

# Současné klinické využití markerů karcinomu prostaty

Štěpán Veselý

Urologická klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha

Významné pokroky v poznání biologie karcinomu prostaty s sebou přinesly také rychlý vývoj moderních diagnostických testů. V poslední době byla navržena celá řada nových markerů karcinomu prostaty. Nicméně, s přihlédnutím k současným trendům léčby karcinomu prostaty je zřejmé, že je potřeba spolehlivého markeru, který bude umět rozlišovat nejen maligní a benigní onemocnění prostaty, ale hlavně indolentní a agresivní nádor. Tento článek přináší přehled jak již etablovaných markerů, tak markerů nových a slibných. Některé z nich mají jistě potenciál zlepšit diagnostiku karcinomu prostaty a umožnit určení rizika onemocnění v běžné klinické praxi.

**Klíčová slova:** karcinom prostaty, molekulární markery, biomarkery, určení rizikovitosti.

## Current clinical utility of prostate cancer markers

Significant advances in understanding of prostate cancer biology induce a rapid development of modern diagnostic tests. Several novel biomarkers have been recently introduced. However, with regard to current tendencies in the treatment of prostate cancer there is a need for reliable marker discriminating not only between malignant and benign prostatic disease but mainly between indolent and aggressive cancer. The following article presents an overview of both established and new promising markers of prostate cancer. Some of novel biomarkers carry the potential to improve prostate cancer diagnostics and to enable risk stratification in clinical practice.

**Key words:** prostate cancer, molecular markers, biomarkers, risk stratification.

## Úvod

Chirurg londýnské nemocnice J. Adams publikoval v roce 1853 v časopise Lancet první případ histologicky potvrzeného karcinomu prostaty a psal o něm jako o velmi vzácném onemocnění (1). Paradoxně o 160 let později představuje v západních zemích karcinom prostaty u mužů kromě kožních nádorů nejčastěji diagnostikované nádorové onemocnění a druhou nejčastější příčinou úmrtí na nádorové onemocnění. V Evropě je odhadován roční počet nově diagnostikovaných karcinomů prostaty na neuvěřitelných 2,6 milionů (2). Incidence rostla ročně přibližně o 2–3 % a za posledních 15 let se počet nahlášených nemocných ztrojnásobil (3). Za tímto trendem stály především pokroky v detekci časných stadií karcinomu prostaty s využitím markerů – zejména prostatického specifického antigenu (PSA).

Důsledkem používání PSA pro screening a časnou detekci karcinomu prostaty je sice dle některých studií pokles nádorově specifického úmrtí a progresu do metastáz, avšak za cenu obrovského nárůstu případů indolentního nízkorizikového karcinomu (4, 5). Dochází tak evidentně k diagnostice a léčbě nádorového onemocnění, které má často jen malou šanci významně ohrozit pacientovo zdraví, nehledě na konsekvence společenské a ekonomické. Z toho je zřejmá jasná potřeba intenzivního hledání markeru použitelného nejen k časně detekci karcinomu prostaty, ale především k určení jeho rizikovitosti neboli tzv. klinické významnosti. Dle současného doporučení Evropské urologické asociace (EAU) existuje celá řada ověřených léčebných modalit pro primární léčbu karcinomu prostaty včetně možnosti

„aktivního sledování“ nízkorizikových pacientů (6). Onkomarker určující maligní potenciál karcinomu prostaty by tak jistě hrál stěžejní roli nejen v samotné diagnostice, ale také ve složitém procesu rozhodování o vhodné léčebné strategii a v monitoraci její úspěšnosti.

PSA samotný není nádorově specifický a jeho schopnost rozlišit indolentní a agresivní karcinom prostaty je slabá. V posledních letech byla navržena celá řada nových markerů karcinomu prostaty detekovatelných v krvi, moči a tkáni prostaty. Některé již byly uvedeny do klinické praxe, zatímco ostatní procházejí testováním své prediktivní síly v multi-variálních modelech či dokonce validací na nezávislých populacích. V tomto přehledovém článku jsou uvedeny markery karcinomu prostaty, které jsou již používány v klinické praxi nebo se tomuto použití v budoucnu pravděpodobně blíží.

