

A prosztatatarák laboratóriumi diagnosztikája: honnan hová tartunk?

NAGY BÉLA JR, BHATTOA HARJIT PAL, KAPPELMAYER JÁNOS

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Debrecen

Köszönetnyilvánítás: Dr. Nagy Béla jr. köszöni a Szodoray Lajos Ösztöndíj (Debreceni Egyetem, ÁOK) támogatását.

Levelezési cím:

Dr. Kappelmayer János, Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet
4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98. Tel.: 52-340-006,
e-mail: kappelmayer@med.unideb.hu

Közlésre érkezett:

2018. december 27.

Elfogadva:

2019. január 13.

A prosztatatarák az egyik leggyakoribb rosszindulatú betegség, mely 40 év felett egyre nagyobb valószínűséggel alakulhat ki. A prosztataspecifikus antigén (PSA) közel 50 évvel ezelőtti felismerése, majd automatizált körülmények között történő laboratóriumi mérése óta az egyik leggyakrabban vizsgált tumormarker lett, mely napjainkban még mindig fontos részét képezi a prosztatatarákszűrésnek. Ugyanakkor ezek a laboratóriumi adatok bizonyos esetben túl hamar vezettek invazív beavatkozásokhoz, így a nemzetközi irodalomban megszületett a „prosztatárak túldiagnosztizálása” kifejezés. A hagyományos össz-PSA mellett az utóbbi években egyre több új biomarker és számítási panel jelent meg, mely jelentősen fokozta a PSA-alapú diagnosztika specificitását, és ez hozzájárult, hogy adekvát klinikai döntések szülessenek. Ezen új és komplex laborvizsgálatok hazai finanszírozása még nincs megoldva, de a metodikák egyre inkább elérhetővé válnak itthon is. Prosztatadaganatokban a különböző fehérjék immunoassay-vel történő mérése mellett egyre nagyobb figyelmet kapnak a molekuláris vizsgálatok is, melyek nemcsak a betegség hátterében álló patológias folyamatok feltérképezését szolgálják, hanem hozzájárulnak a megfelelő prognosztikai besoroláshoz. *Magy Onkol* 63:16–25, 2019

Kulcsszavak: prosztatatarák, tumormarkerek, PSA, prostataegészség-index

Prostate cancer is one of the most frequently occurring malignancies in men. It is increasingly recognized in patients above 40 years of age. The discovery of prostate-specific antigen (PSA) nearly 50 years ago and the subsequent capability to measure it on automated immunoassay platforms have led to a widespread use in laboratory diagnostics. However, the plethora of the elevated PSA values resulted in premature invasive treatments in several cases, so the term 'overdiagnosis of prostate cancer' has been created. Beside the classical total PSA test, several new methods have emerged in the past years that considerably enhanced the specificity of PSA-based diagnostics and this paved the way for more adequate clinical decisions. Some of these new and complex laboratory tests are not yet financed in Hungary, but the techniques are already available. In addition to the measurement of various proteins by immunoassays, large attention is devoted to molecular tests that not only help to establish the underlying pathophysiological process, but may also aid in determining the proper prognostic subgroup.

*Nagy B jr., Bhattoa HP, Kappelmayer J. Routine laboratory diagnostics of prostate cancer: Past, present and the future. *Magy Onkol* 63:16–25, 2019*

Keywords: prostate cancer, tumor markers, PSA, Prostate Health Index

BEVEZETÉS

A prosztatatarák a nyugati társadalmakban a férfiak leggyakrabban kialakuló daganatos megbetegedése megelőzve a tüdő- és a kolorektális daganatokat (1). Döntően az idős korosztályt érinti, de már 40 év felett fokozatosan nő kialakulásának kockázata. Ennek ellenére az újonnan felismert esetek kb. 50-60%-a csak alacsony progresszivitású kórkép, és nem okoz jelentős életminőség-romlást. Ezért is olyan fontos a latens prosztatatarákos folyamatok „túldiagnosztizálásának” az elkerülése, amely részben a prosztataspecifikus antigén (PSA) koncentrációja mérésének nem megfelelő alkalmazásával és interpretálásával függhet össze (1).

A prosztatatarák egy meglehetősen heterogén malignus betegség, melynek változatos klinikai lefolyását számos tényező befolyásolhatja, így például a hisztológiai grádus (a Gleason-pontszám segítségével kifejezve), a szövettani típus (duktális vagy acináris), a tumorméret, az extrakapszularis terjedés, a nyirokcsomó-érintettség stb. Emiatt is vált fontossá a betegek megfelelő rizikócsoportokba való besorolása, hogy időben kiszűrésre kerüljenek azok, akikben korai stádiumú prosztatatarák alakult ki, illetve azok elkülönítése, aki csak szoros követésre („active surveillance”) szorulnak azonnali kezelés nélkül (2). Jelenleg több ilyen besorolás is elérhető (1. táblázat), melyek szerint, ha a Gleason-pontszám ≤ 6 és a PSA szérumszintje $< 10 \mu\text{g/L}$, kevés az esély a betegség progressziójára, ezért e betegnél csak a monitorozás indokolt (3–5). A kórkép heterogenitásának nemrégiben felismert egyik fő oka a betegség változatos genetikai háttere (6), melynek részletes analízise alapján a prosztatatarákot különböző molekuláris alcsoportokba lehet sorolni az *ERG-*, *ETV1/4-*, *FLI1-*, *SPOP-*, *FOXA1-* és *IDH1-* génmutációk jelenléte alapján (7).

Az utóbbi években a fehérjetermészetű biomarkerek mellett egyre több új genetikai eltérés került azonosításra és levizsgálásra annak eldöntésére, hogy vajon a PSA mellett (vagy később talán helyett) alkalmas diagnosztikai és prognosztikai paraméterek lehetnek-e a prosztatatarákos betegek jövőbeni rutinszerű vizsgálatára vagy szűrésére. Mivel ez a malignitás máig a férfi daganatos betegségek egynegyedéért felelős, nagy népegészségügyi jelentősége van a prosztatatarák hatékony szűrésének és diagnosztikájának (8). Jelen összefoglaló közleményünkben a PSA-analízis lehetőségeiről, előnyeiről és hátrányairól, valamint a vele párhuzamosan elérhetővé vált új laboratóriumi tesztekkel szerzett nemzetközi tapasztalatokról számolunk be.

