

Ville Immonen

ETURAUHASSYÖVÄN DIAGNOSOINTI VIRTSASTA FAIMS-LAITTEELLA

TIIVISTELMÄ

Ville Immonen: Eturauhassyövän diagnosointi virtsasta FAIMS-laitteella
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen lisensiaatin tutkinto-ohjelma
Lokakuu 2020

Eturauhassyöpä on Suomessa miesten yleisin syöpä. Suurin osa taudeista on hyväennusteisia, mutta levinneessä tautimuodossa elinajan ennuste putoaa merkittävästi. Eturauhassyövän riskitekijät ovat yhä huonosti tunnettuja ja sairaus on alkuvaiheessa yleensä oireeton, mikä vaikeuttaa varhaisvaiheen diagnostiikkaa ja myöhästyttää hoitojen aloitusta. Erilaisia varhaisvaiheen seulontamenetelmiä, kuten PSA-mittauksia, on tutkittu laajasti, mutta kuolleisuutta vähentävä vaikutus on havaittu vain erittäin tarkasti kohdennetuissa ryhmissä. Eturauhassyövän diagnostiikka nojaa edelleen invasiiviseen biopsiamenetelmään.

1990-luvulla syntyi termi e-nose eli sähkönenä, jolla tarkoitetaan kaasussa tai nesteessä esiintyviä haihtuvia yhdisteitä erottelevaa laitetta. Eräs sovellus tällaisesta laitteesta on FAIMS, joka työntää haihtuvia yhdisteitä muuttuvassa sähkökentässä reagoimattoman kaasun läpi ja muodostaa tätä kautta näille ominaisen ”sormenjäljen”. Sähkönenätekniikan käyttöä syöpätautien diagnostiikassa on tutkittu jo vuosituhatien vaihteesta lähtien, mutta ensimmäiset merkittävät tutkimukset urologisista syövistä ilmestyivät vasta vuonna 2008. Myöhemmin 2010-luvulla saatiin lupaavia tuloksia mahdollisuuksista tunnistaa eturauhassyöpä sähkönenällä virtsanäytteestä, mutta lisänäyttö tälle on yhä tarpeen.

Tässä tutkimuksessa mitattiin 70:n eturauhaspotilaan virtsanäytteet FAIMS-laitteella ja pyrittiin erottelemaan eturauhassyövät (54 kappaletta) hyvänlaatuisesta eturauhasen liikakasvusta (16 kappaletta). Kyseessä on ensimmäinen FAIMS-laitteella tehty eturauhassyöpätutkimus. Tilastollisena menetelmänä käytettiin LDA- ja LOOCV-menetelmiä. Lopputuloksena FAIMS-laite ei tässä tutkimuksessa kyennyt löytämään aineistosta eturauhassyöpiä satunnaista arvausta paremmin. Aiemmissä tutkimuksissa on kuitenkin saatu viitteitä siitä, että eturauhassyövän ja hyvänlaatuisen eturauhasen liikakasvun välillä saattaa olla eroja hajukartoissa. Tämän tutkimuksen otoskoko jäi melko pieneksi, minkä lisäksi manuaaliseen mittaukseen liittyi paljon mahdollista virhettä. Näin ollen aihe vaatii edelleen lisätutkimusta.

Avainsanat: eturauhassyöpä, e-nose, FAIMS

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

SISÄLLYS

1 Tausta	
1.1 Eturauhassyöpä	
1.1.1 Epidemiologia ja etiologia	1
1.1.2 Diagnostiikka	2
1.1.3 Seulonta	4
1.1.4 Hoidon pääpiirteet	5
1.2 Sähkönenätekniikka	8
1.3 Haihtuvat yhdisteet	
1.3.1 Käyttö syöpätautien diagnostiikassa	12
1.3.2 Eturauhassyöpä	13
2 Materiaalit ja menetelmät	17
3 Tulokset	
3.1 Potilasaineisto	19
3.2 Mittaustulokset	21
4 Pohdinta	24

1 TAUSTA

1.1 Eturauhassyöpä

1.1.1 Epidemiologia ja etiologia

Eturauhassyöpä on maailmanlaajuisesti miesten toiseksi yleisin ja Suomessa miesten yleisin syöpä. Suomessa sen osuus kaikista uusista miesten syöivistä on jopa kolmannes. Eturauhassyövän ilmaantuvuus on suurimmillaan ikävuosina 75-84. Globaalisti sen esiintyvyys on suurinta teollistuneissa länsimaissa, ja juuri Pohjois-Eurooppa kuuluu suuren esiintyvyyden alueeseen. Siinä missä taudin ilmaantuvuus on ollut länsimaissa viime vuosien ajan nousussa, on sen kuolleisuus kuitenkin lievässä laskussa.^{1,2}

Vuonna 2016 Suomessa todettiin 5162 uutta eturauhassyöpää ja 900 sen aiheuttamaa kuolemaa. Taudin riski kasvaa merkittävästi ikääntyessä, ja 80 ikävuoteen mennessä sairastumisen todennäköisyys elinaikana on jo 13 % suomalaisessa miesväestössä. Syövän latenttimuotoa havaitaan vielä selvästi tätäkin enemmän, sillä peräti 70-80 %:lla 80-vuotiaista miehistä voidaan histologisesti osoittaa eturauhassyöpään viittaava muutos. Näistä latenteista taudin muodoista kuitenkin vain noin 10 % etenee kliiniseksi eturauhassyöviksi. Tauti on usein hyväennusteinen, sillä sen viiden vuoden eloonjäämisennuste on keskimäärin jopa 93 %. Suomessa elää kaiken kaikkiaan yli 50 000 eturauhassyöpää sairastavaa miestä.^{1,3}

Yleisyydestään huolimatta eturauhassyövän riskitekijät ovat edelleen huonosti tunnettuja. Varmimmin tunnistettuja tekijöitä ovat ikä, perimä, etninen tausta sekä ympäristötekijät. Varsinaisten periytyvien eturauhassyöpien osuus kaikista eturauhassyöivistä on 9 %, mutta perimä on arvion mukaan yhtenä merkittävänä tekijänä noin joka viidennessä tapauksista. Kansainvälisessä geenitutkimuksessa on toistaiseksi löydetty 100 geeniä, joiden mutaatioita arvioimalla voidaan ennustaa 39 % periytyvistä eturauhassyöivistä.^{1,2}

Tutkimuksissa on todettu ympäristötekijöillä olevan perimää suurempi vaikutus eturauhassyöpäriskiin^{4,5}. Riskiä lisääviä sairauksia ja elintapatekijöitä ovat esimerkiksi D-vitamiinin puutos, tupakointi, sukupuolitaudit, eturauhasen tulehdustilat ja metabolinen oireyhtymä. Lisäksi ylipainon on havaittu lisäävän riskiä taudin aggressiiviseen muotoon. Taudilta suojaavia

tekijöitä taas ovat muun muassa liikunta sekä useat ravintoaineet. Yksittäisissä lähteissä esitetyistä riskitekijöistä rasva-arvoilla, lihan saannilla ja testosteronivalmisteilla ei ole systemaattisesti havaittua yhteyttä suurentuneeseen eturauhassyöpäriskiinkin eikä vastaavasti suojaavina tekijöinä pidetyillä seleniumilla tai E-vitamiinivalmisteilla ole todellisuudessa havaittua suojaavaa vaikutusta. Myös 5-alfa-reduktaasin inhibiittoreita on aiemmin pidetty hyödyttöminä eturauhassyövän ennaltaehkäisyssä, mutta Oxfordissa tehdyssä varsin laajassa tutkimuksessa saatiin näyttöä siitä, että finasteridilla voisikin olla todellinen ehkäisevä vaikutus taudin etenemiseen ⁶. Varsinaisesta eturauhassyöpää ehkäisevästä ruokavaliosta tai lääkityksestä ei kuitenkaan toistaiseksi ole olemassa virallista suositusta. ^{1,2}

1.1.2 Diagnostiikka

Varhaisvaiheen eturauhassyöpä on yleensä oireeton, mikä hankaloittaa alkuvaiheen diagnostiikkaa. Käytännössä oirekuva vastaa usein hyvälaatuista eturauhasen liikakasvua, johon liittyviä oireita ovat eturauhasen ja virtsateiden tulehdus sekä virtsaamishäiriöt. Toisaalta ensimmäiset näkyvät oireet voivat olla vasta taudin etäpesäkkeiden aiheuttamia, esimerkiksi luustokivut. Suomessa perusterveydenhuollon vastaanotolla tehtäviä tutkimuksia epäiltäessä eturauhassyöpää ovat TPR (touch per rectum) sekä PSA-arvon mittaus, jotka muodostavat yhdessä potilaan iän sekä mahdollisten muiden riskitekijöiden kanssa kliinisen työkalun syöpäriskin arviointiin. Riskipotilas jatkaa tästä erikoissairaanhoidon, jossa suoritetaan transrektaalinen kaikututkimus ja tämän yhteydessä biopsianäytteiden otto sekä tarvittaessa luuston gammakuvaus. Lopullinen diagnoosi tehdään biopsianäytteestä histopatologisesti. ^{1,7}

TPR-menetelmällä pyritään ensisijaisesti arvioimaan eturauhasen kokoa sekä kiinteyttä sekä mahdollisia kyhmyjä ja kovettumia. Euroopan urologiajärjestön katsauksessa 18 %:ssa eturauhassyöpätapauksista oli TPR-löydös, joten kyseessä on varsin epäsensitiivinen menetelmä. Tästä syystä sen tukena käytetään PSA-mittausta (Prostate Specific Antigen). PSA mittaa nimensä mukaisesti spesifisesti eturauhasen toimintaa, mutta toisaalta se ei ole syöpäspesifinen ja voi nousta myös esimerkiksi benignissä liikakasvussa sekä virtsatie- ja eturauhastulehduksissa. Tästä syystä PSA-arvoa käytetään tilannekohtaisesti eturauhassyövän kokonaisriskin arvioinnissa, eikä yksittäinen korkea PSA-arvo ole yksinään aihe biopsialle. Seerumin PSA:n viitearvot eri-ikäisillä miehillä on esitetty taulukossa 1. Taulukosta nähdään, että ikääntymisen seurauksena PSA-arvot kohoavat fysiologisesti. Mittauksissa tarkastellaan seerumin PSA:n lisäksi erikseen vapaata PSA:ta, jonka avulla voidaan arvioida syöpäriskiä erityisesti seerumin PSA:n ollessa matala (<10 µg/l). Mitä korkeampi vapaan PSA:n suhteellinen osuus kokonais-PSA:sta on, sitä pienempi on

syöpäriski. ^{1,2}

Taulukko 1: S-PSA:n viitearvot eri-ikäisillä miehillä ¹

Ikä (v)	S-PSA (µg/l)
40–49	alle 2,5
50–59	alle 3,5
60–69	alle 4,5
70–79	alle 6,5

Taulukossa 2 on esitetty kokonais-PSA:n ja vapaan PSA:n (%) pitoisuudet suhteessa eturauhassyövän todennäköisyyteen. Arvot tulee suhteuttaa potilaan oirekuvaan ja riskitekijöihin. Käytännössä S-PSA:n ollessa <10 µg/l ja vapaan PSA:n osuuden ollessa yli 25% ei potilas vaadi jatkotutkimuksia, ellei TPR:ssä ole löydöstä. ^{1,2}

