

Prostat adenokarsinomlarında PSA değerlerinin Gleason Skor ve klinik evre ile ilişkisi

Hacı Hasan Esen, Mustafa Cihat Avunduk

Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Konya

Amaç: Prostat adenokarsinomlarında PSA değerlerinin, Gleason skor ve klinik evre ile ilişkisini değerlendirmek. **Yöntem:** Çalışmamızda 68 prostat adenokarsinomu (PACa) olgusu ile 55 benign protat hiperplazisi (BPH) olgusu incelendi. Histolojik grade olarak Gleason skor (GS) kullanıldı. Olgular WHO ve TNM sınıflamasına göre evrelendirildi. Olguların total (t) ve serbest-PSA (s-PSA) değerleri ölçüldü. **Bulgular:** Ortalama serum t-PSA değerleri: PACa olguları 67.09 ± 5.32 ng/ml iken BPH'da 4.70 ± 1.02 ng/ml olarak bulundu. Gri Zon aralığında 11 PACa ile 24 BPH olgusu bulunmaktadır. Bu olgularda t-PSA, s-PSA ve yaş arasında bir fark tespit edilemeyip, s-PSA/t-PSA oranı anlamlı derecede farklı bulunmuştur. 0.18 sınır değeri için spesifite % 92, sensitivite % 82'dir. Gri zon aralığında olan 9 PACa olgusunun 8 tanesi lokalize evrede, 1 tanesi metastatik evrede tespit edilmiştir. Bu PSA aralığında 7 olgunun GS'si 7'den düşük iken sadece 2 olgunun GS'si 7-10 aralığında tespit edildi. Lokalize evrede olgularında ortalama serum t-PSA seviyesi: 44.8 ± 6.76 ng/ml iken metastatik evrede 120.2 ± 8.65 ng/ml olarak tespit edildi. **Sonuç:** Serum t-PSA düzeyi parametresinin kullanımı faydalı bir belirteçtir. PSA; Prostat karsinomu (PCa) tanısında, evrelemesinde, histolojik grade'i tahmin etmede, izlemde ve rekürrenslerin belirlenmesinde iyi bir göstergedir. s-PSA/t-PSA oranı, t-PSA değeri 4,1-10 ng/ml düzeyinde olan (Gri zon) benign ve malign olguları ayırmada son derece yararlı bir parametredir. GS'nin kullanılması, PCa'lı olgularda progresyonu ve sağ kalımı belirlemede iyi ve güvenilir bir göstergedir.

Anahtar kelimeler: Gleason Skor, klinik evre, PSA, prostat adenokarsinomu

The relation between PSA values and Gleason Score and clinical phase in prostate adenocarcinoma

Objective: The evaluation of relation between PSA values and Gleason Score and clinical phase in prostate adenocarcinoma. **Methods:** In this study, 68 prostate adenocarcinoma (PACa) and 55 benign prostatic hyperplasia (BPH) cases were examined. Gleason Score (GS) was used as histological grading. They were graded according to WHO and TNM classifying. The total and free PSA values of the cases were measured. **Results:** While the mean serum total-PSA (t-PSA) value was 67.091 ± 5.32 ng/ml in cases with PACa, it was 4.701 ± 1.02 ng/ml in cases with BPH. 11 PACa, 24 BPH existed in Grey Zone. There was no difference between t-PSA, free-PSA (f-PSA) and ages, but s-PSA and f-PSA rate was significantly different. The specificity was 92% and sensitivity 82% for 0.18 limit value. 8 of 9 PACa cases in t-PSA 0-10 ng/ml were in localised phase and one in metastatic phase. While the GS of these 7 cases were lower than 7, the GS of two cases were at 7-10 interval. We determined the mean serum t-PSA level as 44.8 ± 6.76 ng/ml in the localised phase and 120.2 ± 8.65 ng/ml in metastatic phase. **Conclusion:** The use of Serum t-PSA level parameter is a helpful determinant. It is a fine determinant in diagnosing and grading prostate carcinoma (PCa), guessing histological grades, following and determining recurrence. It is a helpful parameter to distinguish benign and malignant cases whose f-PSA/t-PSA rate and t-PSA value are at 4,1-10 ng/ml level (Grey zone). The use of GS is a good and reliable determinant in establishing the progress and surviving of the cases with PCa.

