

Új lehetőségek és bevált utak a prosztatatarák laboratóriumi diagnosztikájában

Kovács L. Gábor

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar Laboratóriumi Medicina Intézete és Szentágotthai János Kutatóintézete, Pécs

A prosztatatarák elsősorban az idősebb férfiak betegsége, de negyvenéves életkor után bármikor megjelenhet. A PSA a prosztata sejtjei által termelt fehérjemolekula, melynek mérése a szérumban forradalmasította a prosztatatarák kezelését. A PSA azonban nem specifikus a prosztatatarák kimutatására. A jóindulatú prosztatamegbetegedések, csakúgy, mint a prosztata fizikai ingerlése (digitális rektális vizsgálat, biopszia, katéterezés vagy akár az ejakuláció) a PSA-szint növekedését okozhatják a szérumban. Sokfajta származtatott paramétereket dolgoztak ki annak a céljából, hogy növeljék a PSA specificitását. A keringő PSA 65–95%-a fehérjékhez kapcsolódik, míg a maradék PSA szabadon található (fPSA). Az fPSA mérésén kívül a „prosztataegészség-index”-et $[-2]proPSA/fPSA \times \sqrt{PSA}$ is növekvő mértékben használják, hogy különbséget tegyenek a prosztatatarák és a nem prosztatatarák eredetű betegségek által megemelkedett PSA-értékek között. A PCA3 nem kódoló messenger RNS, amely 60–70-szeresen overexpresszálódik a prosztatatarákszövetekben. A vizeletben mérhető PCA3-ról kimutatták, hogy jobb, mint a %fPSA, és értéke független a prosztata méretétől, a kortól és a tPSA-tól. A szerző a dolgozatban áttekinti a rutinellátásban, illetve a kutatásban alkalmazott leggyakoribb laboratóriumi markereket. A laboratóriumi markerek minden kétséget kizáróan alkalmasak arra, hogy szakszerű alkalmazásukkal csökkentsék az előrehaladott, valamint a metasztázisos prosztatatarák előfordulását, illetve a prosztatatarák-specifikus halálozást. A jövőt illetően új perspektívát kínál a keringő tumorsejtek kimutatása, illetve a mikroRNS-profil vizsgálata, különösen a prognosztika területén. Magyar Onkológia 58:301–309, 2014

Kulcsszavak: prosztatatarák, PSA, új laboratóriumi markerek, szűrés, rutinellátás, kutatás

Prostate cancer is usually a disease of elderly men, however, over 40 years of age the tumor can appear at any times. PSA is a protein molecule synthesized by prostate cells. Measurement of serum PSA has revolutionized the diagnosis and treatment of prostate cancer. However, PSA is not sufficiently specific for the detection of prostate cancer, since serum PSA might also be elevated in benign prostate diseases, as well as following physical stimulation of the gland (digital rectal examination, biopsy, catheterization, or even ejaculation). To increase the specificity of PSA, different derivative parameters have been developed i.e. PSA density (ratio of PSA to prostate volume), PSA velocity (change of PSA over a time period) or age-specific reference ranges. 65-95% of circulating PSA is bound to different proteins, while the rest of PSA circulates in a non-bound form (free PSA, fPSA). In addition to fPSA, the prostate health index $[-2]proPSA/fPSA \times \sqrt{PSA}$ is increasingly used to differentiate between carcinoma-induced and non-carcinoma-induced increase in PSA. PCA3 is a non-coding messenger RNA, which is 60-70-fold overexpressed by cancer cells in the prostate. Measurement of urine PCA3 appears to be more sensitive than %tPSA, and is independent of prostate volume, age or tPSA. The author reviews laboratory biomarkers related to prostate cancer, used either in the routine clinical practice, or in research. Laboratory biomarkers seem to be useful tools to reduce the incidence of advanced stage, or metastatic prostate cancer, and the cancer-related death rate. A promising perspective for the future is the detection of circulating prostate cancer cells and the profiling of microRNAs, especially on the field of tumor prognosis.

Kovács LG. New challenges and earlier approved methods in the laboratory diagnosis of prostate cancer. Hungarian Oncology 58:301–309, 2014

Keywords: prostate cancer, PSA, new laboratory markers, screening, routine diagnosis, research

Levelezési cím: Dr. Kovács L. Gábor egyetemi tanár, az MTA r. tagja, PTE Laboratóriumi Medicina Intézete, 7624 Pécs, Ifjúság utca 13., e-mail: kovacs.l.gabor@pte.hu

Anyagi támogatás: TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0053

Közlésre érkezett: 2014. szeptember 17. • Elfogadva: 2014. október 1.

A PROSZTATASPECIFIKUS ANTIGÉN (PSA) A SZÉRUMBAN

A PSA a prosztata sejtjei által termelt fehérjemolekula. A mirigyből a szeminális plazmába választódik ki, és a PSA felel az ondó cseppfolyósításáért. A szeminális transzporttal ellentétes irányú, véráramba történő PSA-kibocsátás igen kis mennyiségben történik egészséges férfiaknál (a szeminális kibocsátás milliomodrészé jut csak a vérplazmába (1)). A PSA ennél nagyobb arányú bejutása a véráramba csak azokban az esetekben történhet meg, ha a prosztata hámsajtjeinek membránja megsérül. Bár a megnövekedett PSA-szintet a szérumban jóindulatú prosztatabetegségek is okozhatják (pl. hiperplázia vagy a gyulladás), szoros korreláció található a PSA szérumszintje és a prosztatarák előfordulási gyakorisága között (1). Így a megnövekedett PSA-szint jelzi a prosztata megbetegedéseit, köztük a prosztatarákot, de a PSA emelkedése hangsúlyozottan nem rákspecifikus. Ugyanakkor a megnövekedett szérum-PSA-szint több évre vagy évtizedre előre tudja jelezni a prosztatarák előfordulását (1, 2). Így például a metasztatikus prosztatarák okozta halál kockázata 44% a 45–55 év közötti férfiaknál, ha a PSA-szintjük a 10. percentilisen belül van, azokhoz a férfiakhoz képest, akiknek a PSA-szintje a medián érték alatt van (2). Mindezekkel együtt, a PSA mérése forradalmasította a prosztatarák kezelését. Az elmúlt évtizedben több hazai összefoglaló közlemény is napvilágot látott, amelyek magyar beteganyagot is megerősítik a fenti következtetéseket (3–5).

