

SOUČASNÉ POSTAVENÍ PSA V DIAGNOSTICE KARCINOMU PROSTATY

MUDr. Jiří Klečka, Ph.D. jr., MUDr. Petr Běhounek, doc. MUDr. Milan Hora, Ph.D.

Urologická klinika FN a LF UK, Plzeň

Objev prostatického specifického antigenu (PSA) a jeho zavedení do klinické praxe znamenaly revoluci v detekci a léčbě karcinomu prostaty. Bez ohledu na celkový přínos PSA je kliniky neustále diskutováno jeho postavení jako jediného markeru karcinomu prostaty. Jsou diskutovány pomocné faktory PSA a přínos jeho molekulárních izoform. Prekursorové formy PSA jsou spojeny s přítomností a biologickým chováním karcinomu prostaty. Do budoucna lze předpokládat prudký rozvoj nádorových markerů karcinomu prostaty s využitím malého panelu markerů pro přesnou diagnostiku a sledování pacientů s karcinomem prostaty. Lze předpokládat, že PSA resp. jeho izoformy budou součástí tohoto panelu.

Klíčová slova: karcinom prostaty, PSA (prostatický specifický antigen), nádorový marker.

CURRENT STATUS OF PSA IN DIAGNOSING PROSTATE CANCER

The introduction of prostate-specific antigen has revolutionized the detection and management of patients with prostate cancer. Despite this there was always been a concern among clinicians about the usefulness of total PSA level as a marker for prostate cancer. We discuss the use of calculated variables and molecular forms of PSA. The precursor forms of PSA have been associated with presence and biological behavior of prostate cancer. With recent advances in biotechnology, e.g. high-throughput molecular analyse, many potential blood biomarkers have been identified. Consequently, the future of cancer prognosis might rely on small panels of markers That can accurately predict prostate cancer presence and prognosis. PSA and its isomers will be apart of this panel.

Key words: prostate cancer, PSA (prostatic specific antigen), tumor marker.

Urolog. pro Praxi 2008; 9(4): 187–189

Úvod

Karcinom prostaty (CaP) je v současné době nejčastější malignitou a druhým nejčastějším novotvarem vedoucím ke smrti v mužské populaci. Odhaduje se, že v roce 2007 bylo v USA diagnostikováno 218 890 nových případů CaP a 27 050 mužů na něj zemřelo (19). Objevení celkového PSA a zavedení jeho rutinního stanovení do klinické praxe na konci 80. a začátkem 90. let dvacátého století znamenalo převrat v diagnostice a léčbě karcinomu prostaty. Přestože hlavním úkolem PSA bylo primárně použití pro sledování pacientů po léčbě, jeho užití při včasné detekci, resp. screeningu, vedlo k významnému poklesu metastatických stadií CaP v době stanovení primární diagnózy. Dalším důležitým faktem je průkaz snížení mortality na CaP v Evropě i v USA. PSA je samozřejmě markerem použitelným při stanovení stadia CaP a prognózy pacienta.

PSA jako nádorový marker má svoje limity, protože se nejedná se o „klasický“ nádorový marker, u kterého zvýšené hladiny přímo korelují se stadiem onemocnění a gradingem tumoru. Jinými slovy, PSA je orgánově specifický marker, ale není specifický pro CaP. PSA je produkováno jak benigními epiteliálními buňkami, tak buňkami CaP. Největší produkci PSA se vyznačují epiteliální buňky v přechodné zóně prostaty (TZ). Nádorové buňky mají výrazně nižší produkci PSA než výše zmíněné buňky TZ. Zvýšená hladina PSA u CaP se vysvětluje destrukcí prostatických acinů nádorovým procesem s následným uvolněním antigenu do krevního oběhu (1, 14).

Obvykle se jako dolní hranice normy pro skrínink používá hodnota PSA 4,0 ng/ml, ale 20 % mužů s diagnostikovaným karcinomem prostaty má hodnotu PSA nižší. Pokud se norma pro hranici PSA sníží na 2,5 ng/ml, bude u mužů v rozmezí PSA 2,6–4,0 ng/ml ve 21 % diagnostikován karcinom a půjde v 81 % o klinicky lokalizovaný karcinom (12). Již samotný posun normy na 3,0 ng/ml zlepši detekci karcinomu prostaty o 31 %.