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

doc. MUDr. Štěpán Veselý, Ph.D., [Stepan.Vesely@fnmotol.cz](mailto:Stepan.Vesely@fnmotol.cz)

Urologická klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Cit. zkr: Onkologie 2019; 13(2): 78–82

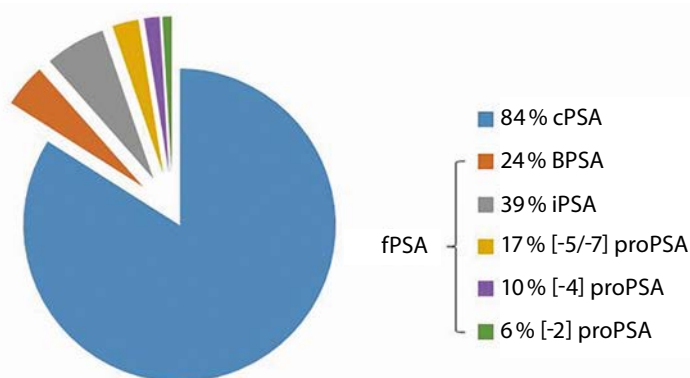
Článek přijat redakcí: 19. 2. 2019

Článek přijat k publikaci: 7. 3. 2019

**Tab. 1.** Charakteristika prognostických tkáňových markerů karcinomu prostaty

Marker	Panel genů	Veličina	Vzorek tkáně	Predikce	Pacienti	Indikace	Reference
Oncotype Dx	17	GP score (genomic prostate score)	Biopsie RP	BCR, MFS, nepříznivá patologie po RP	Nízké riziko	AS	35, 36
Prolaris	31	CCP score (cell cycle progression score)	Biopsie RP	BCR, MFS, DSS	Nízké riziko	AS	37, 38
Decipher	22	GC score (genomic classifier score)	RP	BCR, MFS, DSS	Vysoké riziko	RT po RP	39, 40

RP – radikální prostatektomie; RT – radioterapie; BCR – biochemická recidiva; MFS – přežití bez metastáz; DSS – nádorově specifické přežití; AS – aktivní sledování

**Obr. 1.** PSA a jeho izoformy

## Izoformy PSA

PSA je proteáza produkovaná epitelovými buňkami prostaty. PSA štěpí gel formující proteiny semenné tekutiny tak aby si zachovala tekutou formu a podpořila motilitu spermií, a tím usnadnila proces fertilizace. PSA je díky strukturální podobnosti (ale ne funkci) třetím v rodině kallikreinů (hK). Teprve v roce 1997 byla ve tkáni prostaty a v séru identifikována prekursorová forma proPSA. Následně bylo prokázáno, že molekula proPSA je extracelulárně aktivována pomocí hK2 na aktivní formu PSA. PSA a hK2 se dostávají ve vysoké koncentraci do prostatického sekretu, následně do seminální tekutiny a v malé koncentraci pak i do krve. PSA existuje v séru predominantně v komplexu s inhibitorem proteázy alfa-1-antichymotrypsinem, zatímco pouze 10–30 % je ve formě volného PSA (fPSA) (obrázek 1). Volné PSA se skládá z prekursorů PSA (proPSA), multiřetězcové neboli nicked PSA (BPSA) a intaktní PSA (iPSA).

## Klinické použití PSA

Při poškození struktury buněk prostaty PSA proniká do krve ve vyšší míře a může tak upozornit na patologický proces v prostatě. Zvýšená hodnota PSA se tak dá zjistit nejen při nádorovém postižení, ale i při infekci močových cest či

benigní hyperplazii. Vyšší hodnoty byly popsány také při močové retenci nebo po cystoskopickém vyšetření. Naopak často udávaný vliv jízdy na kole, ejakulace či per rektum vyšetření na hladinu sérového PSA je sporný (7). Sérová koncentrace PSA je tedy kontinuální veličina, kde vyšší hodnoty indikují větší riziko přítomnosti karcinomu prostaty, nicméně neexistuje všeobecný konsensus hraniční hodnoty PSA, jako jasné indikace k biopsii. Dlouhodobě užívaný limit PSA 4 ng/ml byl opuštěn, když se prokázalo, že až 25 % pacientů s diagnostikovaným karcinomem prostaty má PSA pod touto hranicí (8). Vyšší procentuální zastoupení volného PSA (nad 25 %) snižuje pravděpodobnost přítomnosti karcinomu prostaty a tento doplňkový test je doporučen u pacientů s rozmezím PSA hodnot 4–10 ng/ml (9). Výpočet změny hladiny PSA v čase (PSA velocita, PSA zdvojeňovací čas) nezlepšil přesvědčivě specifitu konvenčního PSA testu (10). Důvodem může být vysoká biologická a analytická variabilita při interpretaci kalkulovalých parametrů (11). Naopak PSA denzita, vyjádřená jako hodnota PSA dělená objemem prostaty stanoveným ultrazvukem či magnetickou rezonancí, může zpřesnit detekci klinicky významného karcinomu prostaty (12, 13). Hraniční hodnoty pro rutinní klinické používání však zatím stanoveny nebyly.

