

Molekulární genetika a prostate cancer gene 3 (PCA3) v diagnostice karcinomu prostaty

MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU, MUDr. Ondřej Kaplan, MUDr. Oto Köhler, CSc., MUDr. Jiří Kočárek, Ph.D.

Urologické oddělení, Ústřední vojenská nemocnice, Praha

Současná diagnostika karcinomu prostaty je založená na vyšetření prostaty per rectum nebo hodnocení hladiny prostatického specifického antigenu v séru. Obě metody mají mnoho nedokonalostí i v případě, že se používají společně. Nízká senzitivita často vede k negativním nálezům biopsie prostaty a k potřebě jejího opakování. Jedinou možností, jak překonat tuto nepříznivou situaci, je objevování jiných metod detekce karcinomu prostaty. Jednou z novějších metod je detekce ribonukleové kyseliny, která se specificky exprimuje v buňkách karcinomu prostaty pod názvem prostate cancer gene 3 (PCA3). Na základě dostupných informací umožňuje tato metoda předpovědět pozitivní výsledek biopsie a stanovit agresivitu diagnostikovaného karcinomu. Článek obsahuje souhrn současných poznatků na toto téma od popisu genu a způsobu detekce až po potenciální využití v každodenní praxi.

Klíčová slova: karcinom prostaty, PCA3, PSA, biopsie.

Molecular genetics and prostate cancer gene (PCA3) in diagnosing prostate cancer

Current diagnosis of prostate cancer is based on digital rectal examination or testing of prostate specific antigen level in serum. Both methods have several shortcomings even if used in combination. Low sensitivity often leads to negative findings in prostate biopsy and need to repeat it. The only possibility how to overcome this unfavourable situation is to discover different methods of prostate cancer detection. One of the more recently used method is the detection of ribonucleic acid specifically expressed in cancer cells called prostate cancer gene 3 (PCA3). Based on available informations this method allows to predict positive biopsy result and also aggressiveness of the diagnosed cancer. Article summarized contemporary knowledge on this issue from description of the gene and method of detection to potential utilization in everyday practice.

Key words: prostate cancer, PCA3, PSA, biopsy.

Urolog. pro Praxi, 2010; 11(2): 82–85

Úvod

Karcinom prostaty je nejčastější zhoubný nádor v našich zemích a v absolutních číslech patří mezi nádory s nejvyšší mortalitou. Diagnostické metody používané v současnosti mají určitá omezení a je jen málo pravděpodobné, že nastane nějaká zásadní změna ve způsobu nebo rozsahu jejich použití. Vyšetření prostaty per rectum je zatíženo výraznou subjektivitou a má jen hraniční prediktivní hodnotu. Hladina sérového prostatického specifického antigenu (PSA) je přesnější, ale existují významné rozdíly v hodnocení díky různým hraničním hodnotám, způsobům analýzy, kalibraci v jednotlivých laboratořích a dvěma existujícím standardům (původní kalibrace Hybritech a novější standard WHO odvozený od kalibrace Beckman Coulter) (1). I když se měření sérové hladiny PSA považuje za nejlepší dostupný nádorový marker, není pochyb o tom, že má významná omezení. Hranice PSA pro indikaci biopsie prostaty se v současnosti pohybuje mezi 2–4 ng/ml, což vede k 70–80 % negativitě biopsií díky tomu, že PSA není specifické pro nádorovou tkáň. Jednou z možností, jak zlepšit diagnostickou přesnost testů na karcinom prostaty a snížit počet biopsií, je identifikace genů specifických pro karcinom

prostaty. Prostate cancer gene 3 (PCA3), o němž pojednává tento článek, má několik vlastností, které zvyšují jeho potenciální význam v identifikaci maligní přeměny prostatického epitelu a případné zavedení léčby zaměřené na tyto transformované buňky.

Základní údaje o PCA3

Prostate cancer gene 3 (PCA3), rovněž uváděný jako PCA3^{DD3} nebo DD3^{PCA3}, byl poprvé identifikován v roce 1999 v Nijmegenu v Holandsku. Původně uváděná zkratka DD3 znamená „differential display code 3“, což označuje jednu z mnoha metod identifikace genů s různou expresí a nalezený gen byl podle něj pojmenován. V souladu s platným názvoslovím lidského genomu byl přejmenován na PCA3, aby byla jasná souvislost s karcinomem prostaty, potvrzená mnoha pokusy. V původní studii prokázali autoři analýzou Northern blot vysokou expresi PCA3 v nádorové tkáni ve srovnání s ostatními vzorky, přičemž využívali jako tkáňový marker PSA a ribozomální ribonukleovou kyselinu (RNA) k ověření množství extrahované ribonukleové kyseliny (2). Další analýzy pomocí reverzní transkriptázové polymerázové řetězové reakce (RT-PCR) prokázaly malou, ale měřitelnou

expresi v benigní prostatické tkáni. Zvýšená exprese PCA3 se vyskytuje již ve včasných fázích růstu karcinomu prostaty, protože k ní došlo téměř ve všech hodnocených preparátech a již v této fázi autoři prokázali expresi i v uzlinových a kostních metastázách karcinomu. Nedávno provedená studie prokázala expresi mRNA PCA3 ve více než 90 % tkání HGPIN (3). PCA3 nebyl zjištěn v normálních tkáních močového měchýře, mozku, střeva, sleziny, jater, slinivky, srdce, plic, semenných váčků, varlat, vaječníků, kosterního svalu a kůže. Podobně nebyly zjištěny v nádorech prsu, děložního krčku, vaječníku a buněčných liniích z močového měchýře, ledvin, prsou a vaječníků (4).