Key words: Gleason score, clinical phase, PSA, prostate adenocarcinoma

Genel Tıp Derg 2007;17(4):211-216

Yazışma adresi: Dr.Hacı Hasan Esen, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Konya.

e-posta: drhasanesen@gmail.com

Prostat kanseri (PCa) ABD'de erkeklerde en sık görülen kanser olup, istatistiksel açıdan tüm kanserlerin % 32'sini oluşturur (1). Kansere bağlı ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırada

olup kansere bağlı ölümlerin % 10'undan sorumludur. Tespit edilen PCa vakalarının % 75'i 65 ve üzeri yaşlardadır. Fakat genç erişkin, adolesan ve çocuklarda da görülebilmektedir. Yaşla birlikte insidansı artmaktadır (2). ABD'de en yüksek insidans siyah ırkta olup, daha sonra beyaz ırkta görülmektedir. Siyah ırkta teşhis edilen PCa göreceli olarak beyaz ırka göre daha yüksek evre ve kötü prognoz göstermektedir (3,4). Dünya üzerinde en yüksek insidans İsveç, İsviçre, Norveç gibi İskandinav ülkelerinde iken, Japonya ve Hong Kong'da en düşük değerlerde seyretmektedir (4). PCa'ların biyolojik davranış ve metastatik potansiyellerinde büyük değişkenlikler vardır. Tedavinin etkinliği; hastanın yaşına, tıbbi uygunluğuna, kanserin evre ve grade'i ile mevcut tıbbi olanaklara bağlıdır (1).

Yöntem

Çalışmamızda, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, Ocak 2004 ile Mayıs 2005 tarihleri arasında PACa tanısı almış 68 olgu ile yine aynı tarihler arasında BPH tanısı almış 55 olgu incelendi. % 10'luk formalin ile tespit edilen dokulardan uygun örnekler alınarak ototeknikon ile doku takip işlemlerine tutuldu. Daha sonra dokular parafin içerisinde gömülerek bloklandı. Parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler alınıp lam üzerine yapıştırıldı. Lamalar Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Kanada balsamı kullanılarak lamel ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Histolojik grade olarak GS kullanıldı. Olguların total ve serbest PSA değerleri Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında Beckman Coulter DXI800 marka cihazları kullanılarak, kemoluminesens metodu ile ölçüldü. Olguların klinik gözlem dosyaları Fakültemiz arşivinden temin edildikten sonra, klinik gözlem dosyalarından; t-PSA, s-PSA, parmakla rektal muayene, transrektal ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi ve kemik sintigrafi sonuçları temin edildi. Bu sonuçlar ışığında WHO ve TNM sınıflamasına göre evrelendirildi. Elde edilen verilerin SPSS for Window's 10.0 programı ile istatistiksel analizi yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde özetlendi. Gruplar arası karşılaştırma için Student's t testi kullanıldı. Parametreler arası ilişki Spearman's korelasyon testi ile değerlendirildi. Cut-off noktası tespiti için ROC analizi yapıldı ve anlamlılık değeri

olarak 0.05 seviyesi alındı. Parametrik şartların sağlanmadığı 2'den fazla grubun karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi, gruplar arası farkı ortaya koymak için de Mann-Whitney testinden yararlanıldı.

Bulgular

BPH (Şekil 1) ve PACa (Şekil 2) olgularımız iğne biyopsisi (İB), Transüretal rezeksiyon (TUR) materyali ve prostatektomi (P) materyallerinden oluşmaktadır. PACa ve BPH olguları arasında ortalama yaş bakımından fark tespit edilmedi. (Tablo 1)

Ortalama t-PSA değerleri PACa olgularında bariz yüksek tespit edildi. s-PSA değerleri ise yine PACa olgularında yüksek idi. (Tablo 2).

PACa olgularımızın 11 tanesi ve BPH olgularının 24 tanesi Gri Zon olarak tarif edilen serum PSA değeri olan 4.1-10 ng/ml aralığında idi (Tablo 3).