Taulukko 2: PSA-pitoisuus ja eturauhassyövän todennäköisyys ¹

Seerumin tai plasman PSA-pitoisuus	Eturauhassyövän todennäköisyys
Kokonais-PSA-pitoisuus (µg/l)	%
0–2	1
2–4	15
4–10	25
yli 10	yli 50
Vapaan PSA:n osuus (%), kun kokonais-PSA-pitoisuus on 4–10 µg/l	
0–10	56
10–15	28
15–20	20

20–25	16
yli 25	8

Eurooppalaisen suosituksen mukaan ennen biopsianäytteen ottoa tulisi vielä suorittaa tarkentavia tutkimuksia syöpäepäilyn vahvistamiseksi, jotta vältetään turhat invasiiviset toimenpiteet. Näitä tutkimuksia voivat olla esimerkiksi transrektaalinen ultraäänitutkimus – kuten Suomessa – tai erillisen eturauhassyövälle tarkoitettun riskilaskurin käyttö. Seitsemää eri riskilaskuria (ERSPC RPCRC, Finne, Chun, ProstataClass, Karakiewicz, Sunnybrook, PCPT 2.0) on vertailtu kansainvälisessä tutkimuksessa, mutta mikään näistä ei näyttäytynyt selkeästi toista parempana⁸. Samalla todettiin, että riskilaskureiden lisäksi tarvitaan joka tapauksessa muita tutkimusmenetelmiä. Edellä mainittujen tutkimusten lisäksi on olemassa suhteellisen uusia virtsapohjaisia PSA:n kaltaisia antigeenitestejä, kuten PCA3, joita voidaan harkiten käyttää diagnosoinnin tukena. Näistä testeistä on kuitenkin toistaiseksi vielä vain vähän tutkimustietoa.²

Prostatabiopsiassa otetaan transrektaalaisesti tai -perineaalisesti 10-12 kappaletta näytteitä, joista patologi antaa lausunnon. Tarvittaessa biopsian löydöksiä voidaan tarkentaa vielä CT- tai MRI-kuvauksilla, jotka voivat olla aiheellisia erityisesti syövän levinneisyyden arvioinnissa. Histologisesta näytteestä arvioidaan potilaan eturauhassyöpäriskiä Gleason-pisteytyksellä, joka jakaa taudin vaiheen viiteen pisteytysluokkaan. Gleason 1 edustaa luokittelussa parasta ennustetta ja Gleason 5 taas huonointa. Gleason-pisteet määritetään siten, että näytteissä esiintyvien primaarisen ja sekundaarisen tautivaiheen pisteet lasketaan yhteen, ja riski ilmoitetaan muodossa *primaaripisteet + sekundaaripisteet = yhteispisteet*. Histopatologinen analyysi sekä potilaan jäljellä olevan eliniän odote määräävät mahdolliset tulevat toimenpiteet sekä hoitolinjan.^{2,9}

1.1.3 Seulonta

Eturauhassyövän seulonta on yksi urologisen kirjallisuuden kiistellyimpiä aiheita. Johtuen syövän yleisyydestä sekä oireettomasta varhaisvaiheen taudinkuvasta aiheesta on myös tutkittu paljon seulonnan tarpeen ollessa ilmeinen. Kuten muitakin seulontoja, voidaan eturauhassyövän seulontamenetelmiä tarkastella systeemisenä kansallisen tason, tai opportunistisena yksilötason toimenpiteenä. Tähtäimenä kaikessa seulonnassa on vähentää tautiin liittyvää kuolleisuutta ja parantaa elämänlaatua. Eturauhassyövän seulonnan ongelmana onkin ollut juuri liian vähäinen vaikutus kuolleisuuteen suhteessa sen aiheuttamiin haittoihin eli yli-diagnosointiin ja -hoitoon.²

Vuonna 2009 Amerikassa julkaistiin kolme suurta tutkimusta, joiden perusteella saatiin D-tason näyttö eturauhassyövän seulonnasta PSA-mittausten avulla. Ongelmana menetelmässä oli se, että siinä missä taudin diagnoosit lisääntyivät, ei kuolleisuus vähentynyt. Samansuuntainen tulos saatiin neljä vuotta myöhemmin julkaistussa Cochrane-katsauksessa ¹⁰. Myöhemmin on saatu hieman viitteitä taudin kuolleisuutta vähentävästä vaikutuksesta: esimerkiksi Suomi on ollut mukana eurooppalaisessa tutkimuksessa, jossa PSA-seulonta vähensi eturauhassyövän kuolleisuutta viidenneksellä ¹¹. Myös Amerikassa seulonnan näyttöaste päivitettiin vuonna 2017 C-tasolle 55-69-vuotiailla miehillä. Tästä huolimatta seulonnan haitat arvioidaan edelleen hyötyjä suuremmiksi, eikä kansallisen tason seulonta ole kannattavaa PSA-mittauksilla. Yksilötasolla PSA-mittauksista voi kuitenkin olla hyötyä kohonneen riskin potilaille, joita on informoitu hyvin mittauksiin liittyvistä epävarmuustekijöistä. Näitä potilasryhmiä ovat yli 50-vuotiaat, yli 45-vuotiaat perinnöllisen riskin omaavat tai yli 45-vuotiaat afroamerikkalaiset miehet, joiden eliniänodote on vähintään 15 vuotta. Yksilöidylläkin seulonnalla tehtävistä diagnooseista jopa yli puolet saattavat kuitenkin olla tapauksia, jotka eivät vaadi kliinistä hoitoa. ²

1.1.4 Hoidon pääpiirteet

Kuten todettua, keskimääräiset eturauhassyövän ennusteet ovat varsin hyviä: paikallisessa syövässä viiden vuoden elossaoloennuste on vielä yli 90 %. Tilanne muuttuu kuitenkin taudin vaikeissa muodoissa, sillä levinneessä ja metastasoituneessa eturauhassyövässä viiden vuoden jälkeen keskimäärin enää noin kolmasosa potilaista on elossa. Näin ollen taudin riskiluokitus on merkittävä hoitoon vaikuttava tekijä. Myös potilaan yleisellä terveydentilalla on merkitystä: alle 10 vuoden jäljellä olevan elinajanodotteen potilaita ei ole tutkitusti järkevää hoitaa aktiivisesti. Näiden tekijöiden lisäksi hoitolinjaan vaikuttavia tekijöitä ovat potilaan omat odotukset ja toiveet sekä paikalliset olosuhteet, kuten etäisyydet ja hoitomahdollisuudet. ¹

Euroopan urologiajärjestö jakaa eturauhassyöpäpotilaat kolmeen riskiluokkaan – matala, keskisuuri ja suuri – joita käytetään apuna hoidon linjauksessa ². Luokituksen tarkoituksena on kuvata todennäköisyyttä taudin uusiutumiselle hoidon jälkeen. Luokitukseen vaikuttavia tekijöitä ovat taudin paikallisuus, PSA-arvo, Gleason-pisteet sekä TNM-luokitus. Luokituskriteerit on esitetty taulukossa 3.

Taulukko 3:EAU:n riskiluokitus eturauhassyövän uusiutumislle paikallisissa ja paikallisesti levinneissä syövässä (mukailtu) ²

Matala riski	Keskisuuri riski	Korkea riski	
PSA < 10 ng/ml ja GS < 7 (ISUP-aste 1) ja cT1-2a	PSA 10-20 ng/ml tai GS 7 (ISUP-aste 2/3) tai cT2b	PSA > 20 ng/ml tai GS > 7 (ISUP- aste 4/5) tai cT2c	Mikä tahansa PSA Mikä tahansa GS (tai ISUP-aste) cT3-4 tai cN+

Paikallisissa eturauhassyövässä matalan riskin potilailla suurin riski on taudin ylihoito, minkä takia kyseisillä potilailla suositetaan ensisijaisesti konservatiivista hoitolinjaa. Tämä tarkoittaa joko aktiivista tai passiivista seuranta. Englannin kielessä aktiivinen seuranta jaetaan vielä erikseen kahteen alaluokkaan: active surveillance (AS) ja active monitoring (AM). Näistä jälkimmäinen kuvaa kevyempää konservatiivista hoitolinjaa. Molempien seurantamuotojen tarkoituksena on minimoida hoidon aiheuttamat haitat, mutta aktiivisen seurannan päämääränä on kuitenkin taudin parantaminen siinä missä passiivinen seuranta on palliatiivinen hoitolinjaus. Aktiiviseen seurantaan kuuluvia toimenpiteitä ovat toistuvat PSA-mittaukset, TPR-tutkimukset sekä uusintakoepalat. Aktiivisen ja passiivisen seurannan tavoitteet, toteutus ja merkittävimmät erot on esitetty taulukossa 4. ^{1,2}

Taulukko 4:Aktiivisen ja passiivisen seurannan määritelmät (mukailtu) ²

	Aktiivinen seuranta	Passiivinen seuranta
Hoidon päämäärä	Kuratiivinen	Palliatiivinen
Seuranta	Ennaltamäärätty aikataulu	Potilaskohtaisesti
Arviointi	TPR, PSA, rebiopsia, mpMRI	Ei määritelty
Elinajanodote	> 10 vuotta	< 10 vuotta
Prioriteetti	Elinajan pidennys	Hoidon haittojen minimointi
Kohderyhmä	Matalan riskin potilaat	Kaikkien vaiheiden potilaat

Hoitolinjan vaihto seurannasta aktiiviseen hoitoon vaatii käytännössä muutosta biopsianäytteessä tai harvoissa tapauksissa potilaan toivetta hoitolinjan muuttamisesta. Tällöin potilaan tulee olla hyvin informoitu, sillä matalan riskin potilailla aktiivisen hoidon tehosta ei ole tutkimuksissa osoitettu hyötyä konservatiiviseen hoitoon verrattuna. Sen sijaan siirryttäessä keskisuuren riskin syöpäpotilaisiin on jo vahvaa näyttöä leikkaushoidon – eli käytännössä radikaalin prostatektomian – hyödystä verrattuna seurantaan. Myös sädehoito on kyseisten potilaiden kohdalla mahdollista mikäli leikkaushoitoa ei voida jostain syystä toteuttaa. Sädehoitoa voidaan antaa joko ulkoisena

sädetyksenä tai lyhytetäisyksisenä sädehoitona eli brakyterapiana. Näistä jälkimmäinen ei kuitenkaan sovellu kaikille keskisuuren riskin potilaille. Tarvittaessa sädehoitoon voidaan vielä yhdistää lyhytkestoinen hormonihoito, mikä tarkoittaa androgeenisalpausta joko kastroatiolla tai reseptoritason salpauksella. ^{1,2}