PSA je jeden z velice důležitých předpovědních parametrů užívaný v nomogramech prognózy pacientů – tzv. Partinovy tabulky (29) či Kattanovy nomogramy (20).

Primární představa o korelaci PSA a CaP se za posledních 20 let výrazně změnila a celková hladina PSA je dnes považována především jako marker velikosti prostaty a jejího růstu (27, 30). Na základě tohoto faktu vyvstává potřeba hledat nové biologické markery CaP se schopností rozpoznat indolentní CaP od klinicky signifikantního. Taktéž nové trendy v léčbě CaP jako chemoprevence či genová terapie si vyžadují nové markery pro sledování efektu terapie. Biologickým materiálem pro detekci většiny nádorových markerů CaP byla, je a pravděpodobně bude krev a krevní proteiny. Na základě molekulární analýzy byly v současné době identifikovány molekulární izoformy PSA a další potenciálně využitelné ukazatele.

Možnosti zpřesnění stanovení diagnózy CaP pomocí PSA

Zlepšení specifity PSA je důležitým faktorem pro snížení počtu zbytečných biopsií prostaty u pa-

cientů s elevací PSA na jiném než nádorovém podkladě. Za tímto účelem byly zkoumány a vyvinuty následující nástroje: věkové specifické hladiny PSA, PSA denzita (PSAD), PSA denzita přechodní zóny (PSAD-TZ), PSA velocita (PSAV) a molekulární izoformy PSA.

Věkové a rasově specifické normy PSA

Vychází z předpokladu, že sérová hladina PSA roste s věkem. Snížení normy pro mladší jedince znamená zvýšení senzitivity s možností vyšší detekce CaP u mladších jedinců a na druhé straně zamezí detekci indolentních CaP u starších mužů. Oesterling poukazuje ve své práci na fakt, že norma PSA pro muže mladší 50 let věku by měla být nižší než 2,5 ng/ml, zatímco hranice pro sedmdesátníky je 6,5 ng/ml (28). Jiný pohled na problematiku věkově specifických norem PSA má Etzioni a kolektiv (17), který srovnal detekci CaP při hladině 4,0 ng/ml se skupinou pacientů indikovaných k biopsii na základě věkových norem a zjistil, že detekce CaP ve druhé skupině je výrazně nižší. Stejný pohled na věc má ve své práci Coley, který prokazuje, že pro jakoukoliv hodnotu PSA v intervalu 4–10 ng/ml má starší muž vyšší pravděpodobnost CaP než mladší muž. I když se použitím věkově specifických hodnot zabránilo až 44 % zbytečných biopsií u mužů nad 70 let, ztratilo se až 47 % pacientů s karcinomem prostaty. Z tohoto důvodu je vhodné omezit dolní hranici PSA pro muže od 60 let na 4,0 ng/ml (13).

Pohled na PSA u různých ras je odlišný. Afroameričané mají vyšší hodnoty než stejná skupina bílých a mají i vyšší hodnoty denzity. Proto jsou i průměrné hodnoty PSA u Afroameričanů v době diagnózy vyšší než u bělochů, 14 ng/ml oproti 8 ng/ml. Afroameričané mají časnější PSA relaps po radikální prostatektomii než populace bělochů (31).

PSA denzita

Je definována jako poměr mezi hladinou PSA a objemem prostaty. Tento výpočet vychází z předpokladu, že hladina PSA je přímo závislá na objemu prostatického epitelu – resp. prostaty. Některé práce tuto hypotézu potvrzují a stanovují hranici PSAD pro BPH 0,10–0,15 ng/ml na gram tkáně, zatímco u pacientů s CaP je tento poměr vyšší (3, 4). Jiní autoři však tuto hypotézu nepotvrdili (10, 23).