A PROSZTATARÁKBAN ELÉRHETŐ TUMORMARKEREK FELFEDEZÉSÉNEK RÖVID TÖRTÉNETE

A PSA a prosztataszövet acináris és duktális sejtjei által termelt, aktív formájában 33–36 kDa-os, 237 aminosavból álló glikoprotein (más néven humán kallikrein 3), melyet 1970-ben Ablin és munkatársai írtak le először a prosztataváladékban (9), és néhány évvel később Wang és munkatársai meg is tisztították ezt a fehérjét (10). Az első, PSA mérésére alkalmas immunoassay kifejlesztése után (11) jelentős számban

kezdtek el mérni a PSA-t a prosztatatarákos betegek szérum-, illetve plazmamintáiban. Bár a PSA mérsékelt specificitását (kb. 50%) hamar felismerték, mégis gyorsan elterjedt, és 1986-ban az FDA (Food and Drug Administration, USA) először a prosztatatarák követésére, majd 1994-ben a prosztatadaganat szűrésére is jóváhagyta. Azóta számos módon próbálták javítani a PSA diagnosztikai alkalmazhatóságát az elmúlt három évtizedben [pl. PSA-denzitás, az emelkedés kinetikája, szabad/kötött PSA-formák arányának meghatározása stb.], mégis ezek közül az össz-PSA-koncentráció mérése maradt a legszélesebb körben végzett laboridiagnosztikai

1. TÁBLÁZAT. Proszatatarákban használható rizikócsoport-klasszifikációk

D'Amico-klasszifikáció		
Alacsony rizikó	Gleason-pontszám ≤ 6 , PSA $\leq 10 \mu\text{g/L}$, klinikai stádium $\leq \text{T2a}$	
Közepes rizikó	Gleason-pontszám ≤ 7 , PSA = $10\text{--}20 \mu\text{g/L}$, klinikai stádium $\leq \text{T2b}$	
Magas rizikó	Gleason-pontszám > 7 , PSA $> 20 \mu\text{g/L}$, klinikai stádium T2c	
CAPRA-pontrendszer	Érték	Pontszám
PSA-szint diagnóziskor	2,0–6,0 $\mu\text{g/L}$	0
	6,1–10,0 $\mu\text{g/L}$	1
	10,1–20,0 $\mu\text{g/L}$	2
	20,1–30,0 $\mu\text{g/L}$	3
	$> 30,0 \mu\text{g/L}$	4
Életkor diagnóziskor	< 50 év	0
	≥ 50 év	1
Stádium	T1/T2	0
	3	1
Daganatpozitív biopsziás minták százalékos aránya	$< 34\%$	0
	$\geq 34\%$	1
NCCN-klasszifikáció		
Nagyon alacsony rizikó	Gleason-pontszám ≤ 6 , PSA $\leq 10 \mu\text{g/L}$, klinikai stádium T1c, < 2 daganatpozitív biopsziás minta, $< 50\%$ daganatos biopsziás minták aránya, PSA-denzitás $< 0,15$	
Alacsony rizikó	Gleason-pontszám ≤ 6 , PSA $\leq 10 \mu\text{g/L}$, klinikai stádium T1c vagy T2a	
Közepes rizikó	Gleason-pontszám = 7, PSA = $10\text{--}20 \mu\text{g/L}$, klinikai stádium T2b–T2c	
Magas rizikó	Gleason-pontszám ≥ 8 , PSA $\geq 20 \mu\text{g/L}$, klinikai stádium T3a	

D'Amico-klasszifikáció (3). CAPRA: Cancer of the Prostate Risk Assessment (4). Értékelése az összesített pontszám alapján történik: alacsony rizikó = 0–2 pont, közepes rizikó = 3–5 pont, magas rizikó = 6–10 pont. NCCN: National Comprehensive Cancer Network (5). Zárójelben az adott klasszifikációt közlő irodalmi forrás került feltüntetésre

teszt. Az 1990-es évek második felében a szabad PSA-forma mérése is elérhetővé vált, amit az FDA szintén befogadott mint tumormarkert (12).

A PSA történetéhez képest még korábbra nyúlunk vissza a másik klasszikus biomarker, a (prostatata) savi foszfatáz (prostatic acid phosphatase, PAP) emelkedett szintjének első leírása, amit csontáttétben szenvedő prosztatabeteg betegekben figyeltek meg először már az 1930-as évek közepén (13). Ez a 100 kDa-os glikoprotein egyike az öt savi foszfatáz izoformának, ami normálisan a keringésben <3,5 U/L koncentrációban van jelen, és emelkedett szintje jól korrelál a prosztatabetegség stádiumával (14). Régen széles körben alkalmazták a kórkép diagnosztikájában, amíg a PSA fokozatosan át nem vette a szerepét. Ugyanakkor a prosztatarákhoz társult csontmetasztázis kialakulását a PAP magas szérumszintje legalább olyan jól jelzi, mint a PSA (15).

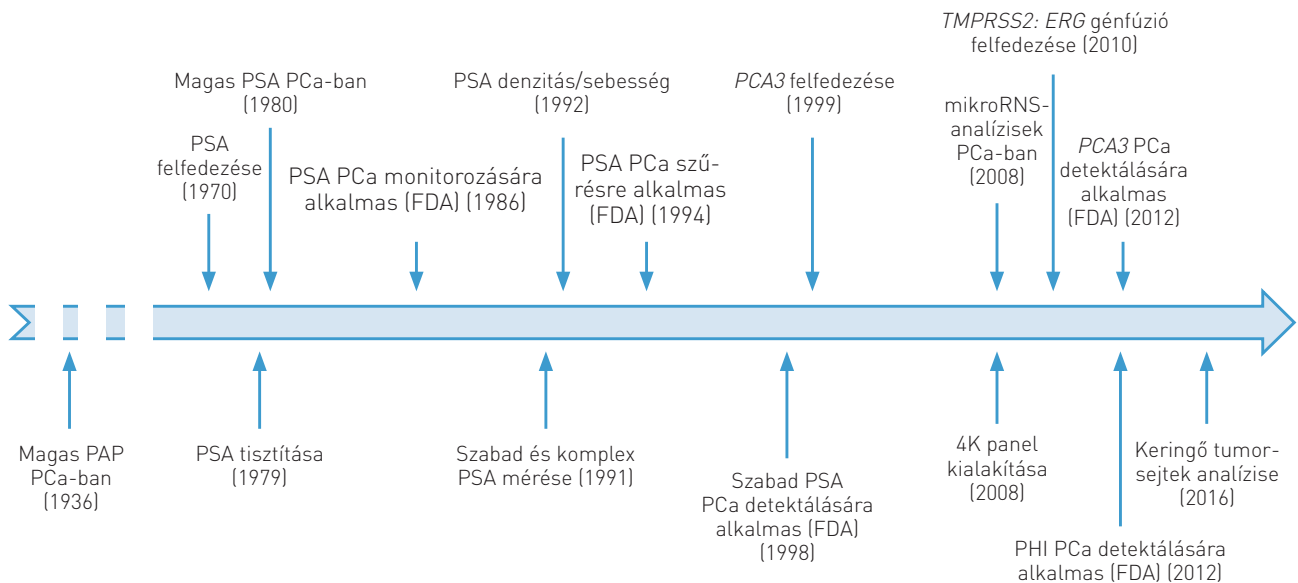
A *PCA3* (prostate cancer gene 3) gén által expresszált nem kódoló messenger RNS (mRNS) vizeletből való kimutatása új fordulópontot jelentett a prosztatarák laboratóriumi detektálásában (16). A valós idejű kvantitatív PCR (RT-qPCR) metodikával mérhető *PCA3*-mRNS-szint – a PSA-mRNS-szinttel történő normalizálás után – különösen hasznos markernek mutatkozott (35 pontérték felett) annak eldöntésére, hogy kell-e újabb biopsziát venni olyan 50 év feletti férfiakból, akiknek előzőleg negatív eredményű biopsziás vizsgálata volt (17). Ennek köszönhetően 2012-ben az FDA a prosztatarák kimutatására alkalmas paraméternek fogadta be.

Ezzel párhuzamosan, szintén a vizeletből kimutatható onkogénről olvashattunk az irodalomban, ami a *TMPRSS2:ERG*

génék fúziójának az eredménye, és önálló prediktív értékkel bír a prosztatarák előrejelzésében (18). A *PCA3*-eredménnyel való kombinálása jelentősen javíthatja a biopszián átesett férfiak malignus betegségének kimutatását.