Dle současného doporučení EAU by měl být test PSA nabídnut informovanému muži staršímu 50 let (u mužů s rodinnou anamnézou či Afroameričanů o pět let dříve) s ohledem na jeho celkový zdravotní stav. U asymptomatických mužů s PSA v rozmezí 2 až 10 ng/ml lze potvrdit podezření na přítomnost karcinomu prostaty použitím nomogramů, doplňkových onkomarkerových testů séra či moči (PHI, 4K, PCA3, DLX1-HOXC6) nebo multiparametrickou magnetickou rezonancí (6).

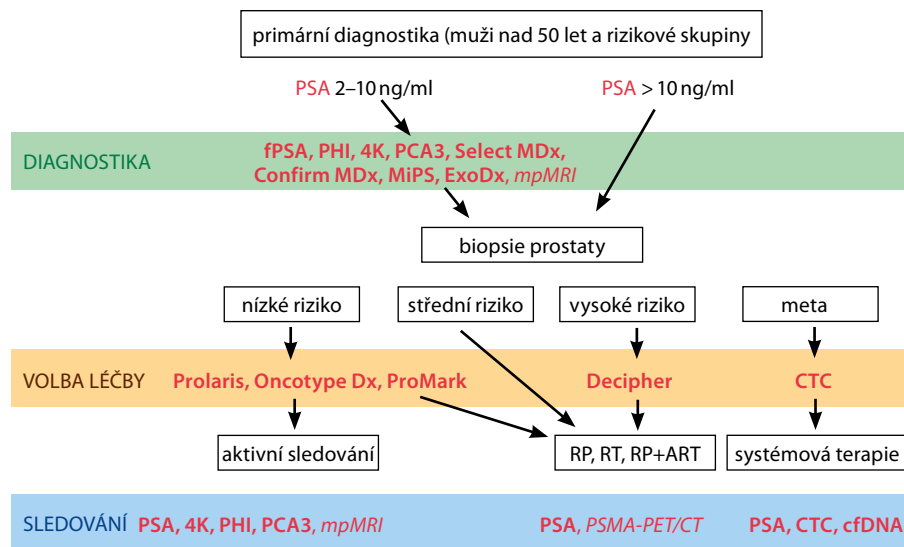
## PHI

Je málo pravděpodobné, že některá z nových forem PSA či jiný nově definovaný marker by samotný zásadně přispěl ke zlepšení diagnostiky. Budoucnost pravděpodobně tkví v kombinaci řady markerů a tvorbě diagnostických panelů. Prekursor PSA (proPSA) je jednou z identifikovaných forem volného PSA a nachází se v séru ve čtyřech izoformách [-2]proPSA, [-4]proPSA, [-5]proPSA a [-7]proPSA nazvaných podle počtu aminokyselin v úvodní peptidové sekvenci (14). Aminokyseliny izoformou proPSA jsou štěpeny enzymem hK2 a tím se mění na aktivní PSA. Z histologických studií a analýzou sekvencí aminokyselin purifikovaného PSA vyplynulo, že [-2]proPSA je predominantně exprimováno v periferní zóně (specifické pro karcinom prostaty) (15, 16). V souhlasu s tímto nálezem byl [-2]proPSA následně zjištěn ve vyšší koncentraci u pacientů s karcinomem prostaty (17). Americká firma Beckman Coulter uvedla derivát [-2]proPSA zvaný Prostate Health Index (PHI) definovaný poměrem [-2]proPSA a fPSA násobeného odmocninou celkového PSA. PHI prokázal v řadě studií silnou afinitu ke karcinomu prostaty s významným zlepšením jeho detekce (18, 19). Některé studie dokonce popsaly slibnou korelaci mezi PHI a agresivitou karcinomu prostaty (20). Již v roce 2012 bylo klinické používání [-2]proPSA a PHI schváleno americkým úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA). V současnosti je používání těchto nových markerů schváleno ve více než 50 zemích. Vzhledem k nedostatku dat však není zatím doporučeno používat [-2]proPSA a PHI v rámci screeningových programů.

## 4K

Vickers a Lilja vytvořili jiný diagnostický model predikce výsledku biopsie založený na kombinaci věku, per rectum nálezu a panelu čtyř kallikrei-

**Obr. 2.** Možnosti využití markerů karcinomu prostaty v diagnostice, volbě léčby a sledování



nových markerů – celkového PSA, volného PSA, intaktního PSA a hK2. Na obrovském souboru dříve nevyšetřených mužů zjistili, že na každých 1 000 mužů se zjištěným vyšším PSA během screeningu připadá redukce biopsií o 573 případů, přičemž pouze 71 karcinomů by zůstalo nedagnostikovaných (21). Tyto výsledky byly o několik let později potvrzeny na nezávislém souboru 40 379 pacientů (22). Současné doporučení EAU zmiňuje 4K skóre jako potenciální doplňující marker zlepšující senzitivitu i specifitu samotného PSA, čímž může přispět k redukci zbytečných biopsií (6). Nicméně NCCN panel poznamenává, že ještě nebyly validovány cut-off hodnoty pro standardizované klinické použití (23).