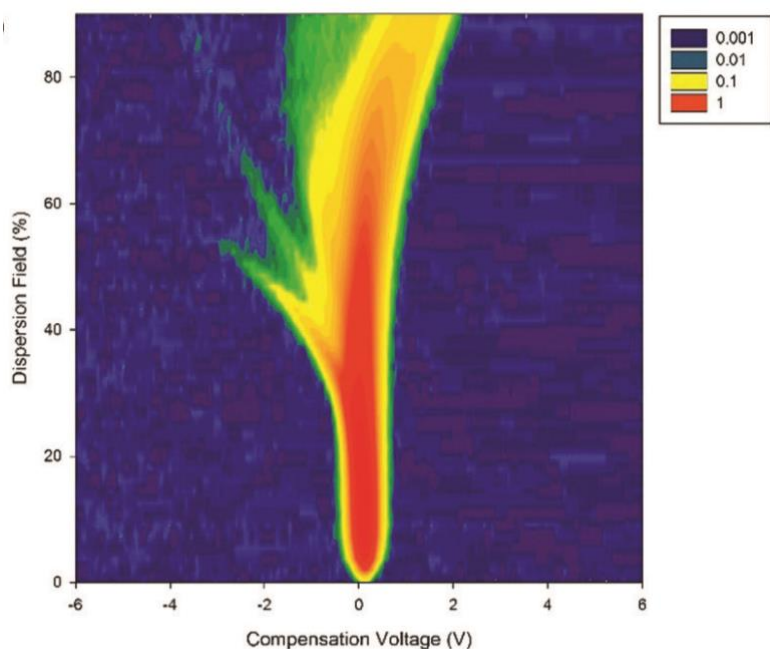
Radikaali prostatektomia on hyvä hoitomuoto myös paikallisen eturauhassyövän korkean riskin potilaille, mutta usein leikkaus saattaa olla jo käytännössä mahdoton toteuttaa kasvaimen leviytystä virtsateiden tai lantionseinämän puolelle. Tällöin hoitolinja on useimmiten pitkäkestoinen sädehoito yhdistettynä pitkäkestoiseen hormonihoitoon. Myös lantion imusolmukkeiden poistoleikkaus on yleensä tarpeen. Paikallisiin eturauhassyöpiin on olemassa myös kokeellisia hoitomuotoja – kuten jäädytyshoito ja korkeaintensiivinen ultraäänihoito – joista ei ole kuitenkaan vielä olemassa tarpeeksi luotettavaa tutkimustietoa. ^{1,2}

Mikäli eturauhassyöpä on metastasoinut, ei leikkaushoidosta saada enää hyötyä, sillä tautia ei voida sen avulla parantaa. Tällöin hoitolinjana on hormonihoito. Mikäli potilaan jäljellä olevan eliniän odote on alle 10 vuotta, valitaan riskiluokituksesta ja levinneisyydestä riippumatta aina palliatiivinen hoitolinja. Eturauhassyövän kohdalla palliatiiviseen hoitoon kuuluvat syöpäkipujen hoito, virtsaretention helpottaminen sekä mahdollisen anemian korjaaminen punasolusiirroilla. ²

1.2 Sähkönenätekniikka

Yli 2000 vuoden ajan on tiedetty, että tiettyihin ihmisen sairaustiloihin liittyy hengityksen, virtsan tai hien kautta välittyvä poikkeava hajuaistimus. Yhtenä modernina esimerkkinä tästä toimii ketoaineiden haistaminen hengityksestä hyperglykeemisessä ketoasidoosissa. 1980-luvulta lähtien tekniikka mahdollisti keinotekoisien hajuaistin kehityksen, minkä perustana oli pitkälti nisäkkäiden hajuaisti. Saman vuosikymmenen lopulla alettiin myös tutkia laajemmin mahdollisuutta diagnosoida tauteja koirien hajuaistin avulla ¹². Vuonna 1994 syntyi termi e-nose eli sähkönenä, jonka toiminta perustuu laitteen kykyyn erotella kaasussa tai nesteessä esiintyviä haihtuvia yhdisteitä (engl. volatile organic compound, VOC). ¹³

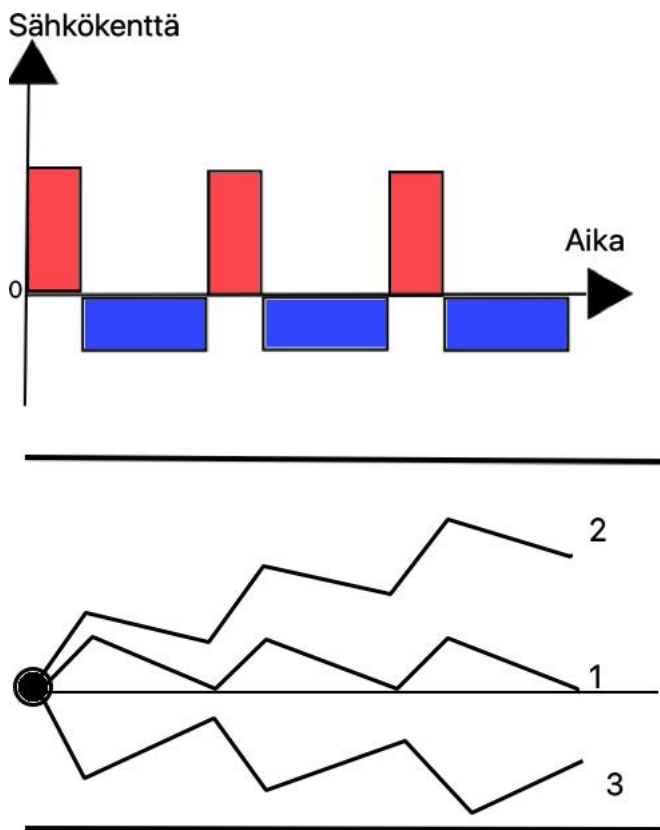
Vuosia ennen sähkönenää kehitetyllä kaasukromatografia-massaspektrometrillä (GC-MS) pystyttiin jo havaitsemaan tautispesifisiä biomerkkiaineita laboratorio-olosuhteissa, mutta eri molekyylien tarkempi erottelu ei ollut mahdollista. Lisäksi kyseessä oli kallis, monimutkainen ja hidas tutkimusmenetelmä, minkä takia sitä ei koskaan käytetty rutiininomaisena diagnostisena työkaluna. GC-MS toimi kuitenkin tärkeänä porttina sähkönenän kehitykseen, sillä sen myötä havaittiin, ettei tautien diagnosointi välttämättä edellytäkään molekyylien tunnistamista. Tarkan erottelun sijaan pyrittiinkin luomaan näytteelle tietynlainen sormenjälki (engl. electronic aroma signature pattern, EASP), jota pystyttiin vertaamaan olemassaolevaan dataan. Kuvassa 1 on kuvattu jäljempänä tässä kappaleessa käsitellyn FAIMS:n luoma tyypillinen virtsanäytteen sormenjälki. ¹³



Kuva 1: Tyypillinen FAIMS:n luoma sormenjälki virtsanäytteelle ¹⁴

Sähkönenätekniikka koostuu kolmesta osasta: näytteen esittely (sample delivery), tunnistus (detection) ja datan käsittely (data computing). Näytteen esittely tarkoittaa nimensä mukaisesti tapaa, jolla näyte esitellään sähkönenälle ja se riippuu muun muassa näytteen olomuodosta sekä tarvittavan informaation laadusta. Yleisimmin käytetty esittelytapa on SHE (static headspace extraction). Siinä näyte asetetaan ilmatiiviisti yhteen laitteen detektorin kanssa, ja kyseiseen tilaan muodostuu kemiallinen tasapaino, joka on riippuvainen näytteen haihtuvien yhdisteiden laadusta. Näytteen tunnistus puolestaan tarkoittaa menetelmää, jolla laite erottelee näytteen molekyylit ja muodostaa sille oman sormenjäljen. Viimeisenä vaiheena sähkönenätekniikassa on datan käsittely, joka tarkoittaa käytännössä detektorin antaman tiedon muokkaamista siten, että sitä voidaan verrata helposti ja luotettavasti käytössä olevaan dataan.¹⁵

Kuten todettua, GC-MS on raskas työkalu, joka vaatii laboratorio-olosuhteet. Vuosituhannen vaihteessa alettiin kehittää FAIMS:a (Field-Asymmetric Ion Mobility Spectrometry), jolla pyrittiin ratkaisemaan näitä massaspektrometriin liittyviä käytännön ongelmia. Sen perusmekanismina on tavallisen IMS:n (Ion Mobility Spectrometry) tapaan näytteen ionien erottelu työntämällä ne sähkökentän avulla reagoimattoman kaasun läpi. Tämä erottelu voidaan massaspektrometrissä poiketen tehdä huoneenlämmössä ja normaalissa ilmanpaineessa¹⁶. Siinä missä IMS:ssa sähkökentän voimakkuus on vakio, käyttää FAIMS nimensä mukaisesti muuttuvaa sähkökenttää. Metallilevyjen väliin muodostuu ensin korkeavoimakkuuksinen kenttä (dispersion field, DF), joka saa ionit suistumaan radaltaan. Tämän jälkeen matalavoimakkuuksinen kenttä (compensation field, CF) pyrkii vastustamaan tätä kenttää¹⁷. Kuvassa 2 on havainnollistettu kuvitteellisia ionien liikeratoja suhteessa vallitsevaan sähkökenttään. Laite mittaa ionien nopeuksia eri sähkökentissä ja muuttaa kenttiä siten, että lopulta tarkasteltava ioni pääsee järjestelmästä läpi. Saatu lopputulos on IMS:a tarkempi. FAIMS-sirussa edellä mainittujen metallilevyjen väli on hyvin pieni, jolloin vaadittavan sähkökentän voimakkuus on myös pieni. Tämä mahdollistaa pienemmän generaattorin käytön, mikä taas tekee laitteesta liikuteltavan kokoisen.^{14,18}



Kuva 2: Muuttuva sähkökenttä ja ionien liikeradat

FAIMS on siis suhteellisen helposti kuljetettava ja käyttökelpoinen myös laboratorion ulkopuolella, mikä laajentaa sen käyttömahdollisuuksia moninkertaisesti raskaaseen massaspektrometriin verrattuna. Sitä voitaisiin teoriassa käyttää esimerkiksi terveyskeskuksissa ja sairaaloissa diagnostiikan tukena sekä heikomman terveydenhuollon maissa kannettavana seulontatyökaluna. Käytännössä se ei kuitenkaan ole vielä rutiininomaisessa käytössä. Muuttuva sähkökenttä tekee ionien liikkuvuuden arvioinnista vakioitua kenttää haastavampaa, eikä sitä vielä ymmärretä täydellisesti. FAIMS:n herkkyys ja tarkkuus eivät myöskään ole yleisesti ottaen yhtä hyviä kuin laboratorio-olosuhteissa käytetyn massaspektrometrin, vaikka yksittäisissä asetelmissä se onkin yltänyt tämän tasolle ja jopa sen yli ¹⁹. FAIMS voisi kuitenkin tulevaisuudessa muodostaa GC-MS:lle helpon ja non-invasiivisen aputyökalun, jonka avulla diagnoosia saadaan nopeutettua ja tarkennettua. ¹⁸

Sähkönenätekniikkaa on alusta asti kehitetty laajasti eri teollisuudenaloille, joista biolääketiede on kaikista nopeimmin kehittynyt. Ensimmäiset lääketieteelliset diagnostiset tutkimukset tehtiin hengitysilmaasta vuosituhaten vaihteessa ¹³. Myöhemmin tämän jälkeen näytteinä on käytetty myös esimerkiksi virtsaa, hikeä ja kudosta. Yleisimmin tekniikkaa on sovellettu infektioiden, endokriinisten sairauksien ja maligniteettien diagnosointiin. Sähkönenän eräitä terveydenhuollon käyttösovelluksia ja niihin liittyviä biomerkkiaineita on esitetty taulukossa 5.