A nem kódoló, de a gének poszttranszkripció finomszabályozásában részt vevő mikroRNS-ek létezéséről 1993 óta tudunk, és az azóta eltelt időszakban megváltozott expressziójukat számos betegség kialakulásával hozták összefüggésbe (19, 20). Az elmúlt 10 évben a prosztatarákban is vizsgálták, és bár több mikroRNS mutatott egyértelmű összefüggéseket a betegség prognózisával (lásd alább), jelenleg még mindig kísérleti szakaszban jár analízisük (12).

Az utóbbi években dolgoztak ki olyan paneleket, amelyekben az össz- és a szabad PSA, valamint a PSA egyéb alformái, pl. [-2]pro-PSA, vagy más fehérjék (humán kallikrein 2, hK2) együttes használata jelentősen javíthatja a diagnosztika specifikitását a prosztatarákos és a nem prosztatarákos betegségek okozta magas PSA-szint elkülönítésében, illetve a magas kockázatú, agresszív prosztatabetegség kimutatásában. Az FDA által 2012-ben jóváhagyott PHI-t (Prostate Health Index) a [-2]pro-PSA mérésével kiegészülve olyan betegekben érdemes meghatározni, akiknek a teljes PSA-szintje 4–10 µg/L közé esik, és negatív volt a rektális digitális vizsgálata (RDV). A másik a Négy-kallikrein panel (4K-score), ami az össz-PSA, a szabad PSA és az intakt PSA (iPSA), valamint a hK2 analízis segítségével a magas rizikójú prosztatarák kimutatását segíti olyan férfiakban, akiknek még nem volt prosztatabiopsziája, vagy előzőleg negatív eredménnyel zárult. Bár az FDA még ezt az utóbbi



1. ÁBRA. A prosztatarákban elérhető legfontosabb biomarkerek felfedezésének és bevezetésének időskálája. Az ábra alapját Filella és Foj cikkének (12) 2. ábrája adta. PCa: prosztatacarcinóma, PAP: prostatata savi foszfatáz, PSA: prosztataspecifikus antigén, PCA3: prostate cancer gene 3, PHI: Prostate Health Index

panelt nem fogadta be, 2015-ben az NCCN (National Comprehensive Cancer Network) javasolta alkalmazását a fenti klinikai körülmények között (12).

A daganatszövet, illetve áttét területéről leváló, és így a keringésbe belépő tumorsejtek kimutatása egy forradalmi áttörést jelenthet a betegek klinikai állapotának és a terápia hatékonyságának követésére, amelyet sokkal érzékenyebb vizsgálatnak találtak elsősorban előrehaladott kórképekben, mint a hagyományos PSA-analízist (21). Ezekből a tumorsejtekből vagy magából a daganatszövetből az androgénreceptor (AR) génátrendeződése, alternatív „splicing”-ja egy folyamatosan aktív AR-variáns expresszióját (AR-V7) okozza, amely által a kemoterápiás szerekkel (pl. abirateron) szembeni rezisztencia alakulhat ki. Ennek vizsgálatával a személyre szabott orvoslás keretén belül akár egyénileg felmérhető a beteg terápiára adott válasza (22). A prosztatatarákban elérhető legfontosabb biomarkerek felfedezésének és alkalmazásának kronológiáját az 1. ábra mutatja be.

A PSA KÜLÖNBÖZŐ FORMÁI ÉS MÉRÉSÜK KLINIKAI JELENTŐSÉGE

Bár napjainkban számos új biomarker vált elérhetővé a prosztatadaganatos betegek vizsgálatára, a PSA-mérés még mindig fontos részét képezi a szűrésnek. A PSA fehérje fiziológiás funkciója az ondó elfolyósítása annak alvadását követően, amit az ondóhólyag által termelt gélképző fehérjék hasítása révén fejt ki. Normálisan a véráramba csak minimális mennyiségben jut be, amennyiben szintje megemelkedik, a prosztatata hámszejteinek benignus vagy malignus proliferációja miatt következhet be. A PSA-koncentráció jelentős növekedése elsősorban a prosztatatarák következménye, ugyanakkor jóindulatú prosztatatabetegségek, úgymint hiperplázia vagy prostatitisz, vagy átmenetileg a prosztatata mechanikus stimulációja (RDV, katéterezés, masszázs vagy ejakuláció) is okozhat emelkedett szintet, tehát a PSA szervspecifikus, de nem rákspecifikus. A magas szérumszintű össz-PSA (>4 µg/L) megerősítheti a prosztatadaganat diagnózisát, alátámasztja a korábbi bizonytalan eredményű biopszia újbóli elvégzésének szükségességét, és akár több évvel képes előre jelezni a prosztatatarák kialakulását, mivel sokkal érzékenyebb, mint az RDV vagy a transzrektális ultrahangvizsgálat. Ezt igazolandó, sokkal magasabb a halálozási rizikó azokban a férfiakban, akiknek a PSA-szintje a 10.

percentilisen belül van, szemben a mediánértéknél kisebb koncentrációt mutató személyekkel (23). A PSA-szintet befolyásoló fenti (nem malignus) körülmények, illetve a nagyfokú biológiai variabilitása (24) miatt egyetlen PSA-meghatározás sokszor nem elégséges a prosztatatarák előrejelzésében, különösen, ha a PSA értéke a „szürke zónába” (4–10 µg/L) esett. Ilyenkor a PSA-mérés megismétlésével – negatív RDV mellett – csökkenthető a felesleges biopsziák száma (25). A PSA-mérés 1980-as évek végén történt hazai elterjedéséről és a saját vizsgálatosorozatok során szerzett tapasztalatokról több magyar nyelvű közleményben is olvashatunk (26–28). A kereskedelmi forgalomban kapható PSA-kitek fontosabb laboratóriumi jellemzőit a 2. táblázat foglalja össze.

A PSA különböző formában kering a véráramban. Döntően komplexekben az α1-antikimotripszinhez (65–85%), valamint kis mennyiségben az α2-makroglobulinhoz (5%) és az α1-proteáz-gátlóhoz (kb. 1%) kötődve, a fennmaradó rész pedig a szabad forma (10–30%) (29) (2. ábra). Laboratóriumi teszt az α1-antikimotripszinhez kötődött PSA-frakció kimutatására bár létezik, de mégsem vált szerves részévé a rutin laboridiagnosztikának. Helyette a szabad formát mérjük, az össz-PSA mérése során pedig a kötött és a szabad frakciót egyben mérjük (lásd később).

A szabad PSA-nak két egyéb alformáját is azonosították: a „benignus” PSA (bPSA) és az „intakt” PSA (iPSA). Míg az előző forma a prosztatata-hiperplázia biomarkereként vált ismertté (30), addig az iPSA-szintet a 4K-score meghatározásához használjuk (31). A PSA érési folyamata során ún. „trunkált” pro-PSA-származékok keletkeznek és halmozódnak fel a malignus betegségben (2. ábra). Ezek közül a tovább nem hasítható, ezáltal stabil (-2)pro-PSA meghatározása lehetséges, amivel – behelyettesítve a PHI-be – az agresszív prosztatatarák kimutathatóságát javíthatjuk, amennyiben az össz-PSA-koncentráció az 1,6–8,0 µg/L közötti tartományba esik (32).