Hlavním místem produkce PSA u pacientů s BPH je přechodná (TZ) a nikoliv periferní zóna. Z tohoto důvodu byla do praxe zavedena PSA denzita přechodné zóny jako alternativa PSAD. Vychází z faktu, že tranzitorní zóna je nejčastěji zvětšena u mužů s BPH a nikoliv CaP. Názory na využití PSAD-TZ v praxi se však liší v obou pólech. Jedni tvrdí, že PSAD-TZ zvyšuje specifitu PSA (15), jiní autoři tvrdí opak (22). Invazivita rektální sonografie a zvýšené finanční náklady na stanovení PSAD-TZ vedly k tomu, že tento parametr nedoznal širšího užití. Jeho použití je však všeobecně uznáváno při indikaci opakované biopsie.

PSA velocita

PSA velocita (PSAV) je parametr popisující vývoj hladin PSA v čase. Carter a kolektiv poukazuje na lineární pomalý vzestup hodnot u pacientů s BPH (8). Exponenciální vzestup hodnot je pozorován v průměru pět let před zjištěním CaP. U pacientů s hladinou PSA v šedé zóně (4–10 ng/ml) zlepšuje PSAV s cut-off 0,75 ng/ml/rok senzitivitu PSA na 79 % a specifitu na 90 %. V případě hladin PSA menších než 4 ng/ml zůstává senzitivita PSAV na 90 %, avšak specifita klesá na 11 %. První hodnota PSA má vysokou predikční hodnotu pro riziko diagnózy CaP v dalším životě. U mužů s hodnotou PSA pod 2,5 ng/ml při prvním vyšetření je pouze 1–2 % šance diagnózy CaP v následujících čtyřech letech. Při PSA mezi 2,6–4,0 ng/ml je tato šance kolem 13 %. Je-li hodnota PSA pod 2,0 ng/ml, je během následujících 4 let pouze 4 % šance na změnu hodnot PSA do rozmezí 4,1–5,0 ng/ml. Při PSA 2,1–4,0 ng/ml je šance na změnu hladiny PSA do rozmezí 4,0–5,0 ng/ml 27–36 % (7). Hodnocení PSAV musí být obezřetné a je vždy potřeba delší časové období k jeho kvalitnímu vyhodnocení. Za minimum lze považovat minimálně 3 měření v průběhu 2 let. Jedním z největších omezení PSAV je variabilita hladin PSA v závislosti

na čase, biologických a analytických změnách (26). PSAV je vhodný parametr u pacientů, u kterých je hladina PSA v době počátku sledování v rozsahu normálních hodnot a nikoliv v oblasti šedé zóny 4–10 ng/ml.

Molekulární izoformy PSA

PSA jako serinová proteáza cirkuluje v krevním oběhu ve svých různých formách, a to jednak ve formě volné (bez vazby na bílkoviny), jednak ve formě vázané, kompletové (vázané na krevní proteiny). PSA je produkován jako pro-pro-enzym se signálním polypeptidem, který je odstraněn během syntézy. Sekreční pro-enzym pro-PSA se sestává ze 244 aminokyselin, včetně sedmi aminokyselin aktivačního polypeptidu, který je následně odtržen trypsin-like peptidem po sekreci (21).

75 % sérového PSA je ireverzibilně vázáno v plazmě na inhibitor proteázy – alfa 1-antichymotrypsin (PSA-ACT) ve formě kovalentní vazby 1:1, což způsobuje vznik enzymaticky inaktivního komplexu. 1–2 % sérového PSA se nachází ve vazbě na alfa1 inhibitor proteinázy, tzv. alfa1 antitrypsin (PSA-API) a 5–10 % PSA je vázáno na alfa 2 makroglobulin (PSA-A2M).

Pouze komplex PSA ve vazbě na alfa2 makroglobulin blokuje přístup větších proteinových substrátů ke katalytickému štěpení PSA. V současné době je prakticky nemožné měřit hladinu PSA-A2M v krvi, a to jednak z důvodu minimálních krevních hladin a jednak z důvodu, že protein alfa2 makroglobulin kryje PSA-epitopy antigenu, a tudíž není možné navázat značenou monoklonální protilátku běžně užívanou v laboratorních esejích.