Taulukko 5: Sähkönenän sovelluksia ihmisen sairauksissa (mukailtu)¹³

Tauti	Näyte	Biomerkkiaineet
Virtsatieinfektio	Virtsa	S. Aureus E. Coli P. Mirabilis Isovaleriaanihappo, alkaanit
Tuberkuloosi	Yskös	M. tuberculosis, M. avium, P. aeruginosa
	Hengitys	Oksetaani, 3-(1-metyylietyyli)-dodekaani, 4-metyylisykloheksaani
	Keuhkokudos	PD-1, TIM-3, KLRG-1
KNK-infektiot	Nielupyyhkäisy	S. aureus, P. aeruginosa, S. pneumoniae, S. pyogenes, H. influenzae
Astma	Hengitys	Pentaani, etaani, 8-isopropaani, nitriittioksidi, kysteinyylileukotrieenit, prostaglandiini E2
	Yskös	ECP
Rintasyöpä	Hengitys	C4-C20 alkaanit, monometyloidut alkaanit
COPD	Hengitys	NO, divetyperoksidi, aldehydit, 8-isopropaani, nitrotyrosiini, leukotrieeni B4, sytokiinit

1.3 Haihtuvat yhdisteet

Haihtuvat yhdisteet eli VOC:t ovat hiilipohjaisia kemiallisia yhdisteitä, joilla on alhainen molekulaarinen paino ja korkea haihtuvuus. Käytännössä tautien diagnostiikassa tutkittavat haihtuvat yhdisteet ovat soluaineenvaihdunnan lopputuotteita.²⁰ Sähkönenätekniikan kehittyttyä ensimmäisenä tutkimuskohteena olivat hengitysilman haihtuvat yhdisteet, yleensä nimenomaan infektioihin liittyen. Hengityksestä onkin havaittu erittyvän kaikille bakteereille ominaisia haihtuvia yhdisteitä – kuten isopentanol, formaldehydi, metyyliimerkaptaani ja trimetyyliamiini – joita ihminen ei tuota. Lisäksi on pystytty tunnistamaan tietyille bakteereille spesifisiä haihtuvia yhdisteitä: esimerkiksi *Staphylococcus Aureuksen* on havaittu erittävän ilmaan isovaleriaanihappoa ja *Eschericia Colin* vastaavasti etyyliasettaattia. Teoriassa diagnostiikka haihtuvien yhdisteiden avulla on siis mahdollista, mutta kuten todettua, on menetelmä käytännössä hankala sen monimutkaisuuden vuoksi. Lisäksi esimerkiksi taudinaiheuttajien kohdalla ongelmana on myös se, ettei patogeenien laadusta saada sähkönenällä tietoa.²¹

1.3.1 Käyttö syöpätautien diagnostiikassa

Syöpätaudit vaikuttavat elimistön homeostaattisiin järjestelmiin ja metaboliittien tuotantoon, minkä takia aineenvaihdunnan kautta voidaan tutkia tiettyjen syöpien käyttäytymistapoja noninvasiivisesti²⁰. On kuitenkin jokseenkin epäselvää, miksi syöpäkasvaimet erittävät poikkeavia haihtuvia yhdisteitä. Ilmiön on esitetty selittyvän kasvaimen kasvuun liittyvien geenien ja/tai proteiinien muutoksilla, jotka johtavat solukalvon rakenteiden peroksidaatioon, mikä taas aiheuttaa haihtuvien yhdisteiden poikkeavan erittymisen²². Kuten infektoiden diagnostiikassa, myös syöpien kohdalla on löydetty niihin liittyviä spesifisempiä haihtuvia yhdisteitä. Näitä ovat esimerkiksi aldehydit, aromaattiset hiilivedyt ja monet alkoholit²⁰. Käytännön diagnostiikkaa vaikeuttavat kyseisten metaboliittien eritykseen vaikuttavat sekoittavat tekijät kuten ikä, ruokavalio, lääkkeet ja perimä.

Ensimmäiset haihtuvien yhdisteiden syöpätutkimukset tehtiin hengitysilmaasta Phillipsin tutkimusryhmän toimesta vuosituhaten vaihteessa²³. Pian tämän jälkeen tehtiin useita vastaavia kvalitatiivisia tutkimuksia, jotka kaikki osoittivat selvän eron terveiden ja sairaiden potilaiden hengitysilman hajuprofiilien välillä. Näin jo varhain vuosituhaten alussa voitiin luotettavasti todeta, että sähkönenätekniikka on potentiaalinen menetelmä syöpätautien diagnosoinnissa. Toisaalta varhaisissa tutkimuksissa käytettiin säännönmukaisesti vain potilaita, joilla syöpädiagnoosi oli jo tehty ja joiden ennuste oli siis heikko. Näin ollen näyttöä tautien varhaisvaiheen diagnosoinnista ei vielä ollut.²⁴

Alkuvaiheessa tutkimuksen kohteena oli nimenomaan keuhkosityöpä, koska näyttöä muiden syöpien erittämien haihtuvien yhdisteiden mittaamisesta hengitysilma ei ollut olemassa. Tämä lienee myös suurin syy, miksi keuhkosityöpä on selvästi eniten sähkönenällä tutkittu syöpätauti, ja myöhemmissä sähkönenätutkimuksissa on jopa pystytty löytämään sen esiasteita. 2000-luvulla huomattiin myös, että kaikkien syöpien systeeminen vaste synnyttää hengitysilmaan erittyviä poikkeavia haihtuvia yhdisteitä. Lisäksi sähkönenätutkimuksia laajennettiin hengitysilmaasta myös virtsaan, vereen ja hiekeen. Näin pystyttiin keuhkosityövän lisäksi tutkimaan esimerkiksi kolorektaalisyöpää sekä gynekologisia ja urologisia syöpiä ²⁵⁻²⁷. ²⁴

1.3.2 Eturauhassyöpä

Varhaisimmat virtsanäytteistä tehdyt sähkönenätutkimukset käsittelivät lähinnä infektioita. Vasta vuonna 2008 julkaistiin ensimmäinen merkittävän mittakaavan sähkönenätutkimus urologisista syövistä, kun Bernabein tutkimusryhmä selvitti rakko- ja eturauhassyövän diagnosointia virtsanäytteistä ennen ja jälkeen eturauhasen kasvaimen leikkausta ²⁷. Tutkimuksessa tunnistettiin PLS-DA -tilastomenetelmällä 100 % eturauhassyövistä ennen kirurgista operaatiota. Vastaavasti osaa näistä syövistä ei enää tunnistettu operaation jälkeen. Vaikka Bernabein ryhmän tutkimus ei ottanut kantaa esimerkiksi potilasryhmiin eikä syövän kliiniseen luokitteluun, antoi se ensimmäisen kerran vakuuttavaa näyttöä sähkönenätekniikan potentiaalista eturauhassyövän noninvasiivisessa diagnostiikassa.

Eturauhassyöpään liittyviä haihtuvia yhdisteitä ei ole tutkittu pelkästään sähkönenällä virtsasta. Vuonna 2010 Pengin tutkimusryhmä esitti tutkimuksen, jossa selvitettiin keuhko-, rinta-, kolorektaali- ja eturauhassyöpien ilmenemistä hengitysilmassa ²². Puutteellisesta raportoinnista huolimatta tutkimus antoi näyttöä siitä, että hengitysilman haihtuvista yhdisteistä on osoitettavissa myös muuta kuin keuhkosityöpää. Lisäksi 2010-luvulla on jatkettu jo ennen vuosituhaten vaihdetta aloitettuja koirakokeita. Cornun tutkimusryhmä saavutti vuonna 2011 koirien avulla 91 %:n sensitiivisyyden ja spesifisyyden eturauhassyövän diagnostiikassa ²⁸, ja kolme vuotta myöhemmin Tavernan ryhmä tunnisti koirien hajuistilla kaikki aineistossa olleet eturauhassyövät 100 %:n tarkkuudella ²⁹.

Sähkönenätekniikan kehittyttyä myös siihen liittyvien tutkimusten määrä on lisääntynyt 2010-luvulla. D'Amico tutki vuonna 2012 spesifisti eturauhassyövän diagnostiikkaa sähkönenällä ja sai lupaavia tuloksia menetelmän potentiaalista ³⁰. Kyseessä oli kuitenkin vain 21 näytteen otos, joten

lisätutkimuksille ja menetelmien standardoinnille oli lisätarvetta. Kaksi vuotta myöhemmin Santonicon tutkimusryhmä vahvisti aiempaa näkemystä siitä, että eturauhassyövän diagnosointi sähkönenällä on mahdollista ja voisi olla tietyin ehdoin jopa käytännössä järkevää ³¹. Tulokset olivat kuitenkin edelleen vain kvalitatiivisia. Käytännön ongelmana tulosten tulkinnassa oli myös se, että kultaisena standardina käytettiin PSA-arvoa yhdistettynä biopsianäytteeseen, mihin liittyy suurta epävarmuutta, sillä peräti 10-15 % standardin mukaisista negatiivisista tuloksista on vääriä ³².

Vuonna 2014 Asimakopouloksen tutkimusryhmä otti virtsanäytteet potilailta ennen prostatabopsiaa ja vertasi tuloksia biopsiassa saatuihin vastaaviin ³³. 14:sta sairaasta sähkönenä löysi 10 ja 27:stä terveestä 25, eli menetelmän sensitiivisyydeksi saatiin 71,4% ja spesifisyydeksi 92,6%. Samana vuonna Roineen tutkimusryhmä keräsi näytteitä sekä potilailta, joilla oltiin diagnosoitu eturauhassyöpä, että sellaisilta, joilla diagnoosina oli eturauhasen hyvänlaatuinen liikakasvu ³⁴. Tulokset määritettiin kahdella eri data-analyysillä: ensimmäinen analyysi tuotti menetelmän sensitiivisyydeksi 78% ja spesifisyydeksi 67%, kun taas toisessa analyysissä vastaavat lukemat olivat 82% ja 88%. Huomionarvoista on, että Asimakopoulos ja Roine olivat mainituista tutkijoista ainoita, jotka käyttivät tutkimuksissaan ristiinvalidointia.