Serum PSA değeri 4.1-10.0 ng/ml arası olgularda s-PSA/ t-PSA oranının 0.18 sınır değeri için spesifite % 92, sensitivite % 82 olarak tespit edilmiştir. 0.16 sınır değeri için spesifite % 95'lere kadar yükselirken, sensitivite % 55'lere kadar düşmektedir.

Tablo 1. PACa ve BPH olgularının dağılımı ve yaş ile ilgili parametreler

	İB %	TUR %	P %	Toplam	Ortalama yaş	Yaş aralığı
PACa	29 42.6	27 39.7	12 17.7	68	72.49 $\pm$ 8.29	51-101
BPH	7 12.8	38 69	10 18.2	55	69.67 $\pm$ 8.08	52-82

Tablo 2. PACa ve BPH olgularında PSA parametreleri

Ortalama değerler	Total PSA (ng/ml)	Sebest PSA (ng/ml)	Serbest/total PSA
PACa	67.09 $\pm$ 5.32	8.01 $\pm$ 7.26	0.155 $\pm$ 0.079
BPH	4.70 $\pm$ 1.02	1.38 $\pm$ 1.23	0.281 $\pm$ 0.188

Tablo 3. PACa ve BPH olgularında PSA aralıklarındaki olgu sayısı

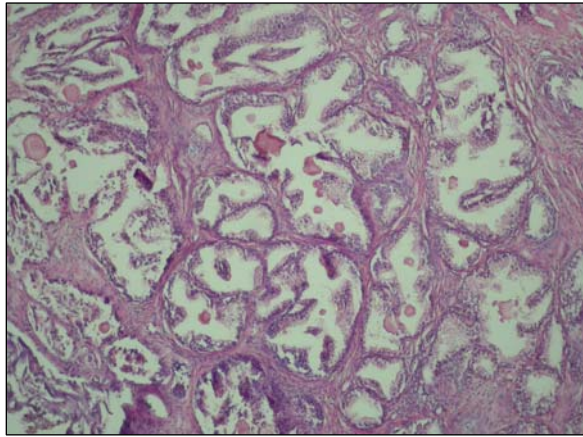
Total PSA seviyesi	PACa olgu sayısı	BPH olgu sayısı
0-4 ng/ml	1	27
4,1-10 ng/ml (Gri zon)	11	24
$\geq$ 10 ng/ml	56	4

Tablo 4. PACa olgularında klinik evrelere göre GS dağılımı

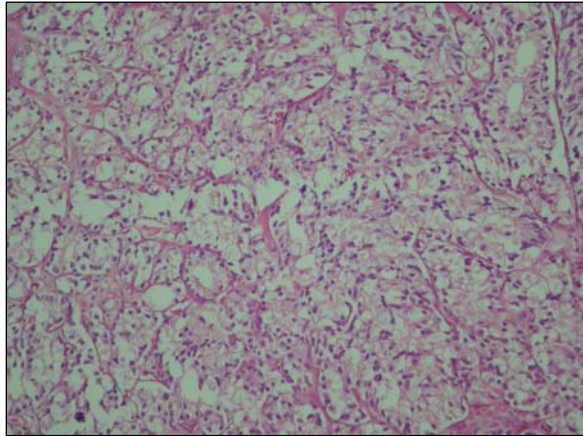
Evre	GS 2-4	GS 5-6	GS 7	GS 8-10	Toplam
A	1	4	-	-	5
B	3	7	2	-	12
C	-	4	6	4	14
D	-	-	11	6	17
Toplam	4	15	19	10	48

Tablo 5. GS daki PSA parametreleri

	GS 2-4	GS 5-6	GS 7	GS 8-10
Total PSA (ng/ml)	13.88±1.23	24.76±4.45	90.12±7.32	113.77±9.56



Şekil 1. Benign Prostat Hiperplazisi tanısı almış bir olgunun görüntüsü (Hematoksilen-Eosin x400)



Şekil 2. Prostat Adenokarsinomu tanısı almış bir olgunun görüntüsü. Gleason Grade 4 (hipernefroid görünüm) (Hematoksilen-Eosin x400)

t-PSA seviyesi >30 ng/ml değerlerinde bu oran anlamlı bulunmadı. 68 PACa olgumuzun 48 tanesine klinik olarak evreleme yapılabildi. Bu olgular değerlendirildiğinde GS ile klinik evrenin korelasyon

gösterdiği tespit edildi. İleri evre vakalarda GS de yüksek tespit edildi (Tablo 4).