A PSA-MÉRÉS KORLÁTAI

Míg a PSA kulcsparaméter a már felismert prosztatarák kezelésében, addig meghatározó korlátai is vannak az eddig fel nem ismert prosztatarák diagnosztizálásában. A jóindulatú prosztata megbetegedések, csakúgy, mint a prosztata fizikai ingerlése (digitális rektális vizsgálat, biopszia, katéterezés vagy akár az ejakuláció) a PSA-szérumkoncentráció növekedését okozhatják. Ez alacsony vizsgálati specificitást eredményez, amennyiben egyetlen PSA-mérést alkalmazunk a prosztatarák előrejelzésében, különösen a PSA „szürke zónájában”, 2–10 ng/ml tartományban. Egyszerűsítheti az eredmények értelmezését, ha a vérvételt megelőzően pár napig elkerüljük a fenti faktorokat. Hozzá tartozik, hogy a PSA-érték biológiai variációja akár 20–30% lehet egészséges emberben is (6). Már a PSA-mérés egyszeri megismétlése is jelentősen csökkentheti a prosztatabiopsziák számát (7), de a biopsziák 60–80%-a továbbra is szükséges marad. Figyelemfelkeltő, ha a PSA szintje a szérumban magasabb, mint 4 ng/ml. Azonban a hagyományos 4 ng/ml-es PSA-határérték alatti szint sem jelent feltétlenül da-

ganatmentességet (8). Továbbá az egyes PSA-assay-k közötti mérés technikai és analitikai különbségek is nehezíthetik az eredmények értelmezését.

Különböző származtatott paramétereket dolgoztak ki annak a céljából, hogy növeljék a PSA specificitását. Ilyen például a PSA-sűrűség (PSA aránya a prosztata nagyságához képest), a PSA-sebesség (PSA szintjének változása a szérumban egy adott időszakban), vagy a korszpecifikus referenciatartományok. Ezek közül talán a PSA-sűrűség a legspecifikusabb paraméter, de ahhoz, hogy pontosan megmérjék a prosztata méretét, ultrahangos vizsgálatra van szükség.

PSA-ALAPÚ SZÉRUMMARKEREK

PSA-komplexek

A PSA különböző molekulaformákban létezik (9). A PSA 65–95%-a alfa-1-antikimotripsinhez kapcsolódik (PSA-ACT), míg a maradék PSA szabadon található (fPSA). A PSA-ACT szintje magasabb a prosztatarákos betegeknél, mint benignus hiperpláziában (9). A PSA aktív formája gyorsan és visszafordíthatatlanul komplexet képez egyes proteázgátlókkal, míg az inaktív fPSA nem képez komplexet (10). A PSA szintén komplexet képez az alfa2-makroglobulinnal (A2M-PSA), amit nem lehet a jelenlegi rutin laboratóriumi módszerekkel mérni. Kis mennyiségű PSA komplexet képez az alfa1-proteáz-gátlóval (API-PSA). Az API teljes PSA-hoz (tPSA) viszonyított nagyon kis mennyisége a laboratóriumi mérések során komoly nehézséget jelent, ezért sem az A2M-PSA komplex assay-t, sem az API-PSA komplex assay-t soha sem hozták kereskedelmi forgalomba. A jelenleg forgalomban levő PSA immunoassay egyaránt méri a szabad és komplex PSA-t is, ezt a gyakorlatban teljes PSA (tPSA) mérésnek hívjuk.

fPSA elleni blokkoló antitestet használva minden komplex PSA (cPSA) is mérhető. A cPSA-val csak akkor lehet mérhető szakmai javulást elérni az fPSA tPSA-hoz mért arányához képest (f/tPSA arány vagy a szabad PSA százalékos aránya, %fPSA), ha a tPSA arányához is mérjük. Mivel a tPSA az ACT-PSA és az fPSA összege, a cPSA-tPSA aránynak klinikai szempontból egyenlőnek kell lennie az fPSA-tPSA aránnyal. Az fPSA-tPSA arányt korábban használták, mint a cPSA-tPSA arányt. Így a legtöbb klinikai tanulmány, amelyet a PSA molekulaformáiról publikáltak, %fPSA-val készült. A %fPSA alkalmazása javította az izolált tPSA-mérés gyenge specificitását (11, 12). A %fPSA metaanalízise során a szerzők arra jutottak, hogy a %fPSA csak akkor lehet hasznos kiegészítője a PSA-alapú szűréseknek, ha kifejezetten alacsony értékeken marad (<7%) (13). Ha magasabb %fPSA-határértékeket használunk, a szükségtelen biopsziák száma 10–20%-kal csökkenthető.

A szabad PSA egyéb alformái

Az úgynevezett „jóindulatú” PSA (bPSA) az fPSA egy alformája, amely kapcsolatban van a prosztatata átmeneti zónájával, amely a benignus prosztatata hiperpláziában (BPH) fontos szerepet játszik. A bPSA potenciálisan használható a BPH markereként, de nem alkalmas arra, hogy különbséget tegyen a BPH és a prosztatatarák között (14), azonban a bPSA így is 15%-kal növelte a %fPSA specificitását.

Az fPSA egy másik alformáját is beazonosították anti-PSA antitestek használatával, amelyek nem észlelik a Lys145-Lys146-nál hasított PSA-t. Ezt a speciális PSA-alformát „intakt” PSA-nak (iPSA) nevezték el (15). Ugyan az iPSA különbséget tud tenni a prosztatatarák és a BPH között, alkalmazása korlátozott, mivel nincs kereskedelmi forgalomban kapható assay. Egy új laboratóriumi teszt is elérhető panelként, 4K néven. Ez a panel kombinálja a tPSA-t, fPSA-t, iPSA-t valamint a humán kallikrein 2-t (KLK2), és meglehetősen magas prediktív értékkel bír (16).

Egy másik alforma a proPSA, amit (-2)proPSA-nak neveztek el, és természetes formában 7 aminosav N-terminális pro-leader peptidből áll, amely proteolitikus hasítással gyorsan hasad (-4)proPSA-ra vagy (-2)proPSA-ra. A proPSA-származék (-2)proPSA-t nem lehet tovább hasítani enzimatikusan aktív PSA-vá, és a peptidszármazék a prosztatatarák régiójában halmozódik fel. A (-2)proPSA (17, 18) mutatta a várt további javulást a %fPSA specificitása tekintetében. 2010 óta a „prostataegészség-index”-et (prostate health index, phi, számítása: $(-2)proPSA/fPSA \times \sqrt{PSA}$) használják, hogy különbséget tegyenek a prosztatatarák és a nem prosztatatarák eredetű betegségek által megemelkedett PSA-értékek között. Nagy multicentrikus tanulmányok is megerősítették, hogy a phi érzékenyen detektálhatja az agresszív prosztatatarákat (17–20).