Kaikissa edellä mainituissa eturauhassyöpätutkimuksissa on siis saatu selvä ero sairaiden ja terveiden välillä. Toisaalta tutkimusten tulosten yksityiskohdissa on paljon merkittäviä eroja. Vuoteen 2016 mennessä sähkönenällä tehdyt eturauhassyöpään liittyvät tutkimukset on koottu yhteen taulukossa 6.

Taulukko 6: Koonti sähkönenällä tehdyistä eturauhassyöpätutkimuksista (mukailtu)³²

1. kirjoittaja	Näytteen valmistelu	Tulokset	Otos
Bernabei et al.	Virtsaa kerätty aamulla ennen ruokailua. Säilötty 25 °C, 10 ml näytettä injektioitu 2 litran kokoiseen nitraatilla täytettyyn pussiin	(1) PLS-DA → potilaiden ja terveiden erottelu 100 % (2) PCA → ei täydellistä eroa kasvainten välille (3) PCA → osa potilaista siirtyi operaation myötä sairaista terveiksi	131 näytettä (18 terveen kontrolli)
D'Amico et al.	Näytteet kerätty steriilisti virtsa-astioihin	PLS-DA → raportoidut tulokset vain kvalitatiivisia, ei pohdintaa menetelmän	21 näytettä (ei kontrollia)

		luokittelun tarkkuudesta, sensitiivisyydestä tai spesifisyydestä	
Santonico et al.	Mittaukset huoneenlämmössä	PLS-DA→ raportoidut tulokset vain kvalitatiivisia, ei raportoitua kvantitatiivista dataa	41 näytettä (27 terveen kontrolli)
Asimakopoulos et al.	Mittaukset tehty kahden tunnin sisällä näytteen keräämisestä.	PLS-DA→ sensitiivisyys 71.4 %, spesifisyys 92.6 %	41 näytettä (27 terveen kontrolli)
Roine et al.	Näytteet sulatettu ja pipetoitu lämmitetylle lautaselle, pidetty 37 °C	LOOCV→sensitiivisyys 78 %, spesifisyys 67 % LDA→sensitiivisyys 82 %, spesifisyys 88 %	74 näytettä (24 terveen kontrolli)

Uusimmissa tutkimuksissa on löydetty myös mahdollisia eturauhassyövälle spesifisiä haihtuvia yhdisteitä. Khalidin tutkimusryhmä vertaili vuonna 2015 neljän haihtuvan yhdisteen (dihydromyrsenoli, valeraldehydi, 3-oktanoni, 2-oktanoni) avulla tehtävää eturauhassyöpädiagnostiikkaa PSA-mittauksiin³⁵. Yksinään sähkönenän tarkkuus vastasi tutkimuksessa PSA-mittausta (63-65 %), ja yhdessä PSA:n kanssa käytettynä tarkkuus saatiin nostettua lähelle 70 prosenttia. Nykytiedon valossa kenties merkittävin yksittäinen eturauhassyövälle spesifinen haihtuva yhdiste on pentadekaani-2-oni, jota ilmenee kaikissa eturauhassyövissä ja jonka merkitys on todistettu jo useissa eri tutkimuksissa²⁰.

Suuri ratkaisematon ongelma eturauhassyövän hoitolinjan valinnassa on se, ettei syövän aggressiivisuutta pystytä varmuudella arvioimaan nyky menetelmillä. Vuonna 2018 Liman tutkimusryhmä löysi kuitenkin tutkimuksessaan yhdisteitä, jotka antavat osviittaa mahdollisesta syövän metastasoinnista²⁰. Suureen metastaasiriskiin liittyviä haihtuvia yhdisteitä tutkimuksessa olivat 2,7-dimetyylioktaani-1-oli sekä 2-(4-metyylisykloheks-3-en-1-yyli)propani-2-oli, kasvaneeseen riskiin liittyvä yhdiste dekanoli ja matalan riskin yhdisteitä 3-metyylibut-3-en-2-oli, 1-metoksypropan-2-yyliasettaatti ja 1,4-ksyleeni. Lisäksi samassa tutkimuksessa havaittiin 3,7-dimetyyliokt-7-en-1-olin korreloivan syövän androgeenivasteeseen. Myös Jiménez-Pachecon ryhmä tutki samana vuonna haihtuvien yhdisteiden eroavuutta eturauhassyövissä ja hyvänlaatuisessa eturauhasen liikakasvussa³⁶. Tuloksissa havaittiin eroavaisuuksia furaanin, 2-etyyliheksanolin, 3,5-dimetyylibentsaldehydin, santoliinitrieenin ja dihydromyrsenolin ilmenemisessä kyseisissä potilasryhmissä.

Eturauhassyövän diagnosointi sähkönenällä on siis kehittynyt jatkuvasti, mutta suuremmille kvantitatiivisille tutkimuksille on edelleen tarvetta. Uusimmissa tutkimuksissa havaitut erot metastasoivien ja hyvänlaatuisten eturauhassyöpien välillä voivat uudistaa taudin hoitolinjoja, mikäli menetelmä saadaan kliiniseen käyttöön. Toistaiseksi tehtyjen tutkimusten aineistot ovat olleet suhteellisen pieniä, näytteiden tulkinta on yhä erittäin monimutkaista ja tuloksia on saatu vain laboratorio-olosuhteissa. Näin ollen lupaavista tuloksista huolimatta sähkönenän käyttö kliinisesti eturauhassyövän varhaisdiagnoosissa ei ole vielä ajankohtaista.

2 MATERIAALIT JA MENETELMÄT

Tässä tutkimuksessa käytetyt näytteet kerättiin Tampereen yliopistollisen sairaalan ja Hatanpään sairaalan urologian poliklinikoilta leikkaustoimenpiteeseen meneviltä potilailta aikavälillä 03/2011-11/2012. Hyvänlaatuisen eturauhasen liikakasvun kohdalla leikkaustoimenpide oli joko eturauhasen höyläys tai halkaisu. Eturauhassyövässä leikkauksena oli radikaali prostatektomia. Virtsanäyte otettiin 50 millilitran koeputkeen toimenpidepäivän aamuna. Näytteet merkittiin anonyymisti koodilla ja pakastettiin. FAIMS-laitteella suoritettavat mittaukset tehtiin Tampereen yliopiston Arvo-rakennuksella ajanjaksona 30.5.2017 - 4.10.2017. Tähän tutkimukseen sisällytettyjä näytteitä mitattiin yhteensä 70, joista 54:ssä tapauksista diagnoosina oli prostatakarsinoma ja 16:sta tapauksista eturauhasen hyvänlaatuinen liikakasvu.



Kuva 3: FAIMS-laitte

Näytteet otettiin sulamaan pakastimesta jääkaappiin edellisenä päivänä 18-25 tuntia ennen mittauksen ajankohtaa. Mittausten alkaessa kaikki kyseisenä päivänä mitattavat näytteet otettiin huoneenlämpöön. 5 millilitraa virtsaa mitattiin automaattipipetillä tehdaspuhtaaseen 28 millilitran koeputkeen, jonka korkki suljettiin välittömästi näytteen jakamisen jälkeen. Laitemittaus tehtiin 7-95 minuutin kuluttua jaosta. Koeputki, jota käsiteltiin tehdaspuhtaalla hanskalla avattiin ja kierrettiin laitteeseen kiinni, minkä jälkeen näytteen hajuprofiili mitattiin kolmesti. Tämän jälkeen näyte irrotettiin laitteesta ja hävitettiin. Jokaisen näytteen välissä laitteen läpi ajettiin steriilin veden hajuprofiili viisi kertaa sensorin neutraloimiseksi. Vesiputki vaihdettiin kymmenen näytteen välein. Tehdaspuhdas hanska vaihdettiin jokaisen näytteen kohdalla.

Tutkimukselle on haettu eettisen toimikunnan lupa R10023.

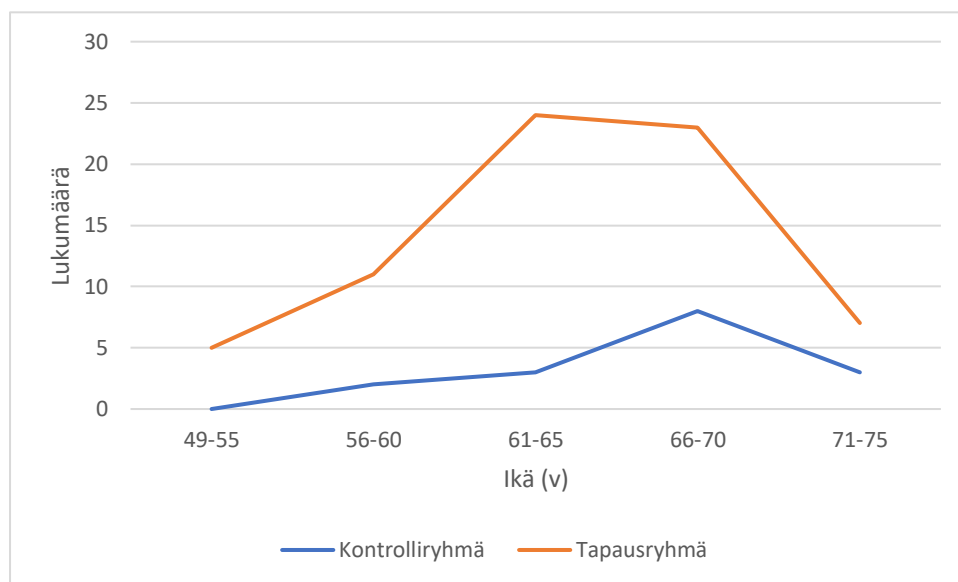
Tilastollisessa analyysissä käytettiin LDA-menetelmää (linear discriminant analysis) sekä LOOCV:tä (leave-one-out cross validation). LDA:n tarkoituksena on saada suuresta pistepoolista valikoitua mahdollisimman hyvin kaksi ryhmää erottelevat pisteet ja käyttää näitä pisteitä lopullisen diagnoosin vahvistuksessa. Ristivalidaation tarkoituksena on puolestaan varmistaa ennustetun mallin yleistettävyyys.