## PCA3

Progensis prostate cancer gene 3 (PCA3) se opírá o detekci nekódujících segmentů mRNA 9. chromozomu z moči po masáži prostaty. Konkrétně se měří tzv. PCA3 skóre, což je poměr PCA3 mRNA molekul versus PSA mRNA molekul, přičemž skóre pod 25 znamená nízké riziko přítomnosti karcinomu (24). Někteří autoři však poukazují na vztah hraniční hodnoty a indikace PCA3 testu. Pro použití u primobiopsie by hodnota měla být 60, ale při použití u rebiopsie pouze 20 (25). Kromě poměrně silné predikce přítomnosti karcinomu prostaty v rebiopsiích byla prokázána také nezávislost PCA3 na PSA, věku a objemu prostaty (26). PCA3 byl také popsán jako významný prediktor progresu karcinomu prostaty u pacientů v režimu aktivního sledování (27). FDA schválila používání PCA3 u pacientů před rebiopsií prostaty již v roce 2012. Současné EAU Guidelines a panel NCCN

doporučují použití PCA3 před biopsií, avšak nedoporučují použití k monitoraci pacientů v režimu aktivního sledování (6, 23). Ještě silnější diagnostický potenciál by měla mít kombinace PCA3, TMPRSS2-ERG fúzního genu a PSA neboli Mi-Prostate score (MiPS), což je algoritmus v současnosti pouze ve stadiu výzkumu (28).

## SelectMDx

Tento PCR test určuje podobně jako PCA3 test hladinu mRNA v panelu dvou genů (DLX1 a HOXC6) v moči získané po masáži prostaty. Výsledky se kombinují s tradičními rizikovými faktory (PSA, věk, počet biopsií a rodinná zátěž). Nedávno publikované studie naznačují, že Select MDx by mohl snížit procento zbytečných biopsií až na polovinu (29, 30). EAU doporučuje použití jako doplňkového markeru k PSA zatímco NCCN vede tento marker stále jako výzkumný (6, 23).

## ExoDx

Exozómy jsou malé membranózní vezikuly obsahující cytoplazmu s proteiny a mRNA buněk, které je secernují. Nedávno představený kit pro detekci močové mRNA exozomálního genu (ExoDx) prokázal zlepšení detekce vysoce rizikových karcinomů prostaty (31). Výhodou tohoto testu je, že nevyžaduje před odběrem moči masáž prostaty. Metoda je zatím ve stadiu výzkumu.

## ConfirmMDx

ConfirmMDx je komerčně vyráběný onko-markerový test, který se snaží detekovat přítomnost nádorového onemocnění na úrovni DNA. Epigenetické alterace jsou u nádorových procesů

pozorovány často. Mezi nimi je poměrně častá hypermetylace DNA, která může významně měnit biologii buňky (32). Tyto patologické změny DNA lze zaznamenat i v morfologicky nezměněných buňkách prostatické tkáně, hodnocené patologem jako „negativní biopsie“. Klinické studie s cílem identifikace prostat bez nádoru před provedením rebiopsie dosahovaly negativní prediktivní hodnoty až 90 % (33, 34). Zatímco NCCN panel schvaluje použití ConfirmMDx před opakováním biopsie, EAU tento test pro nedostatek důkazů zatím nedoporučuje (6, 23).

## Prognostické tkáňové markery

Panely genetických markerů se ukázaly být přesnější v predikci chování onemocnění a určení malignity karcinomu prostaty než detekce jednotlivých genetických abnormalit. Se znalostí ověřených karcinogenních mechanismů byly vybírány především geny androgenního metabolismu, buněčného cyklu a proliferace. Například u testu Oncotype bylo finálních 17 genů vybíráno z poolu 732 kandidátních genů (35). Charakteristiky aktuálně používaných komerčních RNA testů využívajících metodu kvantitativní PCR analýzy jsou uvedeny v tabulce 1.