A „prostataegészség-index” (phi) klinikai fontossága

2012-ben az FDA jóváhagyta, hogy a (-2)proPSA-t használják az előzetes biopsziával kapcsolatos döntésekhez azon férfiaknál, akiknek a PSA-szintje a 4–10 ng/ml tartományban van, és negatív a digitális rektális vizsgálat eredménye. A PSA-val történő általános szűrési stratégia phi-vel történő kiegészítése ugyan kismértékben növeli a vizsgálatok költségeit, azonban ezzel egyidejűleg csökkentheti a szükséges vizitek, laboratóriumi tesztek és biopsziák számát.

Egy friss metaanalízis készült a phi-ről és a (-2)proPSA fPSA-hoz viszonyított százalékos arányáról [%(-2)proPSA], amelyben több mint 5000 férfitől származó adatokat elemeztek, akik átestek biopszián és a tPSA-szintjük a 2–10 ng/ml tartományba esett (21). 90%-os érzékenységnél a phi és a %(-2)proPSA kumulatív specificitása 32%; mindkét paraméter jobb volt, mint a tPSA és %fPSA. A növekvő phi-

értékek korrelációba hozhatók a Gleason-pontszám (≥ 7) növekvő valószínűségével a prosztatadaganat felismerésében (18). Két tanulmányban, amelyben több mint 2200 férfi vett részt, egymástól függetlenül kimutatták, hogy a prosztatatarák relatív kockázata 3,6–4,7-szeresen (17, 18) magasabb azoknál a férfiaknál, akiknél a phi értéke magasabb, mint a legalacsonyabb kvartilis. A Gleason ≥ 7 PCa kockázata 1,6-szeresre nő, ha a phi-értékek a legmagasabb kvartilisban vannak (17). A phi-nek szignifikánsan magasabbak a medián értékei agresszív prosztatatarákban, és a Gleason ≥ 7 PCa aránya megnövekszik a phi értékével (18). A phi ígéretes adatokat mutat, főként, ha az agresszív prosztatatarák kimutatására koncentrálunk.

MÁS SZÉRUMMARKEREK A PROSZTATARÁK KIMUTATÁSÁBAN

Szarkozin a szérumban

A spondin-2-ről szóló tanulmányban (22) a szarkozin mérése csak korlátozott eredményességet mutatott. Mások az agresszív prosztatatarák megnövekedett kockázatát észlelték megnövekedett szarkozinszint esetén (23). Egy másik nagy tanulmány szerint is a magas szarkozin- és glicinkoncentráció összefüggésbe hozható a prosztatatarák kockázatával (24). Más tanulmányok a szérumban és plazmában levő szarkozinról, kevesebb pácienset bevonva, szintén jellemző adatot találtak.

Egyéb szérummarkerek

Számos egyéb markerről jelentek meg tudományos közlemények, mint például a caveolinról, az IGF-ről, a PSP94-ről, a makrofággátló citokin 1-ről (MGC-1), a citokin makrofágmigrációt gátló faktorról (CMMGF), a kalciumkötő fehérjéről (S100A8 és S100A9). Ezekről azonban az eddigiekben nem bizonyosodott be a valódi klinikai, diagnosztikai érték (25). 2013-ban publikálták a spondin-2 (extracelluláris mátrix fehérje) (22) és a galectin-3, egy tumorasszociált fehérjemolekula szerepét. A spondin-2 kiemelkedően magas diagnosztikus jelentőséget mutatott a %fPSA-hoz, a szarkozinhoz és a tPSA-hoz képest (22). A galectin-3-szintet az eddigiekben azonban csak a metasztatizáló prosztatatarákos betegek és a nem rákos betegek szérumaiban hasonlították össze (26).

A kallikreinek

A hasnyálmirigyvel/vesével kapcsolatos kallikreinek (KLK1, KLK2 és KLK3) mellett a humán kallikrein család 12 új tagját azonosították (27). A humán kallikrein géneket KLK1-től KLK15-ig nevezték el, ezek KLK1-től KLK15-ig fehérjéket kódolnak. A KLK2 át tudja alakítani a proPSA-t aktív PSA-vá (27, 28). Azonban a korai ígéretes klinikai adatokat nem

sikerült megerősíteni, és a KLK2 nem került át a kereskedelmi forgalomba. A KLK2 és a PSA mellett legalább 6 másik kallikrein (KLK4, KLK10-13 és KLK15) jelenik meg viszonylag nagy mennyiségben a prosztataszövetben, de ezekből sincs kereskedelmi forgalomban kapható assay.

VIZELETMARKEREK

PCA3

A PCA3 egy nem kódoló messenger RNS, amely 60–70-szeresen overexpresszálódik a prosztatarákszövetekben. 2006-ban hozták forgalomba a molekuláris PCA3-assay-t (29). 2012-ben az FDA is jóváhagyta, abból a célból, hogy ez a vizsgálat segítse a megismételt biopszia szükségességéről szóló döntéseket az 50 évnél idősebb férfiaknál (30). Két független multicentrikus tanulmány is kimutatta a PCA3-assay remek klinikai értékét azon férfiaknál, akiknél a korábbi biopszia eredménye negatív lett (31), valamint azoknál is, akiknél ismétlődő biopsziát végeztek (32). Haese és mtsai (31) kimutatták, hogy a PCA3 jobb, mint a %fPSA, valamint hogy a PCA3 független a prosztata méretétől, a kortól és a tPSA-tól. A prosztatarák valószínűsége megnőtt az emelkedett PCA3-értékekkel. Ugyanakkor a prosztatarák kimutatásának aránya csak 47% volt azoknál a betegeknél, akiknél a PCA3 értéke >100 (31). Más tanulmány is bizonyította a PCA3 klinikai értékét, mivel a PSA és %fPSA fölé javítja a specificitást (30). A PCA3 jelenleg nem alkalmas arra, hogy helyettesítse a PSA-t elsődleges tesztként a klinikai gyakorlatban, mivel hiányoznak a megfelelő cut-off értékek. A komplikált mérési eljárástól, a viszonylag magas költségektől (kb. 300 euró) eltekintve a PCA3 klinikai értéke is lassan kirajzolódik. Magyar szerzők (3) közel 500 beteg analizálásával igazolták, hogy a PCA3-teszt specifikusabb és hatékonyabb, mint a szérum-PSA.