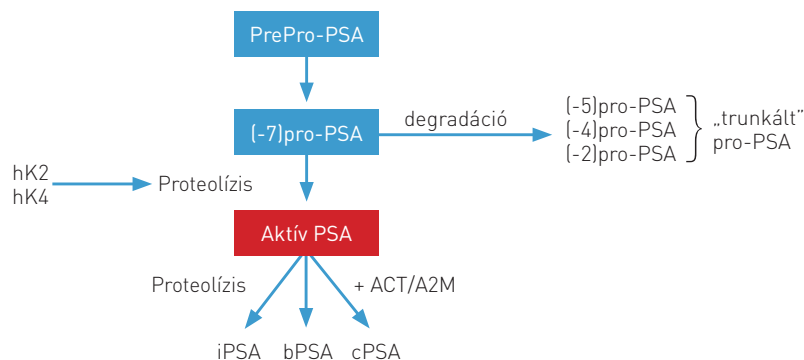
A PSA SPECIFICITÁSÁT JAVÍTÓ SZÁRMAZTATOTT PARAMÉTEREK

A PSA-mérések eredményeiből származtathatók olyan paraméterek, amelyek növelhetik a PSA-alapú vizsgálatok specificitását. Meghatározható a PSA-denzitás (a prosztatata nagyságához képest mért PSA-szint), valamint a „PSA-sebesség”

2. TÁBLÁZAT. A kereskedelmi forgalomban kapható PSA-kitek fontosabb metrológiai paraméterei

Metrológiai paraméterek	A PSA-meghatározás módszerei		
	Kemilumineszcens immunoassay (CLIA)	Elektro-kemilumineszcens immunoassay (ECLIA)	Immunoradiometrikus assay (IRMA)
Reprodukálhatóság (inter-assay)	≤4,7%	≤3,8%	≤4,9%
Alsó detektálhatósági határ	0,09 µg/L	0,01 µg/L	0,1 µg/L
Linearitási határ	300 µg/L	100 µg/L	100 µg/L

A PSA-vizsgálatot a klasszikus interferáló tényezők, úgymint az ikterusz, a hemolízis és a lipémia gyakorlatilag nem zavarják



2. ÁBRA. A PSA különböző formáinak kialakulása proteolízis, illetve degradáció révén. iPSA: „intakt” PSA, bPSA: „benignus” PSA, cPSA: komplex PSA, ACT: α 1-antikimotripszin, A2M: α 2-makroglobulin, hK2, hK4: humán kallikrein 2 és 4

[„velocity”: egy év alatt bekövetkező abszolút PSA-szint-növekedés, normális esetben maximum 0,75 $\mu\text{g/L/év}$, illetve a „doubling time”: az az időtartam, mely alatt kétszeres PSA-szint-emelkedés következik be). Az életkor-specifikus referenciatartomány azt szolgálja, hogy minél optimálisabb küszöbértéket nyújtson a klinikailag jelentős, de még nem diagnosztizált daganatok felfedezésére. A szabad PSA-nak az össz-PSA-ra vonatkoztatott aránya szintén javítja a PSA-mérés specificitását alacsony ($\leq 7\%$) küszöbérték esetén [33]. A szabad forma mellett az α 1-antikimotripszinhez kötött komplex-PSA-koncentráció meghatározása is lehetséges, és a szabad/össz-PSA arányhoz hasonlóan a komplex-PSA/össz-PSA arány is meghatározható, mint kiegészítő paraméter.

Számos immunoassay-alapú metodika létezik a szabad és a komplexben lévő PSA koncentrációjának meghatározásához. Amikor a PSA kötött formában van, bizonyos antigénepitópok „fedett” állapotban vannak azon fehérje által, amelyhez kapcsolódik a PSA, döntően az α 1-antikimotripszin miatt. Ezek az epitópok ugyanakkor hozzáférhetők a szabad PSA-n, és így az erre specifikus antitest csak a szabad PSA-t méri [3.a ábra]. Létezik olyan blokkoló antitest, amely csak a szabad PSA-n kötődik egyszerre a „nem fedett” antigénhez, illetve a másik „azonosító” epitóphoz. Ez teszi lehetővé, hogy egy másik antitest segítségével meghatározzuk külön a komplexben lévő PSA koncentrációját [3.b ábra]. Végül vannak olyan antitestkötőhelyek, amelyek mind a szabad, mind a komplexben lévő PSA fehérjén jelen vannak, így ez az antitest az össz-PSA-szintet detektálja [3.c ábra].

ÖSSZ- ÉS SZABAD PSA VIZSGÁLATOK ÉVES STATISZTIKÁJA AZ EGYIK HAZAI KÖZPONTI RUTINLABORÁTORIUMBAN

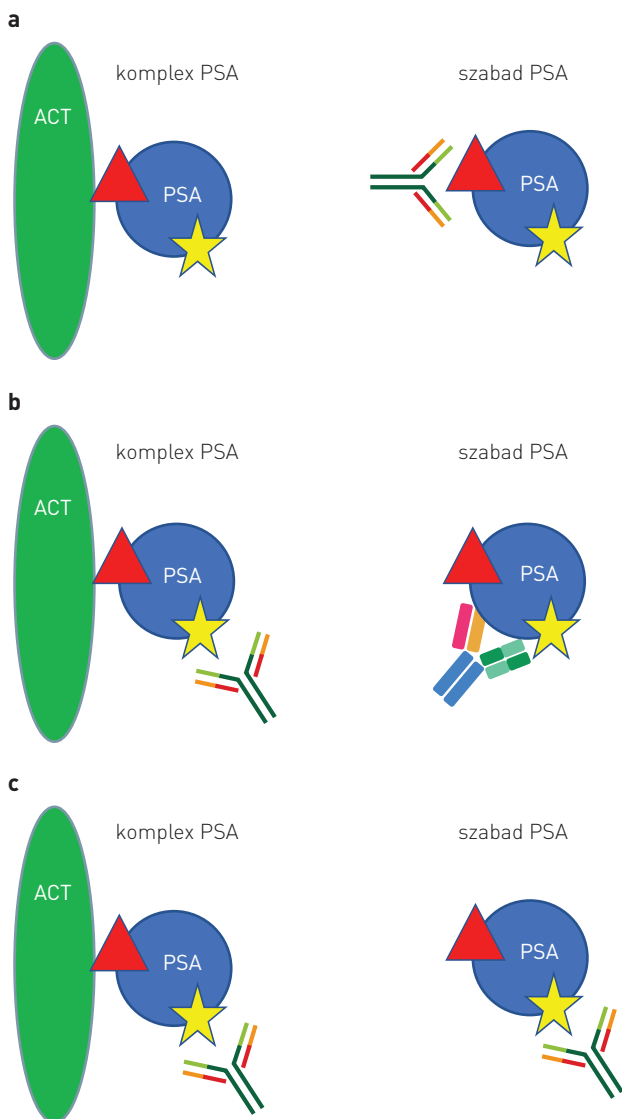
A Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében 2018-ban összesen több mint 13 ezer össz-PSA-vizsgálatot végeztünk, és az esetek harmadában a szabad PSA meghatározását is kérték, meghatározva a szabad/össz-PSA arányt.