3 TULOKSET

3.1 Potilasaineisto

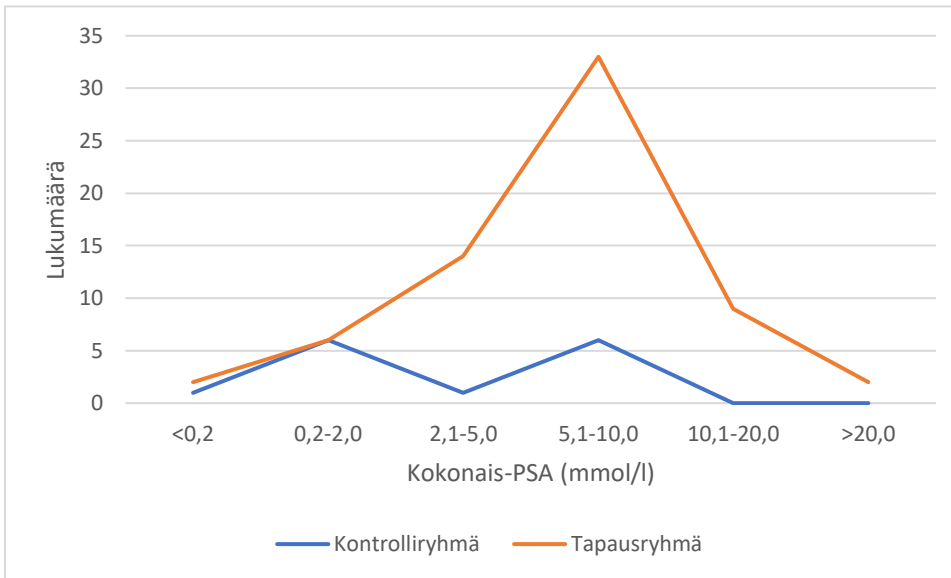
Tutkimuksessa käsiteltiin 70:n miehen virtsanäytteitä, joista 54 muodosti tapausryhmän (prostatakarsinooma) ja 16 kontrolliryhmän (prostata hyperplasia). Tapausryhmän ikäjakauma oli välillä 49-73, keskiarvoltaan 63,3. Kontrolliryhmän ikäjakauma oli välillä 56-75, keskiarvoltaan 66,5. Tapaus- ja kontrolliryhmien ikäjakauma on esitetty taulukossa 7.

Taulukko 7: Aineiston ikäjakauma



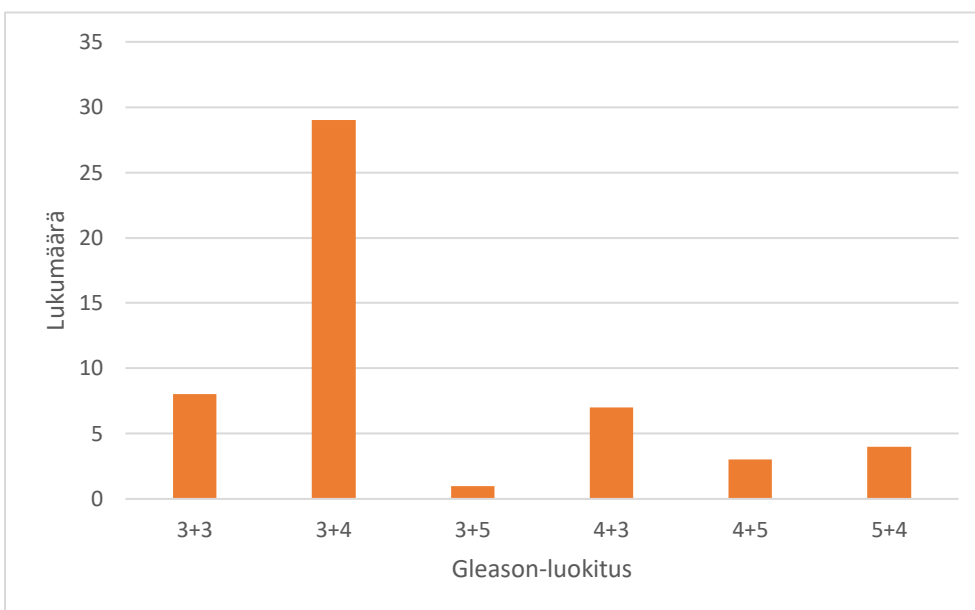
Tapausryhmän keskimääräinen kokonais-PSA-arvo oli 8,0 ja kontrolliryhmän vastaava arvo 4,1. Tieto kokonais-PSA:n suuruudesta puuttui kahdelta potilaalta sekä tapaus- että kontrolliryhmässä. Mittaamattoman matala kokonais-PSA:n arvo merkittiin tutkimuksessa arvoksi 0. Tapaus- ja kontrolliryhmien PSA-jakauma on esitetty taulukossa 8.

Taulukko 8: Kokonais-PSA:n jakauma aineistossa

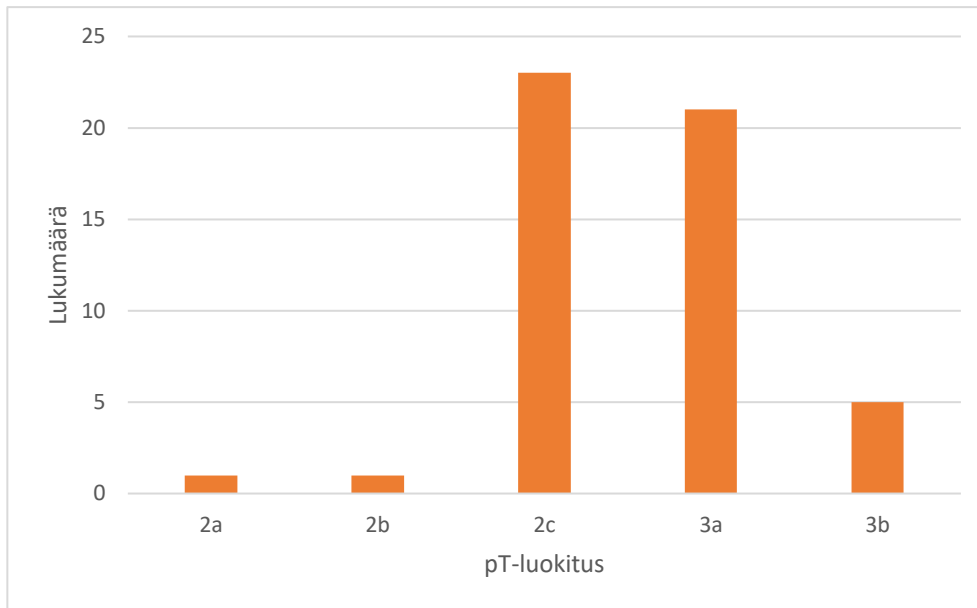


Tapausryhmän potilaille määritettiin lisäksi Gleason- ja pT-luokitus. Kahdelta aineiston potilaalta puuttuivat molemmat luokitukset ja yhdeltä potilaalta pelkästään pT-luokitus. Tapausryhmän Gleason-jakauma on esitetty taulukossa 9 ja pT-jakauma taulukossa 10.

Taulukko 9: Gleason-luokitus tapausryhmässä

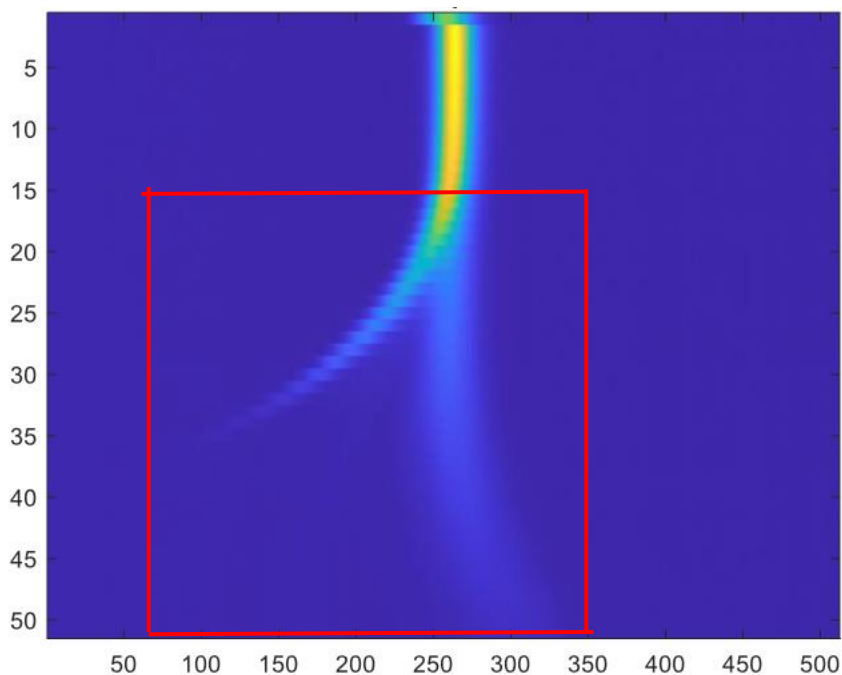


Taulukko 10: pT-luokitus tapausryhmässä



3.2 Mittaustulokset

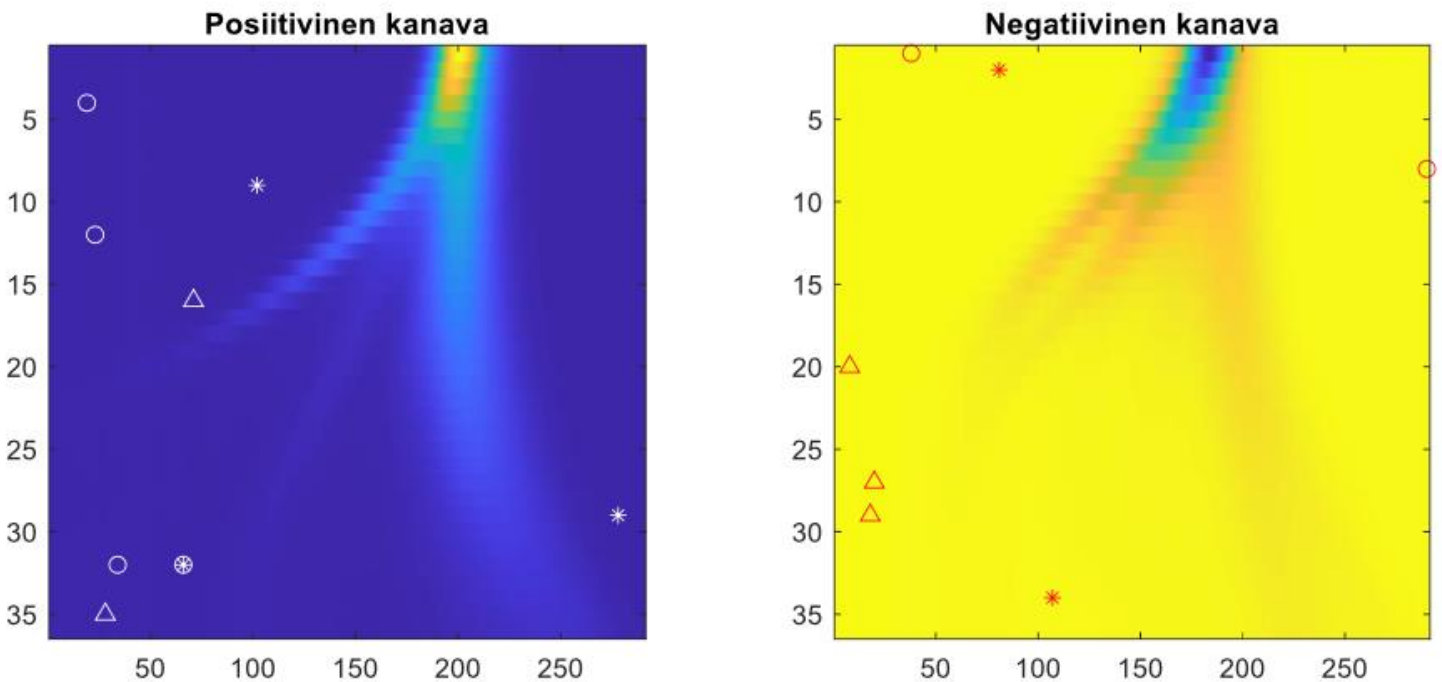
Mitattu Lonestar-data käsitti 26112 pistettä. Koko mittausspektri on esitetty kuvassa 4. Spektristä rajattiin pois reuna-alueet, jotka ovat samanlaiset vertailuspektriin nähden. Lopulliseen käsiteltävään otokseen otettiin kuvan 4 punaisella rajattu alue (rivit 16-51, sarakkeet 60-350), mikä käsitti 10476 pistettä. Tältä alueelta karsittiin pisteet, joissa vertailtavat ryhmät erottuvat toisistaan siten, että ranktest $p < 0.05$.