TMPRSS-2

Mérföldkő volt a kutatásban a génfúziók kimutatása a prosztatarákban, így pl. az androgének által szabályozott TMPRSS2 és az ETS transzkripció faktor gének területén (34). A prosztatarákos betegek 50%-ánál a TMPRSS2 fuzionál az ETS család tagjával, így kulcsfontosságú onkogénnek tekinthető (34, 35). A TMPRSS2:ERG a prosztatarákos sejtekben és a beteg vizeletében magas korrelációt mutat. A TMPRSS2:ERG-nak önálló prediktív értéke lehet a prosztatarák előrejelzésében.

Szarkozin

Sreekumath és mtsai (36) úgy találták, hogy a szarkozin koncentrációja szignifikánsan magasabb a prosztatarákos férfiak vizeletüledékében és felülúszó folyadékában egyaránt, összehasonlítva a nem prosztatarákos férfiak értékeivel. Ezzel ellentétben egy másik tanulmány 139 férfinél úgy

találta, hogy szignifikánsan alacsonyabb a szarkozinszint a prosztatarákos férfiaknál a nem prosztatarákos férfiakhoz képest, és nincs különbség az egészséges és a prosztatarákos férfiak között (37). A szarkozint kereskedelmi forgalomban kapható aminosav-assay-vel mérték, és az értékeket a vizeletkreatininre normalizálták (37). Szoros korreláció volt a szarkozin és a kreatinin között, ami azt mutatja, hogy a szarkozin a vizeletbe a glomeruláris mechanizmusokkal jut be (37). A szarkozin nem prosztataszövet-specifikus, és nem kapcsolódik a tumor agresszivitásához vagy újra megjelenéséhez. Így nem valószínű, hogy a szarkozin alkalmas marker a prosztatarák kimutatására.

Következtetés a vizeletmarkerekről

A prosztatarák vizeletből való kimutatása technikailag megvalósítható, mint ahogy azt több tanulmány is mutatja, de egyelőre kevés a tapasztalat nagy betegmintákon (38). Számos új markert, mint például a cink alfa2-glikoproteint, tioszulfátot vagy a markerek kombinációját mérték. Ugyanakkor a vizelet preanalitikai körülményei jóval bonyolultabbak, mint a szérumé, és a vizeletgyűjtés folyamata változó, ami a klinikai eredmények ellentmondásosságát eredményezheti.

A MIKRO-RNS-EK SZEREPE

A miRNS-ek a génexpresszió finom hangoló modulátorai (39). Kicsi, egyszálú RNS-szekvenciák, amelyek nem kódolnak fehérjéket, sokkal inkább azok célgenjeinek kontrollálása a funkciójuk. Alapvető szerepük van a sejtciklus, túlélés, differenciálódás, növekedés és az apoptózis folyamataiban (40). A miRNS és a prosztatarák közötti kapcsolat jól megalapozott a szakirodalomban, és legalább 50-féle miRNS-hez köthető (41, 42). A miRNS-ek közreműködnek a prosztatarák kialakulásában és fejlődésében (43, 44). Elvileg a különböző miRNS-ek expressziója diagnosztikai biomarkerként használható. A célgentől függően a miRNS-ek tumor-elősegítőként (oncomiR-ek) vagy tumorszuppresszorokként funkcionálhatnak. A miR-34 a tumorszuppresszor p53 célpontja, és úgy találták, gyakran elcsendesített a prosztatarákban. A miR-34 túltermelése negatívan szabályozta az E2F3 és BCL-2 onkogéneket. A magas fokú prosztata-intraepithelialis neoplasia (HGPI) és a lokalizált adenocarcinoma közötti átmenetet összefüggésbe hozták a miRNS-ek alulszabályozottságával. Összességében a prosztatarák patogenezisét tumor-elősegítő és -gátló miRNS-ek egyensúlyának hatása befolyásolja, ami terápiás lehetőséget jelenthet.

Számos miRNS-t androgénfüggőnek találtak (pl. miR-125b, miR-101, miR-148, 221/222, miR-146). Ezekről a miRNS-ekről megállapították, hogy kontrollálják a tumornövekedést, -terjedést és a metasztázist azáltal,

hogy több gént szabályoznak, úgymint a BAK1-et, EZH2-t és a ROCK1-et (44). A jelenlegi kísérleti bizonyítékok arra utalnak, hogy a miRNS-ek egy csoportja – a „metastamir” RNS-ek – részt vesznek a prosztaták agresszív viselkedésében és a metasztázisképződésben.

A rák fejlődése kapcsolatban áll az epithel-mesenchyma tranzícióval (EMT). Az EMT fenotípussal bíró prosztaták sejtek összezszerű tulajdonságokat mutattak, amelyek összefüggtek a miR-200 és let-7 család csökkent expressziójával (45). Kimutatták, hogy a miR-182 és miR-203 alulszabályozott az EMT közben. A miR-205 jelenléte nélkülözhetetlen faktor a p63 – egy metasztáziscsökkentő – gátló hatásához (46).

Az egy pontos nukleotid-polimorfizmusok (single nucleotide polymorphisms, SNPs) sokféle mechanizmuson keresztül megváltoztathatják a miRNS expresszióját. Jelenlétük befolyásolhatja az éretlen és érett miRNS-ek transzkripcióját. A célgének miRNS-kötő területein található SNP-k módosíthatják a 3'UTR-hez kötött miRNS hatékonyságát, amely az onkogén vagy tumorszuppresszor miRNS-ek funkcióját módosíthatja (47). Genomasszociációs vizsgálatokkal (GWAS – genome-wide associations studies) számos SNP-t azonosítottak, amelyek kapcsolatban állnak a prosztaták kockázati faktoraival, mint például az életkor a diagnóziskor, patológiai agresszivitás és a családban előforduló rákos megbetegedések (48).

A rák fejlődésében játszott szerepüknek köszönhetően a miRNS-ekben megvan a széleskörű lehetőség arra, hogy alkalmazzák őket mint diagnosztikai, prognosztikai, prediktív markerek, vagy hogy potenciális terápiás célpontok és farmakogenomikai markerek legyenek elsődleges és metasztatikus rák esetén egyaránt (49, 50). A miRNS-eknek sok olyan tulajdonsága van, amelyek vonzó biomarkerré teszik őket, beleértve, hogy kimutathatóak kevés mintából és formalinfixált szövetekből is. Ráadásul specifikus és érzékeny kvantitatív real-time PCR-ral (qRT-PCR) különböző testnedvekben is kimutathatóak, mint például a szérum vagy a vizelet (49).