A minták 17,9%-ában mérhetően alacsony össz-PSA-szintet, míg 22,9%-ában detektálhatatlan szabad-PSA-szinteket találtunk. E 13 ezer feletti vizsgálat 10,8%-ában mértük az össz-PSA-t a „szürke zónába”, extrém magas PSA-értékeket (100 $\mu\text{g/L}$ felett) pedig csak 1,3%-ban találtunk [3. táblázat]. Az intézetünkben beállított autovalidálási algoritmusoknak köszönhetően az össz-PSA-eredmények 82,4%-a, a szabad-PSA-koncentrációk 91,7%-a autovalidált formában került kiadásra, míg a két értékből számított szabad/össz-PSA arány a szigorúbb beállítások miatt csak 57,5%-ban autovalidálódott, a fennmaradó esetekben a diplomás manuálisan validálta az eredményeket. Az autovalidálás jelentősen megkönnyíti a gyorsabb eredményközlést, ugyanakkor a korábbi eredmény(ek)hez képest jelentősen eltérő új szabad/össz-PSA arány értelmezése nagyobb körültekintést, adott esetben konzultációt igényel.

Az adataink egy részének részletesebb elemzése során összehasonlítottuk a prosztatatarákban és a prosztatatahiperpláziában mért össz-PSA-értékeket a normális prostataállapotot mutató személyekével, és azt tapasztaltuk, hogy prosztatadaganatban jóval szélsőségesebb PSA-értékeket mértünk, ugyanakkor prosztatamegnagyobbodásban is láthatunk a normáltartományhoz képest jelentősen emelkedett össz-PSA-értékeket szemben az egészséges körülményekkel [3. táblázat]. Mindezen eredmények is arra hívják fel a figyelmet, hogy a PSA-eredményeket mindig a klinikai adatokkal, a radiológiai vizsgálatokkal, és ha történt, akkor a biopszia eredményével kell együtt értelmezni, és szükség esetén meg kell ismételni a PSA-vizsgálatot a jobb diagnosztikai alkalmazhatóság érdekében.

A PSA-ALAPÚ PROSZTATARÁKSZŰRÉS ELLENTMONDÁSAI

A PSA-mérés a 40 évvel ezelőtt elindított bevezetése és az azóta általános szűrésre való alkalmazása óta sok szakmai vitát váltott ki. Ennek egyik oka, hogy az európai és az amerikai tanulmányok részben ellentmon-



3. ÁBRA. A szabad PSA (a), a komplexben lévő PSA (b) és az össz-PSA (c) koncentrációjának mérésére alkalmas immunoassay-k metodikai alapjai. Az ábra alapját a Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods [23. kiadás, 2017] c. könyvben található ábra adta [74. fejezet, 1444. oldal]. A piros háromszög a „fedett” epitópot, a sárga csillag a másik „azonosító” epitópot jelöli. PSA: prosztataspecifikus antigén, ACT: alfa1-antikimotripszin

dó eredményeket mutattak. A „European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer” (ERSPC) tanulmány szerint 11 év adatai alapján jelentősen csökkenthető volt a prosztatarákkal kapcsolatos mortalitás [34], míg ezzel szemben az amerikai „Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial” nevű vizsgálat sorozat nem talált egyértelmű javulást a közel azonos időszak alatt [35]. Kiemelendő, hogy voltak

különbségek a két tanulmány lebonyolítása között, így eltért a kontrollcsoportok prosztatarákra történt „szűrési állapota”, illetve más volt az elvégzett biopsziák aránya is pozitív eredményű szűrővizsgálat esetén. Ugyanakkor a szorosabb európai szűrés a nem agresszív rákos esetek „túldiagnosztizálásához”, illetve műtéthez is vezetett, ami akár inkontinenciát, impotenciát és lelki megrázkódtatást okozhat [34]. A „cost/benefit” körülményeket figyelembe véve, bár vannak kézzel fogható előnyei a PSA-alapú populációsűrésnek, hiszen akár több évtizedre előre jelezheti a prosztata daganat kialakulását, mégsem támasztották alá metaanalízisek, hogy jelentősen csökkenne a prosztatarák okozta halálozás [36]. Az USA-ban 40 év alatt és 70 év felett az általános szűrés nem ajánlott, 55–69 évesek körében viszont két évente javasolt PSA-szűrésre elmenni [37]. A daganat korai kimutathatósága és a fiatalkori halálozás megakadályozása érdekében Európában viszont már 40 éves kor felett ajánlott rendszeres szűrésben részt venni [38].

A PHI- (PROSZTATAEGÉSZSÉG-INDEX) MEGHATÁROZÁS JELENTŐSÉGE

A [-2]pro-PSA-mérést 2012-ben az FDA jóváhagyta olyan betegekben, akiknél bizonytalanság áll fenn a prosztatarák diagnosztizálásában, mivel az össz-PSA-szint 4–10 µg/L közé esik, és negatív volt az RDV eredménye. Kiszámításához a [-2]pro-PSA/szabad PSA×v teljes PSA képletet használjuk (Beckman Coulter), amely bár növeli a vizsgálatok költségét, jelentősen hozzájárul a felesleges biopsziák számának csökkentéséhez. Egy nemrégiben elvégzett vizsgálat szerint a görbe alatti terület (AUC) értéke jóval magasabb volt a PHI-nek, szemben a szabad/össz-PSA aránnyal (0,74 vs. 0,63) [39]. A PS A-hoz hasonlóan a PHI is szoros összefüggést mutat a prosztata mérettel, és a PHI-denzitás még magasabb AUC-értékkel bírt, mint maga a PHI, illetve a szabad PSA % (0,84 vs. 0,76 vs. 0,75) [40]. Jól korrelál a betegség agresszivitásával is: minél agresszívebb a kórkép és magasabb a Gleason-pontszám (≥7), annál magasabb a PHI értéke is. Ráadásul 95%-os szenzitivitás mellett a PHI mutatta a legmagasabb specificitást (36%) az agresszív betegség kimutatásában, szemben az össz-PSA-val (17%) és a szabad PSA %-kal (19%) [41].

A NÉGY-KALLEKREIN PANEL (4K-SCORE) DIAGNOSZTIKAI ALKALMAZHATÓSÁGA

A 4K panel az agresszív prosztatarák kimutatásában és prognózisbecslésében nyújt segítséget, amikor a Gleason-pontszám ≥7. Ehhez az össz-PSA, a szabad PSA és az iPSA, valamint a hK2-szint kerül értékelésre. A teljes PSA-hoz képest a 4K panel AUC-értéke messze jobbnak mutatkozott a szűrővizsgálatokban (0,832 vs. 0,674). Amennyiben ez kiegészült RDV-vel, az előzetesen nem szűrt személyek körében a magas rizikójú prosztatarák kimutatására vonatkozó AUC-érték már 0,903 volt [42]. Az Opko Diagnostics kezdte el forgalmazni a 4K panelt kiegészítve a beteg életkorával, az RDV és a korábbi

3. TÁBLÁZAT. 2018-ban a Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében elvégzett PSA-vizsgálatok statisztikája

Vizsgálat	n, db (%)	Átlagérték ± SD (µg/L)	Szélsőérték (min-max) (µg/L)
Össz-PSA	13 662		
	2453 (17,9)	<0,09	–
	5127 (37,5)	0,99 ± 0,01	0,09–0,99
	3862 (28,3)	2,02 ± 0,82	1,0–3,9
	1476 (10,8)	6,37 ± 1,86	4,0–10,0
	567 (4,2)	28,6 ± 22,3	11,0–99,0
	139 (1)	327,4 ± 250,5	100–995
	38 (0,3)	2697,9 ± 3751,1	1000–23400
Szabad PSA	4308		
	984 (22,9)	<0,04	–
	3309 (76,8)	0,78 ± 1,62	0,04–21,1
	15 (0,3)	>25	–
Össz-PSA különböző betegcsoportokban	n, db	Átlagérték ± SD (µg/L)	Szélsőérték (min-max) (µg/L)
Prosztatarák	6747	29,4 ± 138,6	1,8–23400
Prosztata-hiperplázia	1045	5,26 ± 20,3	0,9–101
Normális prosztata	825	1,78 ± 1,28	<0,09–7,51