Kuva 4: Mittausspektri

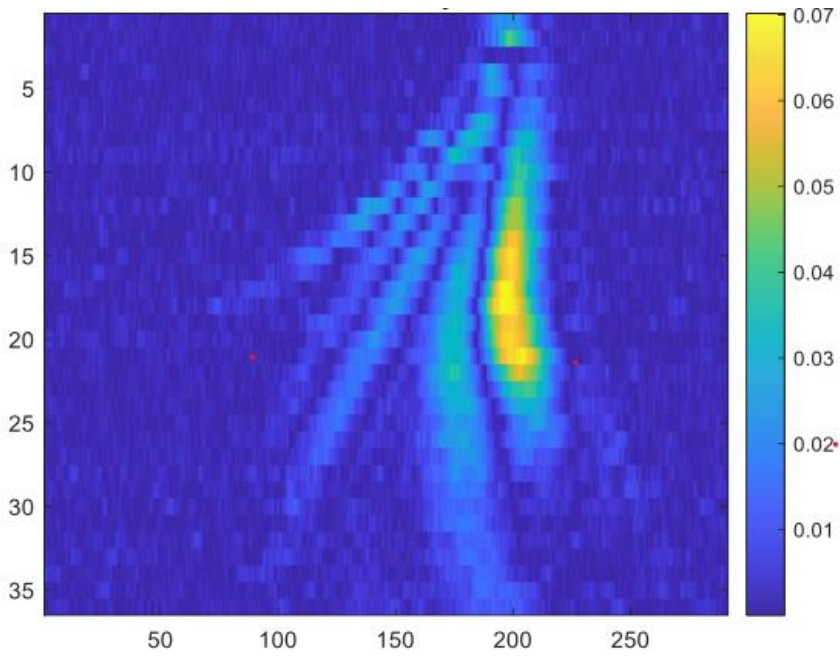
Koska ryhmien koot erosivat toisistaan (tapaus 54 kpl vs. kontrolli 16 kpl) ne tasapainotettiin siten, että tapausryhmästä otettiin kolme satunnaista 16 näytteen ryhmää, joita verrattiin kontrolliryhmään. Tasapainotetuilla ryhmillä tehdyssä LDA-luokittelussa keskiarvoiseksi eturauhassyövän oikeinluokitteluprosentiksi saatiin 49,3%, kun sattumanvaraisen valinnan osuvuus olisi 50%. Näin ollen luokittelutulos ei eronnut sattumasta.

Lisäksi vastaava luokittelu tehtiin forward selection -periaatteella, jossa ranktestin todennäköisyyksien mukaan valittiin rajatusta spektristä kahdeksan paremmin ryhmien eroja selittävää pistettä. Näiden perusteella laskettiin kolmella erillisellä tasapainoisella ryhmäjaolla oikeinluokitteluprosentit sekä positiivisen että negatiivisen kanavan kuvaajille. Näiden pisteiden perusteella eturauhassyövän oikeinluokitteluprosentiksi saatiin 85,4%. Positiivisen ja negatiivisen kanavan kuvaajat ja niistä valitut pisteet on esitetty kuvassa 5.

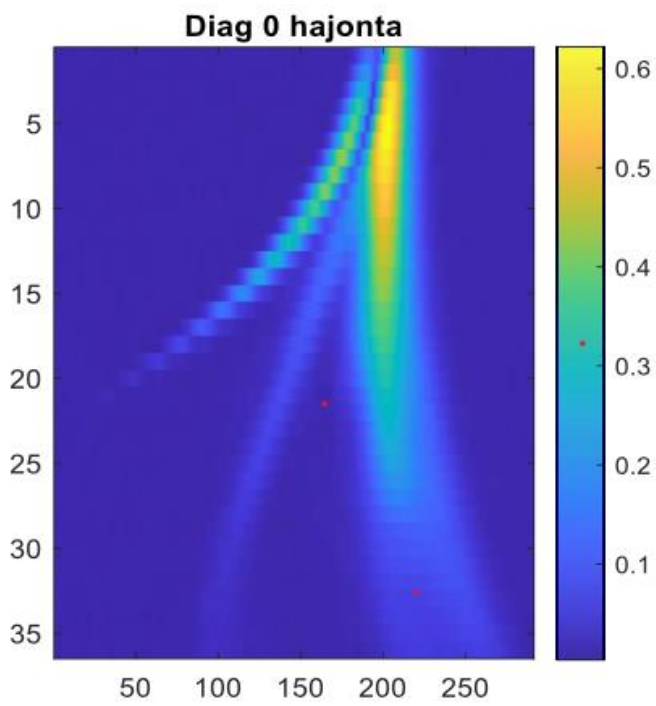


Kuva 5: Forward selection -valitut pisteet positiivisessa ja negatiivisessa kanavassa

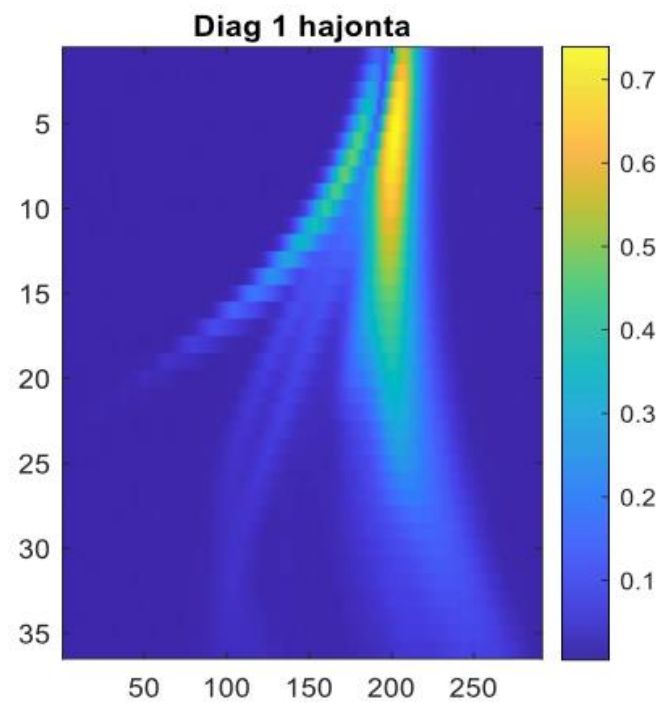
Vertailtavien ryhmien hajontaa on kuvattu kuvissa 6 ja 7. Kuvassa 6 on esitetty ryhmien keskiarvojen erotus ja kuvassa 7 vertailuryhmien sisäistä hajontaa. Diag 0 kuvaa kontrolliryhmää ja diag 1 tapausryhmää. Kuvista nähdään, että vertailuryhmien keskiarvoissa on eroja, mutta ryhmien sisäinen hajonta ylittää keskimääräiset erot.



Kuva 6: Vertailuryhmien keskiarvon erotus



Kuva 7: Vertailuryhmien sisäinen hajonta



4 POHDINTA

Tässä tutkimuksessa FAIMS-laite ei kyennyt löytämään eturauhassyöpää tasapainotetulla LDA-menetelmällä satunnaista arvausta paremmin. Pistevalinnoilla (forward selection) päästiin 85,4 %:n diagnoositarkkuuteen, mutta suurin osa pisteistä ei sijoittunut spektrin sisälle vaan osui spektrin ulkopuolelle, jossa signaalin määrittää laitteen taustakohina. Tällöin on olemassa riski, että erojen taustalla on esimerkiksi sensorin perustason muutos tai muu mittaustekninen harha. Aineiston pienen koon vuoksi myöskään ulkoista validaatiota riippumattomalla aineistolla ei voi suoraan tehdä, vaan tämä edellyttäisi aineiston laajentamista. Näin ollen tätä tulosta ei voida yleistää, vaan tarvittaisiin uusia tutkimuksia, joissa tarkasteltaisiin juuri kyseisten pisteiden soveltuvuutta diagnoosin tekoon eri aineistoilla. Spektreissä nähdään selviä eroja, mutta niiden sisäinen hajonta jää liian suureksi, jotta erot ylittäisivät tilastollisen merkitsevyyden.

Asetelmaltaan tutkimus on parhaiten verrattavissa Asimakopouloksen³³ ja Roineen³⁴ tutkimuksiin; Asimakopouloksen tutkimuksessa näytteet kerättiin niin ikään ennen tulevaa eturauhasen operaatiota, ja Roineen tutkimuksessa pyrittiin tämän tutkimuksen tapaan tekemään eroa hyvänlaatuisen eturauhasen liikakasvun ja eturauhassyövän välille. Lisäksi Roineen tutkimuksessa käytetyt tilastolliset menetelmät olivat samoja kuin tässä tutkimuksessa, joten sen pitäisi olla hyvä mittari tulosten vertailulle. Tässä tutkimuksessa käytetyt näytteet olivat myös samoja mitä Roine työssään käytti, eroavaisuutena muutaman vuoden pidempi säilytysaika pakastimessa. Edellä mainituissa tutkimuksissa saatiin pienissä otoksissa tilastollisesti merkitsevää eroa todettujen eturauhassyöpätapausten ja verrokkien välille, kun taas tässä tutkimuksessa kyseistä eroa ei ollut nähtävissä. Tästä huolimatta tässäkin tutkimuksessa on viitteitä siitä, että eturauhassyövän ja hyvänlaatuisen eturauhasen liikakasvun välillä saattaa olla eroavaisuuksia hajukartassa, kuten Roine ja Asimakopoulos aiemmin ovat havainneet.