Je zajímavé, že analyzované geny se v panelech jednotlivých testů neopakuje, tudíž je nezávisle analyzováno 70 genů. Jiný tkáňový marker (užívaný k identifikaci pacientů vhodných k aktivnímu sledování) ProMark analyzuje expresi osmi proteinů pomocí fluorescentní in situ hybridizace (6). Materiálem vhodným k analýze jsou jakékoliv vzorky tkáně prostaty, u biopsií je možná analýza i z parafinem konzervovaných vzorků. Nevýhodou testů je poměrně vysoká cena (přibližně 3500 USD). Žádný z testů nebyl zatím ověřen v prospektivní randomizované studii. V klinickém hodnocení testu Polaris popsali Crawford změnu léčebné strategie až u 60 % pacientů s celkovou redukcí intervencí u nízkorizikového karcinomu prostaty 37,2 % (49,5 % radikální prostatektomie a 29,6 % radioterapie) (41). Je třeba dodat, že dlouhodobé výsledky po této intervenci nejsou zatím k dispozici. Žádný z výše uvedených genetických testů není v současnosti doporučen EAU k rutinnímu používání.

## Cirkulující nádorové buňky a „liquid biopsies“

Periferní krev, jako potenciální zdroj informací o genetické charakteristice tumoru, je atraktivní

variantou neinvazivní diagnostiky, která je v literatuře popisovaná termínem „liquid biopsies“. Jedná se o analýzu vlastních nádorových buněk, které vstoupily do oběhu (cirkulující nádorové buňky – CTC) nebo přímo malých fragmentů nukleových kyselin mimo kontakt s vlastními buňkami (cell-free DNA – cfDNA). Není zcela jasné, jak se tyto DNA fragmenty z buněk uvolňují, nicméně lze analyzovat jejich mutace, polymorfismy, metylace a DNA integritu. V několika studiích bylo demonstrováno, že genomické alterace detekovatelné pomocí cfDNA korelují s účinností abirateronu a enzalutamidu u pacientů s metastatickým karcinomem prostaty (42, 43, 44).

Počet CTC v periferní krvi je velice malý a existuje řada metod k jejich detekci, což komplikuje srovnání dostupných výsledků. Bylo prokázáno, že množství CTC je závislé na stadiu onemocnění a má jistou prognostickou hodnotu, ale pouze u metastatického karcinomu prostaty (45). Navíc bylo zjištěno, že pokles počtu CTC či změna jejich charakteristik po zahájení terapie docetaxelem nebo abirateronem může predikovat efekt léčby přesněji než konvenční pokles PSA o 50 % (46, 47). V poslední době byl zkoumán vliv exprese splice varianty 7 androgenního receptoru (AR-V7) detekovaného na CTC na účinnost léků druhé generace (abirateron, enzalutamid), avšak výsledky studií jsou rozporuplné (48, 49). Rozuzlení snad přinese klinická studie fáze III (NCT02438007), která se zabývá účinkem galeteronu – účinného antiandrogenu, který inhibuje AR-V7 (50). Toto je pravděpodobně jediná klinická studie fáze III, jejímž vstupním kritériem je exprese konkrétního onkomarkeru (v tomto případě AR-V7).

## Sledování po operační či radiační léčbě

Sledování pacientů po primární léčbě karcinomu prostaty je důležité pro eventuální časné zachycení recidivy onemocnění, což nám dává možnost nasadit sekundární terapii, která pokud je správně indikována, tak může mít stále kurativní účinek. Po úspěšné radikální prostatektomii klesá PSA na nedetekovatelnou hladinu, což dle většiny

konvenčních esejí znamená pod 0,1 ng/ml. Tato hladina je běžně dosažena během 6–8 týdnů po operaci. Přibližně u 35 % pacientů se během dalších 10 let objeví elevace PSA, která může znamenat progresi onemocnění – tzv. biochemická recidiva (BCR). Nejčastěji citovaná definice BCR po RP odpovídá PSA hodnotě 0,2 ng/ml a EAU doporučuje jedno následné potvrzení této hodnoty jako dostatečný impuls k zahájení sekundární terapie (6). Po radioterapii se jako BCR považuje vzestup PSA o 2 ng/ml nad nejnižší hodnotu PSA po léčbě. Kratší zdvojeovací čas PSA než 3 měsíce může znamenat vyšší riziko vzniku metastáz a nádorově specifického úmrtí (51).