Gleason Skorlarına göre olguların t-PSA değerlerine baktığımızda, skoru yüksek olan olguların t-PSA değerlerini de yüksek olarak tespit ettik (Tablo 5).

Tartışma

Serum PSA seviyesinin sensitivite ve spesifitesi, onu mükemmel bir tarama testi yapmaya yeterli değildir. Çünkü prostatit ve BPH olgularında PSA'nın yüksekliği (> 4.0ng/ml) gözlenebilmektedir. Prostat hacmi ve kişinin yaşı da PCa olmaksızın, PSA artışına katkıda bulunmaktadır (5). Özellikle Serum PSA düzeyinin 4.1-10.0 ng/ml olduğu durumlarda, PCa ve BPH olgularında önemli örtüşmeler olmaktadır. Gri zon olarak adlandırılan bu aralık esas sorun bölgesini oluşturmaktadır (5,6). Bu sebeplerden dolayı da serumdaki PSA formları olan serbest PSA, bağlı-PSA değerleri ve prostat bezi hacmi kullanılarak bazı parametreler geliştirilmiştir. Tüm bu parametreler serum PSA düzeyinin 4.1-10.0 ng/ml olduğu olguları ayırt edebilmek için geliştirilmiştir. Serum PSA dansitesi, transizyonel zon PSA dansitesi ve s-PSA/t-PSA oranı bu parametrelerdendir. Çalışmamızda s-PSA/t-PSA oranını kullandık. PCa'da tümör hücreleri PSA yanısıra ACT de üretmektedirler (7). Bu sebepten dolayı serumdaki PSA'nın büyük çoğunluğunu PSA-ACT kompleksi (bağlı PSA) oluşturacaktır. Bu özelliklerden yararlanarak s-PSA/t-PSA oranı PCa olgularında düşük beklemek gayet mantıklı bir düşüncedir. Fakat burada sorun; bu parametre kullanılırken hangi sınır değerinin alınacağı ve daha faydalı olacağı sorusudur. s-PSA/t-PSA oranı PCa tanısının erken ortaya konmasında ve BPH'den ayrılmasında ve hangi sınır değeri kullanmak gerektiği yönünde çok sayıda literatürde yapılmış çalışma vardır.

Bangma ve ark (8,9), Stenman ve ark (10), Leinonen ve ark (11) ile Vashi ve ark (12)'nin yaptıkları çalışmalarda BPH ve PCa ayrımını yapmada serum total PSA düzeyi ≤10 ng/ml olan olgularda bu parametrenin daha etkin olduğu ortaya konmuştur. Yapılan bu çalışmalarda sınır değer olarak 0.15 baz alınmıştır. Bu parametre kullanıldığında özgüllük belirgin olarak artarken, duyarlılıkta hafif bir düşüş meydana gelmektedir. Christensson ve ark (13) 121 PCa olgusunda 0.18 değeri için spesifiteyi % 95,

sensiviteyi % 71 olarak tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada serum t-PSA düzeyi 20 ng/ml olan olgularda anlam bulunamamıştır. Prestigiacomo ve ark (14), s-PSA/t-PSA için sınır değer olarak 0.15 i aldıklarında spesifiteyi % 94-95 olarak saptamışlardır.

Bizim çalışmamızda 4.1-10 ng/ml arasında PSA değerlerine sahip 11 tane PCa olgusu, 24 tane BPH olgusu mevcuttu. Bu iki grup arasında s-PSA/t-PSA oranı anlamlı derecede farklı bulunmuştur. 0.18 sınır değeri için spesifite % 92, sensitivite % 82 olarak tespit edilmiştir. 0.16 sınır değeri için spesifite % 95 lere kadar yükselirken, sensitivite % 55'lere kadar düşmektedir. t-PSA seviyesi >30 ng/ml değerlerinde bu oran anlamlı bulunamamıştır. Çalışmamızda tespit ettiğimiz sınır değer, literatürde verilen değer aralığına uymaktadır ve spesifite ve sensitivitenin beraber en yüksek olduğu değer 0.18 olarak bulunmuştur.