KERINGŐ DAGANATSEJTEK PROSZTATÁKBAN

A keringő tumorsejtek olyan sejtek, amelyek a rákos vagy metasztázisos területekről válnak le, és bekerülnek a véráramba (51). Egyre több bizonyíték utal arra, hogy a keringő prostatatumorsejtek segíteni tudnak a rák megtalálásában, diagnosztikában, előrejelzésében, és abban, hogy a legmegfelelőbb kezelést válasszák. A keringő prostatatumorsejteket mint lehetséges prognosztikai markereket vizsgálták. A prognosztikai marker egy olyan klinikai vagy biológiai jellemző, amelyet objektíven lehet mérni, és

amely információt ad a rákos megbetegedés valószínűsíthető kimeneteléről a nem kezelt betegekben (52). A keringő prostatatumorsejtek kimutatása egyértelmű klinikai hasznót mutatott, mint prognosztikai marker, és mint a terápiás válasz követésére alkalmas marker. Ebben a tekintetben a keringő prostatatumorsejtek kimutatása jobb markernek bizonyult, mint a szérum-PSA.

SZAKMAI ELLENTMONDÁSOK A PROSZTATÁK SZÜRÉSÉBEN

A PSA-szint mérése csökkenti a prosztaták-specifikus halálozást

A PSA egyre növekvő használata az elmúlt 25 évben bebizonyította, hogy a prosztaták az egyik leggyakoribb rosszindulatú megbetegedés a nyugati világban, ez a betegség felelős a férfiak rákos megbetegedéseinek 25%-áért (53, 54). 2009 óta a PSA mérésére alapozott prostataszűrés komoly vitákra adott okot, mivel a két legnagyobb szűrési tanulmány teljesen eltérő eredményeket hozott. Az egyik tanulmány (ERSPC – European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer) 7 európai országban több mint 162 000 férfi bevonásával végzett vizsgálatot. A vizsgált személyek azon csoportjánál, ahol rendszeres volt a PSA-szint mérése, 20%-kal kevesebb volt a prostatákkal kapcsolatos halálozás (54–56). Jelentős ellentétben áll ezzel az amerikai tanulmány (Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Screening Trial), amely 76 693 amerikai férfi bevonásával végzett vizsgálat során semmilyen különbséget nem talált a prostaták-specifikus halálozásban sem 7 évnyi, sem 10 évnyi követési idő elteltével (57).

Különbségek az ERSPC és a PLCO szűrés között

A PSA-tesztek széleskörű elterjedése az USA-ban úgynevezett „PSA-szűrési szennyeződéshez” vezetett a PLCO kísérlet kontrollcsoportjánál. Ez annyit jelent, hogy a kontrollcsoport tagjainak legalább 52%-ánál végeztek minimálisan egy PSA-tesztet a vizsgált időszak 6 évében annak ellenére, hogy a kontrollcsoportról azt feltételezzük, hogy PSA-szűrésen még sohasem esett át. Azonban sokkal valószínűbb, hogy a PLCO kísérletnél valójában csak a férfiak 15%-a nem esett még át soha PSA-teszten (58). Tehát a PLCO vizsgálat nem a szűrt/nem szűrt populációt hasonlítja össze, hanem egy gyakori szűrés hasonlít össze egy (valamivel) ritkább szűréssel. Ezért is valószínűtlen, hogy különbség legyen a PSA-szűrésen részt vett, valamint a PSA-szűrésen részt nem vevő amerikai férfiak halálozási aránya között. Az ERSPC tanulmányban a „PSA-szűrési szennyeződés” jelentősen kisebb volt, legfeljebb 15% (59).

Másrészt, azon férfiak közül, akiknél a PLCO kísérlet során pozitív volt a teszteredmény (abnormális digitális

rektális vizsgálat és/vagy a PSA-szint ≥ 4 ng/ml) csak 30–40% esett át biopszián. Az alacsony biopsziaráta azt mutatja, hogy a férfiak kétharmadánál a prosztatatarákat később sem diagnosztizálták. Az ERSPC kísérletnél a vizsgált alanyok 85%-ánál volt pozitív a teszteredmény (abnormális digitális rektális vizsgálat és/vagy a PSA-szint ≥ 4 ng/ml, 1996–1997-ben ≥ 3 ng/ml-re csökkentették a határértéket digitális rektális vizsgálat nélkül), és náluk biopsziát is végeztek (54). Ez az arány kétszer-háromszor nagyobb, mint a PLCO kísérletnél.

Harmadrészt, a PLCO kísérletben nem volt különbség a betegség stádiummegoszlásában az I. és II. stádium között a vizsgált csoport (95,9%) és a kontrollcsoport (94,4%) tagjainál. Ezenkívül a 6 alatti Gleason-szám esetében sem volt eltérés a vizsgált csoport (65,7%) és a kontrollcsoport (60,3%) tagjainál. Az ERSPC kísérletben a szűrt csoportban a stádiummegoszlás 80,9% volt az I. és II. stádiumnál, míg a kontrollcsoportnál a korai stádiumnak szignifikánsan alacsonyabb, 58,9%-os volt az aránya (54, 60). A korábban említett három különbség mellett elmondható, hogy a PLCO kísérlet ERSPC-hez viszonyított rövidebb követési ideje és a PLCO gyenge színvonalú statisztikai feldolgozása szintén befolyásolja az eredményeket (61).

A szűrés hátrányai

Az ERSPC kísérletben ugyan 21%-kal alacsonyabb prosztatatarák-specifikus halálozást mutattak ki, de jelentős hátrány, hogy a kezelést nem igénylő, úgynevezett lokalizált rákos megbetegedéseket is diagnosztizáltak. A túldiagnosztizálás a megszokott PSA-szűrési eljárások során jelentős probléma. Az I. stádiumú prosztatatarák kockázatát kétszeresnek mutatták ki 6 szűrési kísérlet összegzésénél, amelyben majdnem 400 000 férfi vett részt (62). Míg a túldiagnosztizálásnak negatív pszichológiai hatásai lehetnek a betegekre nézve, addig a túlkezelés inkontinenciához, impotenciához és más klinikai mellékhatásokhoz vezet. Az ERSPC kísérletek azt mutatták, hogy az alacsony kockázatú prosztatatarákos betegek 32–43%-a elkerülhetné a kezelést (63). Az alacsony kockázatú prosztatatarákos betegeknél az óvatos követés elfogadható, mint kezelésmentes opció (64, 65). A korábban szűrésen átesett és prosztatatarákkal pozitívan diagnosztizált 439 betegnél kimutatták, hogy 86%-nál nem volt tumornövekedés 10 évnyi követési időszak után sem.