Většina pacientů dosáhne BCR během prvních tří let po primární léčbě a následně toto riziko klesá (52). Z tohoto důvodu se doporučuje intenzivní režim sledování během prvních let po operaci a volnější režim posléze. Odběr PSA a klinické vyšetření včetně per rectum palpce jsou doporučeny provádět ve 3., 6. a 12. pooperačním měsíci, následně každých 6 měsíců do tří let od operace a následně pak jednou do roka (6). Sledování by mělo pokračovat dlouhodobě, jelikož bylo demonstrováno, že roční riziko vzniku BCR nikdy nedosáhne nuly (53). Dle stavu pacienta a charakteru nádoru lze doporučovaný sledovací postup individuálně modifikovat. Pro rizikové pacienty byla navržena přísnější definice BCR (PSA  $\geq$  0,05 ng/ml) (54). Na základě studia dynamiky PSA velmi časně po operaci byly navrženy stratifikační modely pro přesnější identifikaci kandidátů na sekundární terapii (55). Nicméně jasná pravidla úpravy sledovacího protokolu ve vztahu k přítomnosti nepříznivých klinicko-patologických známek zatím neexistují.

## Sledování po farmakologické léčbě

U pacientů léčených systémovou terapií představuje rychlost poklesu PSA a hodnota celkového PSA po ukončení léčby vhodný ukazatel její účinnosti (56). Hypotéza předpokládá, že pokles PSA je důsledkem léčbou indukované buněčné smrti nádorových buněk. S vědomím toho, že krátko-

dobé poklesy v PSA mohou být také jednoduše reakcí na léčebnou látku a ne přímým ukazatelem buněčného růstu nebo přežití, doporučuje se nespolehat pouze na jednu hodnotu PSA, ale měření v co nejdelším časovém intervalu opakovat. Pro různé druhy léků budou jistě existovat jiná kritéria hodnocení poklesu PSA jako úspěchu léčby. Například léky, u kterých není předpoklad přímého zničení nádorových buněk (jako třeba imunoterapeutika), nezpůsobují pokles PSA, přesto byl popsán pozitivní efekt na dlouhodobé přežití (57). Zcela zásadním posunem by pak byla již výše zmíněná možnost monitorace úspěchu systémové léčby pomocí analýzy CTC a cfDNA.

## Závěry

Nové molekulární markery pravděpodobně umožňují přesnější diagnostiku klinicky významného karcinomu prostaty. Dají se využít také při volbě správné terapeutické modality a při sledování její účinnosti (obrázek 2). Nicméně u nově zaváděných onkomarkerů je třeba testovat nejen jejich efektivitu, ale také vliv na klinické rozhodování a ekonomiku. Je potřeba více kvalitních důkazů k zodpovězení otázek, zda klinická aplikace inovativních onkomarkerů dokáže efektivně snížit počet zbytečných biopsií či terapeutických intervencí a tím i nákladů na zdravotní péči, přičemž nevznikne riziko progresu nediagnostikovaných či neléčených karcinomů prostaty. Nesmíme také zapomínat na zásadní pokroky posledních let v zobrazovací diagnostice karcinomu prostaty s využitím multiparametrické magnetické rezonance (mpMRI) či prostatické specifického membránového antigenu (PSMA-PET/CT). Tyto poznatky spolu s inovativními molekulárními markery a dokonalejším porozuměním histopatologických změn karcinomu prostaty je nutné rozumně využívat komplementárním způsobem v predikčních nomogramech. Jen takovým způsobem lze docílit efektivní diagnostiky karcinomu prostaty s přesným určením rozsahu a agresivity onemocnění. Takové informace pak budou podkladem individuálního přístupu k jednotlivým pacientům, což je bezesporu cílem moderní medicíny.

## LITERATURA

1. Adams J. The case of scirrhus of the prostate gland with corresponding affliction of the lymphatic glands in the lumbar region and in the pelvis. *Lancet* 1853; 1: 393.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics 2016. *Cancer J Clin.* 2016; 66: 7–30.
3. 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* 2016; 138: 1388–400.

4. Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of followup. *Lancet* 2014; 384: 2027–2035.
5. 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 followup. *J Natl Cancer Inst.* 2012; 104: 125–132.

6. Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, et al. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur Urol.* 2017; 71(4): 618–629.