Kyseessä on ensimmäinen eturauhassyövän diagnostiikkaan tähtäävä FAIMS-laitteella tehty tutkimus. Mahdollisessa tulevaisuuden kliinisessä käytössä tämän diagnostiikan suurimpana vahvuutena lienee non-invasiivisuus: virtsanäytteen kerääminen on hyvin riskitöntä verrattuna eturauhasen biopsiaan, jossa esimerkiksi postoperatiivinen infektio on aina mahdollinen. Lisäksi näytteen otto on helppoa eikä vaatisi erikoislääkäritasoista osaamista. Verrattuna aiempiin mittausrakenteisiin FAIMS on pienempi ja kevyempi, mikä mahdollistaisi sen liikuttelun aiempaa

järkevämmiin terveydenhuollon toimipisteiden välillä. Lisäksi laitteen käyttö on edullista ja nopeaa verrattuna biopsioiden ottoon ja tulkintaan.

Tutkimuksessa on useita heikkouksia. Kuten sanottua, sen otoskoko jäi suhteellisen pieneksi, minkä vuoksi lisätutkimusten tarve olisi tuloksista riippumatta ilmeinen. Eniten hajontaa tuloksiin tuli todennäköisesti mittausvirheestä, jonka välttäminen mittauksia tehdessä osoittautui hyvin haastavaksi. Ensinnäkin näytteitä kerätessä ei dokumentoitu kuinka kauan näytteet ehtivät altistua huoneenlämmölle ennen pakastamista. Myöhemmin McFarlanin tutkimusryhmä on osoittanut, että virtsanäytteiden VOC-molekyylit voivat muuttua huoneenlämmössä välittömästi näytteenoton jälkeen, ja ryhmä on suosittanut näytteiden pakastamista 12 tunnin sisällä keräämisestä ³⁷. Toiseksi, näytteiden lämpötilaa mittaushetkellä ei tarkastettu, ja koska niiden sulattamisajankohdissa oli useiden tuntien eroja, saattoi myös tällä olla tuloksiin vaikutusta. Virtsanäytteitä mitattiin ja käsiteltiin useana eri päivänä kolmen eri ihmisen toimesta, ja koska FAIMS-laitteen käyttö tapahtuu manuaalisesti, on riski virheille aina olemassa. Mittauskärjen sisältämien mahdollisien epäpuhtauksien huomaaminen on niin ikään silmämääräistä, mistä syystä inhimillisen epätarkkuuden riski mitatessa on varsin suuri.

Sähkönenätekniikka on kehittyvä lääketieteen osa-alue, jota on alettu viime vuosina tuomaan lähemmäs kliinistä lääkärin työtä erilaisilla sovelluksilla. Tästä esimerkkinä toimii kirurgiaan suunniteltu älyveitsi, jonka kansallisetkin mediat Suomessa noteerasivat vuoden 2020 alussa ³⁸. Jotta sähköistä hajutekniikkaa voidaan jatkossa enenevässä määrin hyödyntää klinikon työssä, on tutkimuksen tarve ilmeinen. Sekä Roine ³⁴ että Asimakopoulos ³³ totesivat omissa tutkimuksissaan, että seuraava askel kohti sähkönenätekniikan kliinistä käyttöönottoa eturauhassyövän diagnostiikassa olisi tunnistaa spesifisti VOC-molekyylejä, joita eturauhassyöpäsolut mahdollisesti erittävät virtsateihin, ja tätä onkin viimeisten vuosien aikana lähdetty lisääntyvästi tutkimaan.

LÄHDELUETTELO

1. Eturauhassyöpä: Käypä hoito -suositus. *Suom. Lääkäriseuran Duodecimin ja Suom. Urol. ry:n asettama työryhmä. Helsinki Suom. Lääkäris. Duodecim* (2014).
2. Heidenreich, A. *et al.* EAU Guidelines on Prostate Cancer. *Eur. Urol.* **53**, 68–80 (2008).
3. Syöpätalastosovellus. *Suom. Syöpärekisteri* (2018).
4. Breslow, N. *et al.* Latent carcinoma of prostate at autopsy in seven areas. Collaborative study organized by the International Agency for Research on Cancer, Lyons, France. *Int. J. Cancer* (1977). doi:10.1002/ijc.2910200506
5. Leitzmann, M. F. & Rohrmann, S. Risk factors for the onset of prostatic cancer: Age, location, and behavioral correlates. *Clinical Epidemiology* (2012). doi:10.2147/CLEP.S16747
6. Unger, J. M. *et al.* Using Medicare Claims to Examine Long-term Prostate Cancer Risk of Finasteride in the Prostate Cancer Prevention Trial. *J. Natl. Cancer Inst.* (2018). doi:10.1093/jnci/djy035
7. Hamilton, W. & Sharp, D. Symptomatic diagnosis of prostate cancer in primary care: A structured review. *British Journal of General Practice* (2004).
8. Pereira-Azevedo, N., Verbeek, J. F. M., Nieboer, D., Bangma, C. H. & Roobol, M. J. Head-to-head comparison of prostate cancer risk calculators predicting biopsy outcome. *Transl. Androl. Urol.* **7**, 18–26 (2018).
9. Chen, N. & Zhou, Q. The evolving Gleason grading system. *Chinese J. Cancer Res.* (2016). doi:10.3978/j.issn.1000-9604.2016.02.04
10. Ilic, D., Neuberger, M. M., Djulbegovic, M. & Dahm, P. 00457 Screening for prostate cancer. *Cochrane database Syst. Rev.* (2013). doi:10.1002/14651858.CD004720.pub3
11. Muut seulonnat. *Suom. Syöpärekisteri* (2018).
12. Williams, H. & Pembroke, A. SNIFFER DOGS IN THE MELANOMA CLINIC? *Lancet* (2003). doi:10.1016/s0140-6736(89)92257-5
13. Wilson, A. D. & Baietto, M. Advances in electronic-nose technologies developed for biomedical applications. *Sensors* (2011). doi:10.3390/s110101105
14. Covington, J. A. *et al.* The application of FAIMS gas analysis in medical diagnostics. *Analyst* (2015). doi:10.1039/c5an00868a
15. Chen, S., Wang, Y. & Choi, S. Applications and Technology of Electronic Nose for Clinical Diagnosis. *Open J. Appl. Biosens.* (2013). doi:10.4236/ojab.2013.22005
16. NISSINEN, S. I. *et al.* Detection of Pancreatic Cancer by Urine Volatile Organic Compound Analysis. *Anticancer Res.* **39**, 73–79 (2019).
17. Feider, C. L., Elizondo, N. & Eberlin, L. S. Ambient ionization and FAIMS mass spectrometry for enhanced imaging of multiply charged molecular ions in biological tissues. *Anal. Chem.* (2016). doi:10.1021/acs.analchem.6b02798
18. Costanzo, M. T. *et al.* Portable FAIMS: Applications and future perspectives. *Int. J. Mass Spectrom.* (2017). doi:10.1016/j.ijms.2016.12.007
19. Brinkman, P. *et al.* Exhaled breath profiles in the monitoring of loss of control and clinical recovery in asthma. *Clin. Exp. Allergy* **47**, 1159–1169 (2017).
20. Lima, A. R. *et al.* Discrimination between the human prostate normal and cancer cell exometabolome by GC-MS. *Sci. Rep.* (2018). doi:10.1038/s41598-018-23847-9
21. Bos, L. D. J., Sterk, P. J. & Schultz, M. J. Volatile Metabolites of Pathogens: A Systematic Review. *PLoS Pathog.* **9**, e1003311 (2013).
22. Peng, G. *et al.* Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors. *Br. J. Cancer* (2010). doi:10.1038/sj.bjc.6605810
23. Phillips, M. *et al.* Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: A cross-sectional study. *Lancet* (1999). doi:10.1016/S0140-6736(98)07552-7

24. ROINE, A. Novel Spectrometric Methods in Detection of Prostate Cancer and Urinary Tract Infection. *Univ. Tampere* (2014).
25. Arasaradnam, R. P. *et al.* Detection of colorectal cancer (CRC) by urinary volatile organic compound analysis. *PLoS One* (2014). doi:10.1371/journal.pone.0108750
26. Horvath, G., Andersson, H. & Paulsson, G. Characteristic odour in the blood reveals ovarian carcinoma. *BMC Cancer* (2010). doi:10.1186/1471-2407-10-643
27. Bernabei, M. *et al.* A preliminary study on the possibility to diagnose urinary tract cancers by an electronic nose. *Sensors Actuators B Chem.* **131**, 1–4 (2008).
28. Cornu, J.-N., Cancel-Tassin, G., Ondet, V., Girardet, C. & Cussenot, O. Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis. *Eur. Urol.* **59**, 197–201 (2011).
29. Khalid, T. *et al.* Urinary Volatile Organic Compounds for the Detection of Prostate Cancer. *PLoS One* **10**, e0143283 (2015).
30. D'Amico, A. *et al.* A novel approach for prostate cancer diagnosis using a gas sensor array. in *Procedia Engineering* (2012). doi:10.1016/j.proeng.2012.09.346
31. Santonico, M. *et al.* Chemical sensors for prostate cancer detection oriented to non-invasive approach. in *Procedia Engineering* (2014). doi:10.1016/j.proeng.2014.11.672
32. Capelli, L. *et al.* Application and uses of electronic noses for clinical diagnosis on urine samples: A review. *Sensors (Switzerland)* (2016). doi:10.3390/s16101708
33. Asimakopoulos, A. D. *et al.* Prostate cancer diagnosis through electronic nose in the urine headspace setting: A pilot study. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* (2014). doi:10.1038/pcan.2014.11
34. Roine, A. *et al.* Detection of Prostate Cancer by an Electronic Nose: A Proof of Principle Study. *J. Urol.* **192**, 230–235 (2014).
35. Khalid, T. *et al.* Urinary volatile organic compounds for the detection of prostate cancer. *PLoS One* (2015). doi:10.1371/journal.pone.0143283
36. Jiménez-Pacheco, A. *et al.* Furan and p-xylene as candidate biomarkers for prostate cancer. *Urol. Oncol. Semin. Orig. Investig.* (2018). doi:10.1016/j.urolonc.2017.12.026
37. McFarlanE, M. *et al.* Pre-analytical and analytical variables that influence urinary volatile organic compound measurements. *PLoS One* (2020). doi:10.1371/journal.pone.0236591
38. Koskinen, A. L. Niku Oksala pääsi lääketieteelliseen opiskelemaan vasta kolmannella yrittämällä – ehkä siitä syystä hän sai idean maailmanluokan keksintöön. *Yle* (2020).