Míg a kezelés nélküli óvatos követés egyre népszerűbb, meg kell jegyezni, hogy a korai stádiumú megbetegedések kimutatása csak a biopszia eredményén alapszik. A biopszia eredménye alapján lokalizáltnak tartott tumor később klinikailag jelentőssé válhat. Két tanulmány, amelyet 12 000, radikális prosztatektómiával kezelt férfi bevonásával végeztek, kimutatta, hogy csupán a tumorok 25–33%-át nyilvánították a végső patológiai feldolgozás során továbbra is loka-

lizált tumornak, a többinek klinikai jelentősége lett (66, 67). Továbbá a tumorok 20–33%-a magasabb gradingfokozatot mutatott a végső patológiai eredmény alapján, valamint kb. 10%-nál a betegség tokon kívüli kiterjedését tapasztalták (66, 67). Ez azt mutatja, hogy nem elhanyagolható azon férfiak aránya, akik bizonyítottan lokalizált prosztatatarákban szenvednek, de klinikailag mégiscsak releváns tumoruk van (66–68). Végül a radikális prosztatektómiát követő hosszú távú követés kimutatta, hogy a tumor biokémiai kiújulási előfordulása akár 40% is lehet, ami arra utal, hogy ezek a tumorok nemcsak, hogy nem lokalizáltak, de már előrehaladott stádiumban voltak.

A metaanalízis problémái a PSA-szűrésben

PSA-szűrés eredményeképpen 2010 óta 4-5 metaanalízist publikáltak (62, 69–71), és a legtöbb arra jutott, hogy nincs bizonyíték arra, hogy a PSA mérése csökkentené a prosztatatarák-specifikus halálozást. Egyetlen metaanalízis volt, amely a prosztatatarák-specifikus halálozás 24%-os csökkenését mutatta ki annak eredményeképpen, hogy PSA-szűrést használtak. Ennek a tanulmánynak az értéke, hogy kizáró kritériumai voltak a túl rövid követési idő, az elfogadhatatlanul magas PSA-szűrési szennyezettség a kontrollcsoportban, és a nem kielégítő részvétel a vizsgált csoportban (71). A többi metaanalízis nem vette figyelembe ezeket a fontos szempontokat. Hangsúlyozni kell, hogy a metaanalízisek többnyire erősen kritizálható tanulmányokon alapszanak, így nem is tudják valójában megválaszolni, hogy a PSA-szűrés hasznos-e (72).

Az aktuális szűrési stratégiák

A nagy eltérések ellenére az ERSPC és a PLCO szerzői azonos eredményre jutottak a PSA prosztatatarákszűrésben való használatát illetően (73). A PSA képes akár 30 évre előre jelezni a prosztatatarákat (73). Az amerikai irányelvek szerint a PSA mérése nem ajánlott azoknak, akik 40 évnél fiatalabbak vagy 70 évnél idősebbek. Rendszeres kétévenkénti szűrés ajánlott körültekintő tanácsadás után az 55–69 év közötti férfiaknak (74). Európában az alap PSA-szűrést a 40–45 év közötti férfiaknak ajánlják azért, hogy csökkentsék a prosztatatarák-specifikus halálozást és az előrehaladott, valamint metasztázisos prosztatatarák előfordulását (75). A „túldiagnosztizálás” és a „túlkezelés” elkerülése érdekében szükséges lehet többváltozós kockázat-előrejelző eszközök alkalmazása (74).

A legnegatívistikusabb a US Preventive Services Task Force által készített, sokkal inkább gazdasági – és nem orvosszakmai – alapokon nyugvó ajánlás, amely teljes mértékig lemond a PSA-szűrésről (76).

A két nagy tanulmány közül az ERSPC eredményeit tartjuk megbízhatóbbnak. A prosztatatarák-specifikus halálozásnál a PSA méréssel akár 20%-on felüli csökkenést is

el lehet érni. Ugyanakkor a „túldiagnosztizálás” lehetősége kétszeres is lehet. A PSA-t sokkal racionálisabban kell használni, és a kezdeti stádiumban óvatos követést kell alkalmazni a megfelelő betegeknél. Mindent összevetve, a kockázatra adaptált PSA-szűrés és diagnosztika, az FDA által jóváhagyott biomarkerek megfelelő használatával együtt a legvalószínűbb forgatókönyv a közeli jövőben. Az új technikák, mint a genomika, proteomika vagy metabolomika, csakúgy, mint az új képalkotó eszközök (multiparaméteres MRI), és az összes paraméter egyidejű használata elsősorban többváltozós modellekben, tovább fokozhatják a prosztaták-diagnosztika pontosságát pár éven belül.

ÖSSZEFOGLALÁS

A PSA-szűrés csökkenti a prosztaták-specifikus halálozást, mint ahogy azt az eddigi legnagyobb szűrési kísérlet, az ERSPC bemutatta. Más szűrési kísérleteknek, és e kísérletek metaanalíziseinek súlyos hibái vannak, így körültekintően kell őket értelmezni. Ugyanakkor a rendszeres szűrések hátrányait, nevezetesen a túldiagnosztizálást és a túlkezelést csökkenteni lehet szelektív stratégiákkal, beleértve az óvatos követést. A legkiegyensúlyozottabb szűrési irányelv, az európai EAU szűrési irányelve az alap PSA-szűrés a 40–45 év közötti férfiaknak ajánlja azért, hogy csökkentse a prosztaták-specifikus halálozást és az előrehaladott, valamint a metasztatizáló prosztaták előfordulását.