5–45 % detekovatelného PSA se nachází ve formě volné (nevázané), která je pravděpodobně enzymaticky aktivní. Struktura volného PSA vykazuje výraznou heterogenitu.

PSA-ACT, PSA A2M a PSA-API

PSA-A2M, jak již bylo zmíněno, není detekovatelné běžnými imunoesejemi, zatímco PSA-ACT a PSA-API jsou obě detekovatelné esejemi pro celkové či kompletové PSA. Nevýhodou těchto esejí je to, že měří obě izoformy dohromady, a to vede ke zkreslení výsledku. Důvodem je, že PSA-ACT se u pacientů s CaP zvyšuje, zatímco PSA-API se snižuje. Přestože vliv PSA-API na výsledek celkového PSA je relativně malý, byla do praxe uvedena esej stanovující komplexové PSA (tj. pouze PSA-ACT), což vedlo k mírnému zlepšení dosažených výsledků (2, 18).

FDA (USA, Food and drug administration) povolila užití stanovení volného PSA, resp. poměru mezi celkovým a volným PSA u pacientů s hladinou PSA od 4–10 ng/ml. Vyšší poměr f/t PSA naznačuje větší

pravděpodobnost benigního onemocnění u pacientů s elevací PSA (11, 32). Catalona ve své multicentrické studii (10) poukazuje na fakt, že je-li poměr menší jak 25 %, je dosaženo 95 % senzitivity pro detekci CaP v rámci sextantové biopsie a zároveň dochází ke zlepšení specifity PSA o 20 % (11). V další Catalanově práci je prokázáno, že v případě nastavení cut-off pro procento volného PSA na 27 %, dochází ke zvýšení senzitivity PSA na 90 % a k 18 % snížení zbytečných biopsií u mužů ve věku nad 50 let, u kterých byla rozmezí hladin PSA 2,6–4,0 ng/ml. Navíc 83 % takto detekovaných karcinomů bylo klinicky signifikantních (11).

V protikladu stojí tvrzení některých autorů, kteří v rámci stanovení procenta volného PSA doporučují navýšení počtu biopsií na 10–12 (5). Naprostá většina autorů však souhlasí s tvrzením, že stanovení procenta volného PSA je výrazným pomocníkem v indikaci biopsie u pacientů s PSA v rozmezí 4–10 ng/ml.

Data srovnávající použití procenta volného PSA v predikci klinických výsledků, resp. jeho využití jako předpovědního markeru, nejsou jednoznačná. Gaafen a kolektiv neprokázal nezávislý vztah mezi procentem volného PSA před radikální prostatektomií u souboru 561 pacientů a následným PSA relapsem po provedeném chirurgickém výkonu (26). Naopak Shariat a kolektiv (30) prokázal, že procento PSA resp. nízký poměr f/t PSA je nezávislým prediktorem rozsahu onemocnění, biologické aktivity a pravděpodobnosti relapsu onemocnění. Tento fakt prokázal na souboru 402 pacientů, podstoupivších radikální prostatektomii se vstupním PSA pod 10 ng/ml.

Izoformy volného PSA

Volný PSA se nachází v krvi ve třech formách (24):

1. BPSA – tzv. s benigní hyperplazií asociované PSA
2. pro-PSA
3. intaktní PSA.

BPSA vzniká v okamžiku, kdy intaktní volné PSA je zbaveno aminokyselin Lys 146–146 a Lys 182–183. BPSA se nachází v tkáni prostaty, séru a seminální tekutině (24). BPSA je asociováno s přechodnou zónou, která je důležitá v genezi BPH (25). U mužů bez projevů resp. přítomnosti BPH jsou hladiny BPSA prakticky nedetekovatelné na rozdíl od pacientů s BPH (24). BPSA výrazně koreluje s velikostí přechodné zóny a tato korelace je mnohem větší než korelace s celkovou hladinou PSA a stanovení hladiny BPSA je lepším prediktorem rozvoje a progresu BPH než stanovení procenta volného PSA (6). V současné době se stanovení BPSA jeví jako nadějný marker detekce BPH nikoliv však CaP.