Fakat dikkat çeken nokta literatürde neden böyle bir aralığın olduğudur. Bu farkı yaratan sebeplerin ne olduğudur.

Bu sorunun yanıtı olarak etyolojik nedenlerden yola çıkarak şu sonuca varmak mümkün olabilir. PCa etyolojisinde ırk ve çevresel etkenlere bağlı olarak PCa insidansında değişimler ve bir çok nedene bağlı olarak serum PSA seviyelerinde değişimler olabildiğine dair literatürde çok sayıda çalışma mevcuttur (1-3). Bu sebepten dolayı değişik serilerde farklı sınır değerlerin bulunmasında bu faktörlerin etkili olabileceğini düşündük.

Gleason Skoru prognozda önemli bir yere sahiptir. Hastada PCa'ya bağlı ölüm riskini belirleyicidir, bu sebepten dolayı da PCa tanısı verilirken tümör grade'i belirlenir. Çünkü grade, tedavi seçeneklerini önemli derecede etkilemektedir (15-17).

Epstein ve ark (18), 185 radikal prostatektomi hastasında yaptıkları diğer bir çalışmada, GS'nin progresyonu göstermede en iyi kriter olduğunu bildirmişlerdir. Smith ve ark (19), GS 2-4 olan hastaların % 0'inde, GS 5-7 olan hastaların % 4'ünde, GS 8-10 olan hastaların % 93'ünde lenf nodu metastazı saptamışlardır. Cher ve ark (4), 92 radikal prostatektomi (RP) yapılan hastada yaptıkları çalışmada, RP sonrası PSA yükselmesi olan hastaların % 5'inin GS 2-6, % 50'sinin GS 7, % 45'inin GS 8-10 değerlerine sahip olduğunu ve GS

ile rekürrens arasındaki ilişkiyi ortaya koymuşlardır. Yapılan tüm bu çalışmaların ortak noktası olarak GS ile tümör progresyonu ve metastaz potansiyeli arasında bir korelasyon göze çarpmaktadır. Bizim çalışmamızda 68 olgunun % 7'si (5 olgu) GS 2-4 olarak, % 33,8'i (23 olgu) GS 5-6, % 39,7'si (27 olgu) GS 7 ve % 19,1'i (13 olgu) GS 8-10 olarak bulunmuştur. t-PSA seviyesi tüm evreler ile orta derecede bir korelasyon (% 62) gösterirken, her grup kendi arasında kıyaslandığında ise; GS 2-4 ile GS 5-6 arası ve GS 7 ile GS 8-10 arası fark anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Grupların kendi aralarındaki diğer karşılaştırmalar ise anlamlı bulunmuştur. Serum PSA seviyesi 10 ng/ml sınır alındığında, bu değer üzerindeki olgularda t-PSA; klinik evre ile daha yüksek bir korelasyon gösterirken (% 71), GS ile ise % 67'lik korelasyon göstermiştir. Serum PSA seviyesi PSA düzeyi 10 ng/ml ve üzerinde olan olgularda klinik evrelere göre GS dağılımına baktığımızda GS ile klinik evrenin korelasyonu daha da belirgin bir hale gelmiştir. Toplam 39 olgunun 23 tanesi (% 59) lokalize evre, 16 tanesi (% 41) ise metastatik evrede saptanmıştır. Serum t-PSA düzeyi 0-10 ng/ml aralığında olan 9 olguyu klinik evrelere göre GS dağılımını incelediğimizde vakaların 8 tanesi lokalize evrede, 1 tanesi metastatik evrede tespit edilmiştir. Düşük PSA'sı olan olgularda hastalık daha çok olarak lokalize seyretmekte iken PSA arttıkça metastatik olgu sayısı da artmaktadır. Brawer ve ark (20), lokalize evredeki (evre A, B ve C) PCa olgularında ortalama serum PSA'yı 13.12 ng/ml, metastatik evredeki (evre D) ortalama serum t-PSA'yı 36.73 ng/ml, Peterson ve ark (21), sırasıyla 15.28 ve 42.74, Veldhuizen ve ark (22) ise 30.04 ve 87.23 olarak bildirmişlerdir