Az esetszámok után zárójelben az adott vizsgálat típus összes mintaszámára vonatkoztatott százalékos érték látható. Az alcsoportokon belül mért átlagos PSA-szintek és a legalacsonyabb, valamint a legmagasabb szélsőértékek kerültek feltüntetésre. A táblázat alsó részében válogatott klinikai állapotokban mért össz-PSA-szintek átlagértékei és szélső eredményei láthatók

biopszia eredményével, ami képes megbecsülni egy adott személynél a magas rizikójú prosztata daganat kialakulási valószínűségét. Ez megakadályozza a prosztatarák lehetőségének fals túlértékelését, és segíti azt, hogy csak indokolt esetben történjen biopszia. Egy multicentrikus vizsgálat szerint 0,821-es AUC-érték mellett a 4K-score elkülönítette a magasabb és az alacsonyabb Gleason-pontszámot mutató betegeket egymástól, és a biopsziák 30%-a elkerülhető volt a 6%-os küszöbérték esetén [43]. Sőt, a 4K panel a hosszú távon kialakuló távoli metasztázisok előrejelzésében [44], valamint korábban PSA-vizsgálat alapján szoros követésben részesített férfiak állapotának újraértékelésében is segítséget nyújthat [45].

PCA3-ANALÍZIS VIZELETMINTÁBÓL

Az 1999-ben leírt PCA3 gén (korábbi nevén Differential Display Code 3) túlzott expresszióját írták le a prosztata-tumorban, mely nem kódoló mRNS szintjének RT-qPCR módszerrel történő kvantitálása – prosztata-masszázs után vett vizeletmintából – mára rutinszerűen végezhető. Referenciagénnek a PSA mRNS-szintjét használjuk, melynek expressziója nem különbözik a malignus és az egészséges sejtek között. A vizsgálat a megismételt biopszia szükségességének eldöntésében nyújt segítséget 50 év feletti

férfiakban, akiknek egy vagy több negatív prosztatabiopsziája volt [17]. A ProgenSA® PCA3 félautomata assay (Hologic) az izolálástól az mRNS-quantitálásig minden részfeladatot elvégez. Egy metaanalízist bemutató közlemény szerint mind a beteg-kontroll tanulmányokban (0,63/0,88/0,82), mind a prospektív vizsgálatokban (0,65/0,73/0,75) a PCA3 szenzitivitása, specificitása és AUC-értéke egyaránt magas volt, és felülmúlta a teljes PSA és a szabad PSA % értékeit [46]. A PCA3 küszöbértéke körül még vannak bizonytalanságok: az FDA a <25 értéket javasolja, míg sok központ a 35-öt használja. Roobol és munkatársai vizsgálták a PCA3 szenzitivitását különböző küszöbértékek mellett, és azt találták, hogy a határérték csökkentésével [35, 20, 10] jelentősen javult a teszt érzékenysége (68%, 84%, 97%). Ugyanakkor a 35-ös küszöbérték használatakor az agresszív tumorok 26%-a nem került felismerésre [47]. A PCA3 és a tumor agresszivitása (Gleason-pontszám alapján) közötti összefüggés még nem egyértelmű, mint a panelek esetében, de vannak eredmények, melyek szerint van korreláció viszonylag magas (51-es) küszöbértéknél [48], míg mások ezt nem tudták megerősíteni [49]. Hazánkban is végeztek összehasonlítást a PCA3 és a PSA-markerek között, és az előbbi tesztet sokkal hatékonyabbnak találták a PSA-val szemben [50].

4. TÁBLÁZAT. A prosztatatarákban használható különböző tumormarkerek vizsgálatának klinikai indikációi

Szűrés/korai detektálás	Biopszia megismétlésének indikálása	Prognózisbecslés	Követés	Terápiarezisztencia kimutatása
PSA PHI 4K-score mikroRNS*	PHI 4K-score PCA3 TMPRSS2:ERG*	PHI 4K-score PTEN* TMPRSS2: ERG* mikroRNS*	PSA keringő tumorsejtek	AR-V7-génexpresszió

A vizsgálatok elvégzéséhez az alábbi mintatípus és paraméterek meghatározása szükséges (a kitet forgalmazó gyártó): PHI (prosztaegészség-index): szérumminta, összetétel: össz-PSA, szabad PSA, [-2]pro-PSA (Beckman Coulter); 4K-score (négy-kallikrein panel): szérumszám- vagy plazmaszám-minta, összetétel: össz-PSA, szabad PSA, iPSA, humán kallikrein 2 (Opko); PCA3 (prostate cancer antigen 3): vizeletminta, PCA3-mRNS-expresszió (PSA-mRNS-hez viszonyítva) (Hologic); keringő tumorsejtek analízise: teljes vérminta, CellSearch® platform (Janssen Diagnostics); AR-V7 (androgénreceptor hasítási variáns-7): teljes vérminta, sejtmagban detektálás, Oncotype DX®, (Epic Sciences). *Vizsgálati fázisban járó tesztek

A TMPRSS2:ERG FÚZIÓS GÉN PREDIKTÍV ÉRTÉKE

Számos hematológiai és szolid tumoros kórkép háttérben kimutatható a gének fúziója [18]. Vizeletmintából RT-qPCR segítségével, a PSA-mRNS-hez arányítva határozható meg a TMPRSS2:ERG pontérték, ami a PCA3-mal való kombinálással jelentősen javítja a biopszián átesett betegek malignus betegségének kimutatását, és önálló prediktív értékkel bír. Amikor megvizsgálták, hogy a European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) rizikó meghatározást mennyire tudta ez a két paraméter javítani, azt találták, hogy az ERSCP AUC-értéke 0,799-ről 0,842-re nőtt [51]. Ráadásul a TMPRSS2:ERG pontérték összefüggést mutatott a Gleason-pontszámmal (vagyis a tumor klinikai stádiumával). Az ERG-átrendeződés meghatározható a vizeletben található exozómákból is egy komplex assay segítségével egyszerre több másik gén (pl. PCA3) analízisével együtt. A teszt által megállapított pontérték képes a magas és az alacsony kockázatú prosztatatarákos betegeket elkülöníteni egymástól (AUC-értéke 0,74) [52].