A PSA, mint az egyik legszélesebb körben használt tumormarker, erősen korrelál a prosztaták jelenlétének kockázatával. A kockázat már látható 20–30 évre előre, de a PSA-nak komoly korlátai vannak a prosztaták meghatározásában alacsony specificitása miatt. Az FDA által jóváhagyott és jelenleg legjobb szérumparaméter a phi, amely a %fPSA-nál és a PSA-nál is jobb specificitást mutat. A legjobb vizeletmarker a PCA3, amely szintén bizonyította hasznosságát a prosztaták kimutatásában, de korrelációja a daganat agresszivitásával, valamint a magas értékeknél tapasztalt alacsony diagnosztikus érzékenysége miatt további körültekintő vizsgálatok szükségesek. Míg a TMPRSS2:ERG génfúzió felfedezése kutatási mérföldkő volt, a TMPRSS2:ERG vizelet-assay csak PCA3-mal kombinálva használható a prosztaták kimutatásánál. A jövőt illetően új perspektívát kínál a keringő tumorsejtek kimutatása, illetve a mikroRNS-profil vizsgálata, különösen a prognosztika területén (összefoglalóan ld. 1. táblázat).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerző köszöni a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0053 pályázat támogatását, valamint Berta Zsófia gondos segítségét az anyag összeállításában.

1. táblázat. A prosztaták gyógyításában alkalmazott gyakoribb rutin laboratóriumi és kísérleti stádiumban levő markerek (rövidítések magyarázatát ld. a szövegben)

Marker	Diagnosztikus szerepe	Elérhetősége
tPSA	meghatározó jelentőségű	rutin
fPSA	meghatározó jelentőségű	rutin
PSA-sűrűség	ritkán alkalmazzuk	rutin
PSA-sebesség	ritkán alkalmazzuk	rutin
PCA3 (vizelet)	növekvő jelentőségű	speciális rutin
prostataegészség-index	növekvő jelentőségű	speciális rutin
keringő daganatsejtek	növekvő jelentőségű	speciális rutin
mikroRNS	növekvő jelentőségű	kísérleti jellegű
TMPSRS-2	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
PSA-ACT	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
AZMPSA	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
API-PSA	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
cPSA	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
bPSA	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
iPSA	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
szarkozin (szérum, vizelet)	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
glicin	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
caveolin	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
IGF	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
PSP94	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
MGC-1	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
CMM6F	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
spondin-2	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű
kallikrein	a rutinellátásban még nem alkalmazzuk	kísérleti jellegű

IRODALOM

1. Lilja H, Ulmert D, Vickers AJ. Prostate specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring. *Nat Rev Cancer* 8:268–278, 2008
2. Vickers AJ, Ulmert D, Sjoberg 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
3. Balla B, Tóth E, Szendrői A, et al. Biomarkerek a prosztaták kimutatásában, illetve a PCA3 és a szérumban PSA-markerek prosztatarák diagnosztikai hatékonyságának összehasonlító elemzése magyar betegeken. *Magyar Urológia* 25:13–59, 2013
4. Romics I. Prostatatbetegségek. *Magyar Tudomány* 3:330–343, 2006
5. Bordás N, Szalay I, Pajor L, et al. A prosztataspecifikus antigén (PSA) szintet befolyásoló tényezők. *Klin Kís Lab Med* 1:73, 2008
6. Soletormos 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
7. 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
8. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol* 151:1283–1290, 1994
9. 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
10. Stenman UH, Leinonen J, Zhang WM, et al. Prostate-specific antigen. *Semin Cancer Biol* 9:83–93, 1999
11. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 279:1542–1547, 1998
12. Stephan C, Jung K, Lein M, et al. Molecular forms of prostate-specific antigen and human kallikrein 2 as promising tools for early diagnosis of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:1133–1147, 2000
13. 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
14. 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
15. Nurmikko P, Vaisanen V, Piironen T, et al. Production and characterization of novel anti-prostate-specific antigen (PSA) monoclonal antibodies that do not detect internally cleaved Lys145-Lys146 inactive PSA. *Clin Chem* 46:1610–1618, 2000
16. 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
17. Catalona WJ, Partin AW, Sanda MG, et al. A multicenter study of (-2) pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *J Urol* 185:1650–1655, 2011
18. Stephan C, Vincendeau S, Houlgate A, et al. Multicenter evaluation of (-2) proprostate-specific antigen and the prostate health index for detecting prostate cancer. *Clin Chem* 59:306–314, 2013
19. Lazzeri M, Haese A, de la Taille A, et al. Serum isoform (-2)proPSA derivatives significantly improve prediction of prostate cancer at initial biopsy in a total PSA range of 2–10 ng/ml: a multicentric European study. *Eur Urol* 63:986–994, 2013
20. Sokoll LJ, Sanda MG, Feng Z, et al. A prospective, multicenter, National Cancer Institute Early Detection Research Network study of (-2) proPSA: improving prostate cancer detection and correlating with cancer aggressiveness. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 19:1193–1200, 2010
21. Filella X, Gimenez N. Evaluation of (-2) proPSA and Prostate Health Index (phi) for the detection of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 51:729–739, 2013
22. Lucarelli G, Rutigliano M, Bettocchi C, et al. Spondin-2, a secreted extracellular matrix protein, is a novel diagnostic biomarker for prostate cancer. *J Urol* 190:2271–2277, 2013
23. Koutros S, Meyer TE, Fox SD, et al. Prospective evaluation of serum sarcosine and risk of prostate cancer in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial. *Carcinogenesis* 34:2281–2285, 2013
24. de Vogel S, Ulvik A, Meyer K, et al. Sarcosine and other metabolites along the choline oxidation pathway in relation to prostate cancer – a large nested case-control study within the JANUS cohort in Norway. *Int J Cancer* 134:197–206, 2014
25. Stephan C, Rittenhouse H, Cammann H, et al. New markers and multivariate models for prostate cancer detection. *Anticancer Res* 29:2589–2600, 2009
26. Balan V, Wang Y, Nangia-Makker P, et al. Galectin-3: a possible complementary marker to the PSA blood test. *Oncotarget* 4:542–549, 2013
27. Yousef GM, Diamandis EP. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev* 22:184–204, 2001
28. Stephan C, Jung K, Lein M, et al. PSA and other tissue kallikreins for prostate cancer detection. *Eur J Cancer* 43:1918–1926, 2007
29. 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
30. Filella X, Foj L, Mila M, et al. PCA3 in the detection and management of early prostate cancer. *Tumour Biol* 34:1337–1347, 2013
31. Haese A, de la Taille A, Van Poppel H, et al. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 54:1081–1088, 2008
32. Deras IL, Aubin SM, Blase A, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol* 179:1587–1592, 2008
33. Chun FK, de la Taille A, Van Poppel H, et al. Prostate cancer gene 3 (PCA3): development and internal validation of a novel biopsy nomogram. *Eur Urol* 56:659–668, 2009
34. 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
35. Esgueva R, Perner S, LaFargue J, et al. Prevalence of TMPRSS2-ERG and SLC45A3-ERG gene fusions in a large prostatectomy cohort. *Mod Pathol* 23:539–546, 2010
36. Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature* 457:910–914, 2009
37. Jentzmik F, Stephan C, Miller K, et al. Sarcosine in urine after digital rectal examination fails as a marker in prostate cancer detection and identification of aggressive tumours. *Eur Urol* 58:12–18, 2010
38. Truong M, Yang B, Jarrard DF. Toward the detection of prostate cancer in urine: a critical analysis. *J Urol* 189:422–429, 2013
39. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 136:215–233, 2009
40. Khella HW, Bakhet M, Lichner Z, et al. MicroRNAs in kidney disease: an emerging understanding. *Am J Kidney Dis* 61:798–808, 2013