7. Crawford ED, Schutz MJ, Clejan S, et al. The effect of digital rectal examination on prostate-specific antigen levels. *JAMA* 1992; 267(16): 2227–8.
8. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level  $< 4.0$  ng per milliliter. *N Engl J Med*. 2004; 350: 2239–2246.
9. 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* 1998; 279: 1542–7.
10. Vickers AJ, Savage C, O'Brien MF, et al. Systematic review of pretreatment prostate-specific antigen velocity and doubling times predictors for prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 398–403.
11. 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*. 2005; 51: 1342–51.
12. Bhat NR, Vetter JM, Andriole GL, et al. Magnetic Resonance Imaging-Defined Prostate-Specific Antigen Density Significantly Improves the Risk Prediction for Clinically Significant Prostate Cancer on Biopsy. *Urology* 2018; 118: 1324–8.
13. Nordström T, Akre O, Aly M, et al. Prostate-specific antigen (PSA) density in the diagnostic algorithm of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2018; 21(1): 57–63.
14. Le BV, Griffin CR, Loeb S, et al. [-2] Proenzyme prostate specific antigen is more accurate than total and free prostate specific antigen in differentiating prostate cancer from benign disease in a prospective prostate cancer screening study. *J Urol*. 2010; 183: 1355–59.
15. Mikolajczyk SD, Rittenhouse HG. Pro PSA: a more cancer specific form of prostate specific antigen for the early detection of prostate cancer. *Keio J Med*. 2003; 52: 86–91.
16. Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, et al. A precursor form of prostate-specific antigen is more highly elevated in prostate cancer compared with benign transition zone prostate tissue. *Cancer Res*. 2000; 60: 756–9.
17. Mikolajczyk SD, Marks LS, Partin AW, et al. Free prostate-specific antigen in serum is becoming more complex. *Urology* 2002; 59: 797–802.
18. Jansen FH, van Schaik RH, Kurstjens J. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA in combination with total PSA and free PSA improves diagnostic accuracy in prostate cancer detection. *Eur Urol*. 2010; 57: 921–7.
19. Guazzoni G, Nava L, Lazzeri M, et al. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA significantly improves the prediction of prostate cancer at initial extended prostate biopsies in patients with total PSA between 2.0 and 10 ng/ml: results of a prospective study in a clinical setting. *Eur Urol*. 2011; 60: 214–22.
20. Lazzeri M, Haese A, Abrate A, et al. Clinical performance of serum prostate-specific antigen isoform [-2]proPSA (p2PSA) and its derivatives, %p2PSA and the prostate health index (PHI), in men with a family history of prostate cancer: results from a multicentre European study, the PROMethuS project. *BJU Int*. 2013; 112(3): 313–321.
21. Vickers AJ, Cronin AM, Aus G, et al. A panel of kallikrein markers can reduce unnecessary biopsy for prostate cancer: Data from the European Randomized Study of Prostate Cancer Screening in Goteborg, Sweden. *BMC Med*. 2008; 6: 19–24.
22. Stattin P, Vickers AJ, Sjöberg 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*. 2015; 68(2): 207–213.
23. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, 2017. Prostate Cancer Early Detection. Version 1.2018 – 14 February 2018. Dostupné z: [www.nccn.org](http://www.nccn.org)
24. Crawford ED, Rove KO, Trabulsi EJ, et al. Diagnostic performance of PCA3 to detect prostate cancer in men with increased prostate specific antigen: a prospective study of 1,962 cases. *J Urol*. 2012; 188(5): 1726–31.
25. Wei JT, et al. Can urinary PCA3 supplement PSA in the early detection of prostate cancer? *J Clin Oncol*. 2014; 32(36): 4066–4072.
26. Haese A, et al. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol*. 2008; 54(5): 1081–1088.
27. Ploussard G, et al. Prostate cancer antigen 3 score accurately predicts tumour volume and might help in selecting prostate cancer patients for active surveillance. *Eur Urol*. 2011; 59(3): 422–429.
28. Tomlins SA, et al. Urine TMPRSS2:ERG plus PCA3 for individualized prostate cancer risk assessment. *Eur Urol*. 2016; 70(1): 45–53.
29. Van Neste L, et al. Detection of high-grade prostate cancer using a urinary molecular biomarker-based risk score. *Eur Urol*. 2016; 70(5): 740–748.
30. Hendriks RJ, et al. A urinary biomarker-based risk score correlates with multiparametric MRI for prostate cancer detection. *Prostate* 2017; 77: 1401–1407.
31. McKiernan J, et al. A novel urine exosome gene expression assay to predict high-grade prostate cancer at initial biopsy. *JAMA* 2016; 316(7): 882–889.
32. Chan TA, et al. Convergence of mutation and epigenetic alterations identifies common genes in cancer that predict for poor prognosis. *PLoS Med*. 2008; 5(5): 114–16.
