Soyadı: İmzası: Tarih:

.....