Bizim çalışmamızda ise klinik evre ile korele olarak PSA seviyesinin arttığı, evreler arası kıyaslama yapıldığında Evre A ile Evre B arasında PSA seviyeleri bakımından elde edilen farkın anlamlı olmayıp diğer evreler arası farkın anlamlı olduğu bulunmuştur. Dolayısıyla PSA seviyeleri klinik evreyi tahmin etmede bize yardımcı olacaktır. Çalışmamızda kemik metastazı olan olgulardan hiçbirisi 10 ng/ml'den düşük PSA değerine sahip değildi. 17 olgudan 1 tanesi 15-20 ng/ml, 3 tanesi 20-50 ng/ml, 13 tanesi ise 50 ng/ml'den yüksek PSA değerlerine sahipti. Literatürdeki çalışmalarla korele olarak yüksek PSA değerine sahip olgularda kemik metastazı beklemek daha olasıdır. Çalışmamızda da

görüldüğü gibi 20 ng/ml değeri üzerinde PSA'sı olan olgularda metastaz olasılığı artmaktadır. Buna paralel olarak düşük PSA değerine sahip olgularda metastaz beklememek ya da bu ihtimalin çok düşük olduğunu bilmek gerekir.

Sonuç

PCa erkeklerde en sık görülen kanserlerden biri olup, etyolojisi multi faktöriyeldir. Irk, beslenme alışkanlıkları ve coğrafik şartlar gibi durumlar, bu tümörün insidansında farklılıklara yol açmaktadır. Tüm malignitelere olduğu gibi PCa'da da erken tanı hem prognozu etkilemekte hem de tedavi masraflarını düşürmektedir.

Serum t-PSA düzeyi parametresinin kullanımı faydalı bir belirteçtir. PSA, PCa tanısında, evrelemede, histolojik grade'i tahmin etmede, izlemde ve rekürrenslerin belirlenmesinde iyi bir göstergedir. Fakat prostatın benign durumlarında da (BPH, Prostatit gibi) serum t-PSA düzeyi yükselmektedir. Özellikle Gri Zon olarak tabir edilen aralıkta bu değerin yararlılığı azaldığı için bazı parametreler geliştirilmiştir. s-PSA/t-PSA oranı bunlardan bir tanesi olup diğerlerine göre bazı üstün yanları vardır. Bunlar; daha az invaziv, ucuz ve kantitatif (ölçüm yapan kişiye bağlı olmayan) bir yöntem olmasıdır. Biz çalışmamızda bu değeri 0.18 olarak bulduk. 0.18 sınır değeri için spesifite % 92, sensitivite % 82 olarak tespit edilmiştir. Bu değerin altında olan oranlar için PCa yakalama sıklığı % 92 anlamına gelmektedir. Literatür çalışmalarında bu oran için farklı değerler bulunmuştur. Bunun nedeni olarak da etyolojinin multi faktöriyel olarak gösterilmesi en anlamlı açıklama olacaktır.

Çalışmamızda ayrıca klinik evre, GS ve PSA değerleri arasında da yakın ilişki tespit ettik. GS'si yüksek olan olgularda hem klinik evrenin hem de t-PSA değerlerinin buna paralel olarak yüksek olduğu bulundu. Literatürde benzer sonuçlar göze çarpmaktadır. GS'nin kullanılması, PCa'lı olgularda progresyonu ve sağ kalımı belirlemede iyi ve güvenilir bir göstergedir.