33. Stewart GD, et al. Clinical utility of an epigenetic assay to detect occult prostate cancer in histopathologically negative biopsies: results of the MATLOC study. *J Urol*. 2013; 189(3): 1110–1116.
34. Partin AW, et al. Clinical validation of an epigenetic assay to predict negative histopathological results in repeat prostate biopsies. *J Urol*. 2014; 192(4): 1081–1087.
35. Klein EA, Cooperberg MR, Magi-Galluzzi C, et al. A 17-gene assay to predict prostate cancer aggressiveness in the context of Gleason grade heterogeneity, tumor multifocality, and biopsy undersampling. *Eur Urol*. 2014; 66(3): 550–560.
36. Cullen J, Rosner IL, Brand TC, et al. A biopsy-based 17-gene genomic prostate score predicts recurrence after radical prostatectomy and adverse surgical pathology in a racially diverse population of men with clinically low- and intermediate-risk prostate cancer. *Eur Urol*. 2014; 68(1): 123–131.
37. Bishoff JT, Freedland SJ, Gerber L, et al. Prognostic utility of the cell cycle progression score generated from biopsy in men treated with prostatectomy. *J Urol*. 2014; 192(2): 409–414.
38. Punnen S, Freedland SJ, Presti JC, Jr., et al. Multicenter validation of the CAPRA-S score to predict disease recurrence and mortality after radical prostatectomy. *Eur Urol*. 2014; 65(6): 1171–1177.
39. Erho N, Crisan A, Vergara IA, et al. Discovery and validation of a prostate cancer genomic classifier that predicts early metastasis following radical prostatectomy. *PLoS ONE* 2013; 8(6): 115–18.
40. Cooperberg MR, Davicioni E, Crisan A, et al. Combined value of validated clinical and genomic risk stratification tools for predicting prostate cancer mortality in a high-risk prostatectomy cohort. *Eur Urol*. 2015; 67(2): 326–333.
41. Crawford ED, et al. Cell cycle progression score and treatment decisions in prostate cancer: results from an ongoing registry. *Curr Med Res Opin*. 2014; 30(6): 1025–1031.
42. Azad AA, et al. Androgen receptor gene aberrations in circulating cell-free DNA: biomarkers of therapeutic resistance in castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2015; 21(10): 2315–2324.
43. Romanel A, et al. Plasma AR and abiraterone-resistant prostate cancer. *Sci Transl Med*. 2015; 7: 312–16.
44. Wyatt AW, et al. Genomic alterations in cell-free DNA and enzalutamide resistance in castration-resistant prostate cancer. *JAMA Oncol*. 2016; 2(12): 1598–1606.
45. de Bono JS, et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2008; 14(19): 6302–6309.
46. Danila DC, Anand A, Sung CC, et al. TMPRSS2-ERG status in circulating tumor cells as a predictive biomarker of sensitivity in castration-resistant prostate cancer patients treated with abiraterone acetate. *Eur Urol*. 2011; 60(5): 897–904.
47. Okegawa T, Itaya N, Hara H, et al. Circulating tumor cells as a biomarker predictive of sensitivity to docetaxel chemotherapy in patients with castration-resistant prostate cancer. *Anticancer Res*. 2014; 34(11): 6705–6710.
48. Antonarakis ES, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med*. 2014; 371(11): 1028–1038.
49. Bernemann C, et al. Expression of AR-V7 in circulating tumor cells does not preclude response to next generation androgen deprivation therapy in patients with castration resistant prostate cancer. *Eur Urol*. 2017; 71(1): 1–3.
50. Bastos DA, Antonarakis ES. Galeterone for the treatment of advanced prostate cancer: the evidence to date. *Drug Des Devel Ther*. 2016; 10: 2289–2297.
51. Heidenreich A. Identification of high-risk prostate cancer: role of prostate-specific antigen, PSA doubling time, and PSA velocity. *Eur Urol*. 2008; 54: 976–79.
52. Amling CL, Blute ML, Bergstralh EJ, et al. Long-term hazard of progression after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: continued risk of biochemical failure after 5 years. *J Urol*. 2000; 164: 101–5.
53. Zincke H, Oesterling JE, Blute ML, et al. Long-term (15 years) results after radical prostatectomy for clinically localized (stage T2c or lower) prostate cancer. *J Urol*. 1994; 152: 1850–7.
54. Mir MC, Li J, Klink JC, et al. Optimal definition of biochemical recurrence after radical prostatectomy depends on pathologic risk factors: identifying candidates for early salvage therapy. *Eur Urol*. 2014; 66(2): 204–210.
55. Vesely S, Jarolim L, Schmidt M, et al. M. Stratification model based on early postprostatectomy prostate-specific antigen kinetics may help to reduce the risk of overtreatment in candidates for adjuvant radiotherapy. *Scand J Urol*. 2017; 51(2): 114–119.
56. Sasaki T, Sugimura Y. The Importance of Time to Prostate-Specific Antigen (PSA) Nadir after Primary Androgen Deprivation Therapy in Hormone-Naïve Prostate Cancer Patients. *J Clin Med*. 2018; 7(12): 166–169.
57. Pieczonka CM, Telonis D, Mouraviev V, et al. Sipuleucel-T for the Treatment of Patients With Metastatic Castrate-resistant Prostate Cancer: Considerations for Clinical Practice. *Rev Urol*. 2015; 17: 203–210.