A MIKRO-RNS-EK VIZSGÁLATA PROSZTATARÁKBAN

A humán genomon kifejeződő RNS-ek kb. 98%-a nem kódoló RNS, amelyek közé tartoznak a mikroRNS-ek is. Ezek a kb. 20 nukleotid hosszúságú oligonukleotidok a gének poszttranszkripció finomhangolásában vesznek részt azáltal, hogy az mRNS-hez különböző mértékben kötődve késleltetik a fehérje transzlációját vagy akár az mRNS degradációját okozhatják [53]. A mikroRNS-ek számos élettani funkció szabályozását végzik, továbbá megváltozott expressziójuk révén részt vesznek a karcinogenezisben, így a prosztatadaganat kialakulásában is [19]. Számos mikroRNS közül a csökkent miR-34 és let-7 a tumorsejtek proliferációját és progresszióját regulálják [54, 55], míg az emelkedett miR-21 a sejtek apoptotikus képességét képes csökkenteni a PTEN gén befolyásolásán keresztül [56]. A BCL-2 génnek több mikroRNS is a célpontja (pl. miR-34c), ami szintén a tumorsejt-apoptózis elvesztéséhez vezet [57]. Mint potenciális biomarkerek, mérhetők a plazmából vagy vizeletből. A plazma-miR-16, -miR148a

és -miR-195 szoros összefüggést mutatott az emelkedett (≥ 8) Gleason-pontszámmal [58]. Az egészséges populációhoz képest a vizeletben emelkedett szintet mutató miR-21, miR-141 és miR-375, valamint a csökkent miR-214 szintén alkalmas a prosztatatarák detektálására [59].

KERINGŐ TUMORSEJTEK ANALÍZISE

A keringő daganatsejtek csekély mennyisége számos technikai nehézséget jelenthet a rutindiagnosztika számára. Becslések szerint kb. 1 tumorsejt jut 10^6 – 10^9 normális sejtre, ráadásul ezek a sejtek eltérő fenotípussal rendelkezhetnek [60]. Jelenleg az FDA által is jóváhagyott CellSearch® kit (Janssen Diagnostics) áll rendelkezésre, amely immunmágneses sejtbefogáson keresztül direkt módon képes a tumorsejtek kiszűrésére. Ezeknek a vizsgálatoknak a fő célja a már előrehaladott stádiumban járó betegek követése és a terápiarezisztenssé vált személyek prognózisbecslése [61].

AZ ANDROGÉNRECEPTOR HASÍTÁSI VARIÁNSAINAK VIZSGÁLATA

Az androgénreceptor- (AR) közvetített szignálfolyamatoknak fontos szerepe van a prosztatatarák kialakulásában és a terápiás válasz megváltozásában. A receptor fokozott működését elősegítheti a különféle hasítási variánsok keletkezése, ami a receptor konstitutív aktivációjához vezet, és ez akadályozhatja a megfelelő terápiás válasz kialakulását [62]. Ezek közül az AR-V7 mRNS a legszélesebb körben vizsgált formája az AR-nek, mely kimutatható mind a keringő tumorsejtekből, mind a daganatszövetből, és abirateron- és enzalutamidrezisztenciát okozhat [63]. Jelenleg ennek vizsgálatára kereskedelmi forgalomban elérhető teszt az OncotypeDX® AR-V7 Nucleus Detect kit (Epic Sciences). A jelenleg elérhető, prosztatatarákban használható különböző tumormarkerek klinikai alkalmazhatóságát a 4. táblázat foglalja össze.

ÖSSZEFOGLALÁS

A prosztatatarák jelenleg is a férfiakat érintő egyik leggyakoribb daganattípus, megfelelő kiszűrésének és hatékony kezelésének nagy népegészségügyi jelentősége van. Ebben

tud segítséget nyújtani a laboratóriumi diagnosztika, mely területén a hagyományos össz-PSA mellett az utóbbi években egyre több új biomarker és egyéb számítási panel jelent meg, mely fokozza a PSA-alapú diagnosztika specificitását, és egyben elősegíti a klinikai döntések meghozatalát. Bár az új és komplex laborvizsgálatok hazai finanszírozása még nincs megoldva, a metodikák egyre inkább elérhetővé vál-

nak itthon is, ami sok segítséget jelenthet a kezelőorvosok számára. Prosztatadaganatban a különböző fehérjék immunoassay-vel történő mérése mellett egyre nagyobb figyelmet kapnak a molekuláris vizsgálatok is, melyek nemcsak a betegség hátterében álló patológiai folyamatok feltérképezését szolgálják, hanem új lehetőségeket kínálnak elsősorban a prognózisbecslésben.

IRODALOM

- Zhou CK, Check DP, Lortet-Tieulent J, et al. Prostate cancer incidence in 43 populations worldwide: An analysis of time trends overall and by age group. *Int J Cancer* 138:1388–1400, 2016
- Tosoian JJ, Carter HB, Lepor A, Loeb S. Active surveillance for prostate cancer: current evidence and contemporary state of practice. *Nat Rev Urol* 13:205–215, 2016
- D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, et al. Clinical utility of the percentage of positive prostate biopsies in defining biochemical outcome after radical prostatectomy for patients with clinically localized prostate cancer. *J Clin Oncol* 18:1164–1172, 2000
- Brajtford JS, Leapman MS, Cooperberg MR. The CAPRA score at 10 years: contemporary perspectives and analysis of supporting studies. *Eur Urol* 71:705–709, 2017
- NCCN Prostate Cancer Guideline. Version 2. 2017. www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate_core.pdf
- Rubin MA, Girelli G, Demichelis F. Genomic correlates to the newly proposed grading prognostic groups for prostate cancer. *Eur Urol* 69:557–560, 2016
- Cancer Genome Atlas Research Network. The molecular taxonomy of primary prostate cancer. *Cell* 163:1011–1025, 2015
- Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 49:1374–1403, 2013
- Ablin RJ, Bronson P, Soanes WA, et al. Tissue- and species-specific antigens of normal human prostatic tissue. *J Immunol* 104:1329–1339, 1970
- Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, et al. Purification of a human prostate specific antigen. *Invest Urol* 17:159–163, 1979
- Kuriyama M, Wang MC, Papsidero LD, et al. Quantitation of prostate-specific antigen in serum by a sensitive enzyme immunoassay. *Cancer Res* 40:4658–4662, 1980
- Filella X, Foj L. Prostate cancer detection and prognosis: from prostate specific antigen (PSA) to exosomal biomarkers. *Int J Mol Sci* 17:p11: E1784, 2016
- Gutman EB, Sproul EE, Gutman AB. Significance of increased phosphatase activity at the site of osteoplastic metastases secondary to carcinoma of the prostate gland. *Am J Cancer* 28:485–495, 1936
- Muniyan S, Chaturvedi NK, Dwyer JG, et al. Human prostatic acid phosphatase: structure, function and regulation. *Int J Mol Sci* 14:10438–10464, 2013
- Ozu C, Nakashima J, Horiguchi Y, et al. Prediction of bone metastases by combination of tartrate-resistant acid phosphatase, alkaline phosphatase and prostate specific antigen in patients with prostate cancer. *Int J Urol* 15:419–422, 2008
- Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, et al. APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem* 52:1089–1095, 2006
- Filella X, Foj L, Milà M, et al. PCA3 in the detection and management of early prostate cancer. *Tumour Biol* 34:1337–1347, 2013
- Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 310:644–648, 2005
- Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 12:861–874, 2011
- Fejes Z, Szilágyi B, Kappelmayr J, et al. Vérlemezke-mikro-RNS-ek változása trombocytaktivációval járó betegségekben. *Orv Hetil* 159: 1962–1970, 2018
- Maas M, Hegemann M, Rausch S, et al. Circulating tumor cells and their role in prostate cancer. *Asian J Androl* 2017, doi: 10.4103/aja.aja_29_17
- Antonarakis ES, Armstrong AJ, Dehm SM, et al. Androgen receptor variant-driven prostate cancer: clinical implications and therapeutic targeting. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 19:231–241, 2016
- Vickers AJ, Ulmert D, Sjöberg DD, et al. Strategy for detection of prostate cancer based on relation between prostate specific antigen at age 40–55 and long-term risk of metastasis: case-control study. *BMJ* 346:f2023, 2013
- Sölétormos G, Semjonow A, Sibley PE, et al. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice. *Clin Chem* 51:1342–1351, 2005
- Singh R, Cahill D, Popert R, et al. Repeating the measurement of prostate-specific antigen in symptomatic men can avoid unnecessary prostatic biopsy. *BJU Int* 92:932–935, 2003
- Romic I, Bodrogi I, Frang D. Eredményeink prostata specifikus antigén és prostata specifikus antigén denzitás vizsgálatával prostata hyperplasiás és prostatarákos betegekben. *Orv Hetil* 136:1599–1602, 1995
- Bánfi G, Kiss F, Kádár A, et al. A prosztataspecifikus antigén-szint meghatározásának első öt éve során szerzett tapasztalataink összefoglalása. *Magy Onkol* 47:165–168, 2003
- Bánfi G, Glasz T, Székely E, et al. A prosztataspecifikus antigén-vizsgálat első évtizede klinikánkon (1994–2004). *Orv Hetil* 148:121–124, 2007
- Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H, et al. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 51:222–226, 1991
- Linton HJ, Marks LS, Millar LS, et al. Benign prostate-specific antigen (BPSA) in serum is increased in benign prostate disease. *Clin Chem* 49:253–259, 2003
- Vickers AJ, Cronin AM, Roobol MJ, et al. A four-kallikrein panel predicts prostate cancer in men with recent screening: data from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer, Rotterdam. *Clin Cancer Res* 16:3232–3239, 2010
- Stephan C, Vincendeau S, Houllgatte A, et al. Multicenter evaluation of [-2]prostate-specific antigen and the prostate health index for detecting prostate cancer. *Clin Chem* 59:306–314, 2013
- Lee R, Localio AR, Armstrong K, et al. A meta-analysis of the performance characteristics of the free prostate-specific antigen test. *Urology* 67:762–768, 2006
- Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J Med* 366:981–990, 2012
- Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL 3rd, 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* 104:125–132, 2012
- Lumen N, Fonteyne V, De Meerleert G, et al. Population screening for prostate cancer: an overview of available studies and meta-analysis. *Int J Urol* 19:100–108, 2012
- Carter HB, Albertsen PC, Barry MJ, et al. Early detection of prostate cancer: AUA Guideline. *J Urol* 190:419–426, 2013
- Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent – update 2013. *Eur Urol* 65:124–137, 2014
- Bruzzese D, Mazzarella C, Ferro M, et al. Prostate health index vs percent free prostate-specific antigen for prostate cancer detection in men with “gray” prostate-specific antigen levels at first biopsy: systematic review and meta-analysis. *Transl Res* 164:444–451, 2014