Stejně jako sekreční peptidové enzymy, PSA je v počátku produkováno jako inaktivní pro-PSA forma, obsahující sedm vedoucích amino-peptidových sekvencí. Lidský žlázový kalikrein 2 (hK2) aktivuje tuto neaktivní formu tím, že z ní právě tyto sekvence odštěpí (24). Při srovnání tkáně postižené BPH obsahuje tkáň karcinomu prostaty vyšší množství forem proPSA, a to ve formě (-2pro-PSA) nebo (-4pro-PSA) (24).

Stanovení poměru pro-PSA a volného PSA signifikantně zlepšuje specifitu detekce CaP a snižuje počet zbytečných biopsií ve skupině pacientů s hladinou PSA 2–4 ng/ml (9, 31). Ke stejnému závěru dospěl Sokoli a kolektiv (9, 31); zároveň podotýká, že -2pro-PSA je nejlepším markerem popisujícím agresivitu CaP.

Třetí formou formou PSA je tzv. inaktivní PSA, které se vyznačuje tím, že je enzymaticky neaktivní.

Při použití nových esejí, detekujících intaktní PSA a pro PSA došel Nurmiko a kolektiv k závěru, že není rozdíl mezi hladinou intaktního PSA u pacientů s BPH a CaP, ale že v případě poměru intaktního a volného PSA mají pacienti s CaP tento poměr signifikantně vyšší.

Závěr

Závěrem je možno konstatovat, že i přes rozvoj nových nádorových markerů pro detekci CaP, je PSA i nadále zlatým standardem v diagnostice a sledování pacientů s BPH a CaP. Vzhledem k nízké specifitě PSA jako takového bylo objeveno větší množství pomocných parametrů, resp. izoform PSA, právě za účelem zvýšení specifity PSA a snížení počtu zbytečných biopsií. Pro široké užití nových forem PSA v praxi bude nutno provést další prospektivní studie. Dnes však již můžeme konstatovat, že v současné

době známé izoformy zlepšují specifitu celkového PSA a budou v budoucnu užívanými pomocníky.

Práce byla podpořena

- výzkumným grantem IGA NR8918–3
 - výzkumným záměrem MSM 0021620819
- Náhrada a podpora funkce některých životně důležitých orgánů.

MUDr. Jiří Klečka, Ph.D.