41. Fendler A, Jung M, Stephan C, et al. miRNAs can predict prostate cancer biochemical relapse and are involved in tumor progression. *Int J Oncol* 39:1183–1192, 2011
42. Leite KR, Tomiyama A, Reis ST, et al. MicroRNA expression profiles in the progression of prostate cancer – from high-grade prostate intraepithelial neoplasia to metastasis. *Urol Oncol* 31:796–801, 2013
43. Schaefer A, Stephan C, Busch J, et al. Diagnostic, prognostic and therapeutic implications of microRNAs in urologic tumors. *Nat Rev Urol* 7:286–297, 2010
44. Fendler A, Stephan C, Yousef GM, et al. MicroRNAs as regulators of signal transduction in urological tumors. *Clin Chem* 57:954–968, 2011
45. Kong D, Banerjee S, Ahmad A, et al. Epithelial to mesenchymal transition is mechanistically linked with stem cell signatures in prostate cancer cells. *PLoS One* 5:e12445, 2010
46. Tucci P, Agostini M, Grespi F, et al. Loss of p63 and its microRNA-205 target results in enhanced cell migration and metastasis in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:15312–15317, 2012
47. Salzman DW, Weidhaas JB. SNPing cancer in the bud: microRNA and microRNA-target site polymorphisms as diagnostic and prognostic biomarkers in cancer. *Pharmacol Ther* 137:55–63, 2013
48. Agalliu I, Wang Z, Wang T, et al. Characterization of SNPs associated with prostate cancer in men of Ashkenazic descent from the set of GWAS identified SNPs: impact of cancer family history and cumulative SNP risk prediction. *PLoS One* 8:e60083, 2013
49. Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, et al. MicroRNAs in body fluids – the mix of hormones and biomarkers. *Nat Rev Clin Oncol* 8:467–477, 2011
50. Volinia S, Calin GA, Liu CG, et al. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:2257–2261, 2006
51. Dotan E, Cohen SJ, Alpaugh KR, et al. Circulating tumor cells: evolving evidence and future challenges. *The Oncologist* 14:1070–1082, 2009
52. Italiano A. Prognostic or predictive? It's time to get back to definitions! *J Clin Oncol* 29:4718–4718, 2011
53. 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
54. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 360:1320–1328, 2009
55. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J Med* 366:981–990, 2012
56. Roobol MJ, Kerkhof M, Schroder FH, et al. Prostate cancer mortality reduction by prostate-specific antigen-based screening adjusted for nonattendance and contamination in the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Eur Urol* 56:584–591, 2009
57. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL, 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
58. Pinsky PF, Blacka A, Kramer BS, et al. Assessing contamination and compliance in the prostate component of the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial. *Clin Trials* 7:303–311, 2010
59. Schroder FH, Roobol MJ. ERSPC and PLCO prostate cancer screening studies: what are the differences? *Eur Urol* 58:46–52, 2010
60. Schroder FH, Hugosson J, Carlsson S, et al. Screening for prostate cancer decreases the risk of developing metastatic disease: findings from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Eur Urol* 62:745–752, 2012
61. D'Amico AV. Prostate-cancer mortality after PSA screening. *N Engl J Med* 366:2228–2231, 2012
62. Djulbegovic M, Beyth RJ, Neuberger MM, et al. Screening for prostate cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 341:c4543, 2010
63. Postma R, Schroder FH, van Leenders GJ, et al. Cancer detection and cancer characteristics in the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC)–Section Rotterdam. A comparison of two rounds of screening. *Eur Urol* 52:89–97, 2007
64. Klotz L. Active surveillance: patient selection. *Curr Opin Urol* 23:239–244, 2013
65. Dall'Era MA, Albertsen PC, Bangma C, et al. Active surveillance for prostate cancer: a systematic review of the literature. *Eur Urol* 62:976–983, 2012
66. Mitsuzuka K, Narita S, Koie T, et al. Pathological and biochemical outcomes after radical prostatectomy in men with low-risk prostate cancer meeting the Prostate Cancer International: Active Surveillance criteria. *BJU Int* 111:914–920, 2013
67. Beauval JB, Ploussard G, Soulie M, et al. Pathologic findings in radical prostatectomy specimens from patients eligible for active surveillance with highly selective criteria: a multicenter study. *Urology* 80:656–660, 2012
68. Trpkov K, Yilmaz A, Bismar TA, et al. 'Insignificant' prostate cancer on prostatectomy and cysto-prostatectomy: variation on a theme 'low-volume/low-grade' prostate cancer? *BJU Int* 106:304–315, 2010
69. Chou R, Crosswell JM, Dana T, et al. Screening for prostate cancer: a review of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 155:762–771, 2011
70. Ilic D, Neuberger MM, Djulbegovic M, et al. Screening for prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 1:CD004720, 2013
71. 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
72. Kwiatkowski M, Klotz L, Hugosson J, et al. Comment on the US Preventive Services Task Force's draft recommendation on screening for prostate cancer. *Eur Urol* 61:851–854, 2012
73. Zhu X, Albertsen PC, Andriole GL, et al. Risk-based prostate cancer screening. *Eur Urol* 61:652–661, 2012
74. Carter HB, Albertsen PC, Barry MJ, et al. Early Detection of Prostate Cancer: AUA Guideline. *J Urol* 190:419–426, 2013
75. Heidenreich A, Abrahamsson PA, Artibani W, et al. Early detection of prostate cancer: European Association of Urology recommendation. *Eur Urol* 64:347–354, 2013
76. Catalona WJ, D'Amico AV, Fitzgibbons WF, et al. What the U.S. Preventive Services Task Force missed in its prostate cancer screening recommendation. *Ann Intern Med* 157:137–138, 2012