40. Tosoian JJ, Druskin SC, Andreas D, et al. Prostate Health Index density improves detection of clinically significant prostate cancer. *BJU Int* 120:793–798, 2017
41. de la Calle C, Patil D, Wei JT, et al. Multicenter evaluation of the Prostate Health Index to detect aggressive prostate cancer in biopsy naïve men. *J Urol* 194:65–72, 2015
42. Filella X, Foj L. Emerging biomarkers in the detection and prognosis of prostate cancer. *Clin Chem Lab Med* 53:963–973, 2015
43. Parekh DJ, Punnen S, Sjoberg DD, et al. A multi-institutional prospective trial in the USA confirms that the 4Kscore accurately identifies men with high-grade prostate cancer. *Eur Urol* 68:464–470, 2015
44. Stattin P, Vickers AJ, Sjoberg DD, et al. Improving the specificity of screening for lethal prostate cancer using prostate-specific antigen and a panel of kallikrein markers: a nested case-control study. *Eur Urol* 68:207–213, 2015
45. Lin DW, Newcomb LF, Brown MD, et al. Evaluating the four kallikrein panel of the 4Kscore for prediction of high-grade prostate cancer in men in the Canary Prostate Active Surveillance Study. *Eur Urol* 72:448–454, 2017
46. Cui Y, Cao W, Li Q, et al. Evaluation of prostate cancer antigen 3 for detecting prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 6:25776, 2016
47. Roobol MJ, Schröder FH, van Leeuwen P, et al. Performance of the prostate cancer antigen 3 (PCA3) gene and prostate-specific antigen in pre-screened men: exploring the value of PCA3 for a first-line diagnostic test. *Eur Urol* 58:475–481, 2010
48. Merola R, Tomao L, Antenucci A, et al. PCA3 in prostate cancer and tumor aggressiveness detection on 407 high-risk patients: a National Cancer Institute experience. *J Exp Clin Cancer Res* 34:15, 2015
49. Hessels D, van Gils MP, van Hooij O, et al. Predictive value of PCA3 in urinary sediments in determining clinico-pathological characteristics of prostate cancer. *Prostate* 70:10–16, 2010
50. Balla B, Tóth E, Szendrői A, et al. Biomarkerek a prosztatatarák kimutatásában, illetve a PCA3 és a szérum PSA-markerek prosztatatarák diagnosztikai hatékonyságának összehasonlító elemzése magyar betegeken. *Magy Urol* 25:102–110, 2013
51. Leyten GH, Hessels D, Jannink SA, et al. Prospective multicentre evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers for prostate cancer. *Eur Urol* 65:534–542, 2014
52. McKiernan J, Donovan MJ, O'Neill V, et al. A novel urine exosome gene expression assay to predict high-grade prostate cancer at initial biopsy. *JAMA Oncol* 2:882–889, 2016
53. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function. *Cell* 116:281–297, 2004
54. Liu C, Kelnar K, Liu B, et al. The microRNA miR-34a inhibits prostate cancer stem cells and metastasis by directly repressing CD44. *Nat Med* 17:211–215, 2011
55. Kong D, Heath E, Chen W, et al. Loss of let-7 up-regulates EZH2 in prostate cancer consistent with the acquisition of cancer stem cell signatures that are attenuated by BR-DIM. *PLoS One* 7:e33729, 2012
56. Folini M, Gandellini P, Longoni N, et al. miR-21: an oncomir on strike in prostate cancer. *Mol Cancer* 9:12, 2010
57. Hagman Z, Larne O, Edsjö A, et al. miR-34c is downregulated in prostate cancer and exerts tumor suppressive functions. *Int J Cancer* 127:2768–2776, 2010
58. Al-Qatati A, Akrong C, Stevic I, et al. Plasma microRNA signature is associated with risk stratification in prostate cancer patients. *Int J Cancer* 141:1231–1239, 2017
59. Foj L, Ferrer F, Serra M, et al. Exosomal and non-exosomal urinary miRNAs in prostate cancer detection and prognosis. *Prostate* 77:573–583, 2017
60. Zieglschmid V, Hollmann C, Böcher O. Detection of disseminated tumor cells in peripheral blood. *Crit Rev Clin Lab Sci* 42:155–196, 2005
61. Zheng Y, Zhang C, Wu J, et al. Prognostic value of circulating tumor cells in castration resistant prostate cancer: a meta-analysis. *Urol J* 13:2881–2888, 2016
62. Karantanos T, Evans CP, Tombal B, et al. Understanding the mechanisms of androgen deprivation resistance in prostate cancer at the molecular level. *Eur Urol* 67:470–479, 2015
63. Luo J. Development of AR-V7 as a putative treatment selection marker for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Asian J Androl* 18:580–585, 2016