Urologická klinika FN

E. Beneše 13, 305 99 Plzeň

e-mail: kleckaj@fnplzen.cz

Literatura

- Aihara M, Lebavitz RM, Wheeler TM, Kinner BM, Ohori M, Scardino PT. Prostate specific antigen and gleason grade: an immunohistochemical study of prostate cancer. *J Urol* 1994; 151: 1558–1564.
- Allard WJ, Zhou Z, Yeung KK. Novel immunoassay for the measurement of complexed prostate-specific antigen in serum. *Clin Chem* 1998; 44: 1216–1223.
- Bangma CH, Kranse R, Blijenberg BG, Schroder FH. The value of screening tests in the detection of prostate cancer. Part I. Results of a retrospective evaluation of 1 726 men. *Urology* 1995; 46: 773–778.
- Benson MC, Whang IS, Pantuck A, et al. Prostate specific antigen density. A means of distinguishing benign prostatic hypertrophy and prostate cancer. *J Urol* 1992; 147: 815–816.
- Canto EI, Singh H, Shariat SF. Effects of systematic 12-core biopsy on the performance of percent free prostate specific antigen for prostate cancer detection. *J Urol* 2004; 172: 900–904.
- Canto EI, Singh H, Shariat SF. Serum BPSA outperforms both total PSA and free PSA as a predictor of prostatic enlargement in men without prostate cancer. *Urology* 2004; 63: 905–910.
- Carter HB, Epstein JI, Chan DW. Recommended prostate-specific antigen testing intervals for the detection of curable prostate cancer. *JAMA* 1997; 277: 1456–1460.
- Carter HB, Morrell CH, Pearson JD. Estimation of prostatic growth using serial prostate-specific antigen measurements in men with and without prostate disease. *Cancer Res* 1992; 52: 3323–3328.
- Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG, et al. Serum pro prostate specific antigen improves cancer detection compared to free and complexed prostate specific antigen in men with prostate specific antigen 2–4 ng/ml. *J Urol* 2003; 170: 2181–2185.
- 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: 1542–1547.
- Catalona WJ, Richie JP, deKernion JB et al. Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. *J Urol* 1994; 152: 2031–2036.
- Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate Cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/ml and benign prostate examination: Enhancement of specificity with free PSA measurements. *JAMA* 1997; 277: 1452–1455.
- Coley CM, Barry MJ, Fleming C. Early detection of prostate cancer: prior probability and effectiveness of tests. *Ann Internal Med* 1997; 126: 394–399.
- Darson MF, Pacelli A, Roche P, et al. Human glandular kallikrein 2 (nK2) expression in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma: a novel prostate cancer marker. *Urology* 1997; 49: 857–862.
- Djavan B, Zlotta AR, Byttemier G. Prostate specific antigen density of the transition zone for early detection of prostate cancer. *J Urol* 1998; 160: 411–418.
- Eastham JA, May RA, Whatley. Clinical characteristics and biopsy specimen features in african-american and white men without prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 756–760.
- Etzioni R, Shen Y, Pettaway JC, Brawer MK. Age-specific prostate-specific antigen: a reassessment. *Prostate Suppl* 1996; 7: 70–77.
- Horninger W, Cheli CD, Babaian RJ et al. Complexed prostate-specific antigen for early detection of prostate cancer in men with serum prostate-specific antigen levels of 2–4 nanograms per milliliter. *Urology* 2002; 60(Suppl. 1): 31–35.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA CancerJ-Clin* 2007; 57: 43–66.
- Kattan MW, Eastham JA, Stapleton AM, Wheeler TM, Scardino PT. A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 766–771.
- Kawaciuk I, Průša R. Atypické formy PSA v diagnostice karcinomu prostaty. *Vybrané otázky z onkologie III. Praha: Galén*, 1999: 17–18.
- Lin DW, Gold MH, Ransom S, Ellis WJ, Brawer MK. Transition zone prostate specific antigen density. Lack of use in prediction of prostatic carcinoma. *J Urol* 1998; 160: 77–81.
- Mettlin C, Littrup PJ, Kane RA, et al. Relative sensitivity and specificity of serum prostate specific antigen (PSA) level compared with age-referenced PSA, PSA density, and PSA change. Data from the American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project Cancer 1994; 74: 1615–1620.
- Mikolajczyk SD, Marks LS, Partin AW, Rittenhouse HG. Free prostate-specific antigen in serum is becoming more complex. *Urology* 2002; 59: 797–802.
- Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ. BPSA1, a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2000; 55: 41–45.
- Nixon RG, Wener MH, Smith KM, Parson RE, Strobel SA, Brawer MK. Biological variation of prostate specific antigen levels in serum: an evaluation of day-to-day physiological fluctuations in a well-defined cohort of 24 patients. *J Urol* 1997; 157: 2183–2190.
- Noguchi M, Stamey TA, McNeal JE, Yemoto CM. Preoperative serum prostate specific antigen does not reflect biochemical failure rates after radical prostatectomy in men with large volume cancers. *J Urol* 2000; 164: 1596–1600.
- Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG et al. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranging PSA. *Jama* 1993; 270: 860–864.
- Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, Walsh PC, Epstein JI, Pearson JD. Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin tables) for the new millennium. *Urology* 2001; 58: 843–848.
- Shariat SF, Abdel-Aziz KF, Roehrborn CG, Lotan Y. Pre-operative percent free PSA predicts clinical outcomes in patients treated with radical prostatectomy with total PSA levels below 10 ng/ml. *EurUrol* 2006; 49: 293–302.
- Sokoli U, Chan DW, Mikolajczyk SD et al. Proenzyme PSA for the early detection of prostate cancer in the 2.5–4.0 ng/ml total psa range: preliminary analysis. *Urology* 2003; 61: 274–276.
- Woodrum DL, Brawer MK, Partin AW, Catalona WJ, Southwick PC. Interpretation of free prostate specific antigen clinical research studies for the detection of prostate cancer. *J Urol* 1998; 159: 5–12.