Kaynaklar

1. Smith Genel Üroloji. Editörler; Emil A. Tanagha, Jack W. McAninch. Çeviri editörü; Gürkan Kazancı. Nobel Tıp Kitapevleri. 1999. 410-33

2. Rosai J: Ackerman's Surgical Pathology: Male reproductive system; Prostate and Seminal vesicles. 9.th, Mosby, St. Louis, 2004; 1361-1411.
3. Kirby RS, Christmas TJ, Brawer MK. Prostate Cancer Mosby. 2nd Ed 2001 1-76.
4. Cher ML, Bianco FJ Jr, Lam JS, Davis LP, Grignon DJ, Sakr WA, et al. Limited role of radionuclide bone scintigraphy in patients with prostate specific antigen elevations after radical prostatectomy. J Urol 1998;160:1387-91.
5. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Klee GG, Pettersson K, Piironen T, Abrahamsson PA, et al. Free, complexed and total serum prostate specific antigen: the establishment of appropriate reference ranges for their concentrations and ratios. J Urol 1995;154:1090-5.
6. Daher R, Beaini M. Prostate-specific antigen and new related markers for prostate cancer. Clin Chem Lab Med 1998;36:671-81
7. Bjork T, Bjartell A, Abrahamsson PA, Hulkko S, di Sant'Agnese A, Lilja H. Alpha 1-antichymotrypsin production in PSA-producing cells is common in prostate cancer but rare in benign prostatic hyperplasia. Urology 1994;43:427-34
8. Bangma CH, Kranse R, Blijenberg BG, Schroder FH The value of screening tests in the detection of prostate cancer. Part II: Retrospective analysis of free/total prostate-specific antigen ratio, age-specific reference ranges, and PSA density. Urology 1995;46:779-84.
9. Bangma CH, Kranse R, Blijenberg BG, Schroder FH The value of screening tests in the detection of prostate cancer. Part I: Results of a retrospective evaluation of 1726 men. Urology 1995;46:773-8.
10. Stenman UH, Hakama M, Knekt P, Aromaa A, Teppo L, Leinonen J. Serum concentrations of prostate specific antigen and its complex with alpha 1-antichymotrypsin before diagnosis of prostate cancer. Lancet 1994;344:1594-8.
11. Leinonen J, Lovgren T, Vornanen T, Stenman UH Double-label time-resolved immunofluorometric assay of prostate-specific antigen and of its complex with alpha 1-antichymotrypsin. Clin Chem 1993;39:2098-103.
12. Vashi AR, Wojno KJ, Henricks W, England BA, Vessella RL, Lange PH, et al. Determination of the "reflex range" and appropriate cutpoints for percent free prostate-specific antigen in 413 men referred for prostatic evaluation using the AxSYM system. Urology 1997;49:19-27.
13. Christensson A, Bjork T, Nilsson O, Dahlen U, Matikainen MT, Cockett AT, et al. Serum prostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. J Urol 1993;150:100-5.
14. Prestigiacomo AF, Lilja H, Pettersson K, Wolfert RL, Stamey TA. A comparison of the free fraction of serum prostate specific antigen in men with benign and cancerous prostates: the best case scenario. J Urol 1996;156:350-4.
15. Gleason DF Classification of prostatic carcinomas. Cancer Chemother Rep 1966;50:125-8.
16. Bailar JC 3rd, Mellinger GT, Gleason DF Survival rates of patients with prostatic cancer, tumor stage, and differentiation--preliminary report. Cancer Chemother Rep 1966;50:129-36.
17. Allsbrook WC Jr, Mangold KA, Johnson MH, Lane RB, Lane CG, Epstein JI Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: general pathologist. Hum Pathol 2001;32:81-8.

18. Epstein JI, Carmichael M, Partin AW, Walsh PC. Is tumor volume an independent predictor of progression following radical prostatectomy? A multivariate analysis of 185 clinical stage B adenocarcinomas of the prostate with 5 years of followup. J Urol 1993;149:1478-81.
19. Smith JA Jr, Seaman JP, Gleidman JB, Middleton RG. Pelvic lymph node metastasis from prostatic cancer: influence of tumor grade and stage in 452 consecutive patients. J Urol 1983;130:290-2.
20. Brawer MK, Botswick DG. Invasion in prostate cancer. J Urol 1993 146:788-93.
21. Peterson RO, Fisher ER, Sharkley DA. p53 immunoreactivity in human prostate cancer. J Urol 1995 61:710-6.
22. Van Veldhuizen PJ, Sadasivan R, Garcia F, Austenfelt MS, Stephens RL. Mutant p53 expression in prostate cancer, Prostate 1993,22: 23.