Genovou sondou bylo zjištěno, že gen pro PCA3 je umístěn na 9. chromozomu (9q21–22a) a podařilo se rekonstruovat jeho transkripční jednotku. Počítačem asistovaná analýza lidské genové databáze zjistila, že kompletní komplementární deoxyribonukleová kyselina (cDNA) PCA3 nemá homologii mezi dostupnými údaji a je naprosto jedinečná (5). Většina transkriptů se nachází v jádře a neustálá transkripce spolu s narušenou syntézou vedou k absenci definitivní bílkoviny v cytoplazmě. Funkce PCA3 v jádře není známa, i když existuje hypotéza

o regulační funkci v rámci exprese nebo dělení genů. Ze současných poznatků o genu lze předpokládat, že kromě významně zvýšené exprese mRNA neexistuje žádná konkrétní cytoplazmatická bílkovina vznikající jeho transkripcí a ani funkce nekódujícího genu není v současnosti jednoznačně stanovena. Analýzy pomocí genových sond prokázaly, že PCA3 se výrazně exprimuje v nádorových buňkách, zatímco PSA neodliší jednotlivé druhy tkáně na úrovni mRNA (6). Již zde je potřeba uvést, že PSA je bílkovina a laboratorní analýza sérového PSA se významně liší od vyšetření PCA3. Další zmínky o PSA se týkají vyšetření exprese jeho genu – pokud nebude uvedeno, že se jedná o jeho sérovou hladinu.

Analýza

Největší překážkou analýzy genů typu PCA3 je nedostupnost definovatelné bílkoviny, a tím i možnost jejího cíleného hodnocení. To zkomplikovalo případné klinické využití a diagnostiku pomocí značené protilátky proti bílkovině a donutilo vědce složitě stanovovat mnohem nestabilnější substrát či cílovou molekulu mRNA metodami využívajícími reverzní transkriptázu (7). Od studií exprese PCA3 v preparátech po radikální prostatektomii směřoval vývoj k diagnostice v krvi a tekutinách souvisejících s prostatou (ejakulát, exprimát, první porce moče po masáži prostaty). Jako nejjednodušší se v tomto směru jevílo vyšetření moče i proto, že již z dřívější doby je známo, že první porce moče obsahuje nejvíce prostatických a uretrálních buněk. Jelikož studie srovnávající exprimát prostaty s první porcí moče po masáži prokázala srovnatelné výsledky (8), zaměřili se vědci na detekci mRNA PCA3 v moči. V této studii byla zároveň prokázána stejná diagnostická hodnota vyšetření celého vzorku moče a močového sedimentu, což zjednodušuje zpracování odebraného materiálu. RT-PCR pro PCA3 je schopna detekovat několik maligních buněk na pozadí převažujících normálních a benigních buněk, což je situace obvyklá v moči, a to bez potřeby provést jejich oddělení. V roce 2006 Groskopf a spol. (9) zavedli kvantitativní automatizovanou amplifikaci sond zprostředkovanou transkripcí (automated probe transcription-mediated amplification, APTIMA). Tato metoda využívá transkripční amplifikační systém s RNA polymerázou a reverzní transkriptázou k průběhu izotermické reakce, jež může probíhat v jednom prostoru. Uvedený postup zjednodušil provedení analýzy při zachované kvalitě, srovnatelné s výzkumnými metodami a umožnil její komerční použití ke zpracování

vzorků moče. Přes kanadskou biotechnologickou společnost DiagnoCure, která koupila licenci na technologii diagnostiky PCA3 od Radboud University v Nijmegenu, se konečná licence dostala do portfolia jedné z největších společností vyrábějících testy nukleových kyselin na světě (Gen-Probe Inc., USA). V České republice se kromě laboratorně vyvinutých postupů (10) používá komerčně vyrobená assay této firmy s názvem ProgenSA®. Technologie je z větší části automatizována, čímž se snižuje riziko preanalytických a analytických chyb. Jednotné zpracování a kvantifikace vůči celkovému objemu prostatických buněk ve vzorcích pomocí mRNA PSA navíc umožňuje standardizaci vyšetření. Protože je exprese mRNA PSA relativně konstantní v normální tkáni prostaty a jen mírně snižena (~1,5krát) v buňkách karcinomu prostaty, lze transkripty PSA použít ke kvantifikaci skutečného množství buněk karcinomu prostaty v močovém sedimentu (11). Hladina mRNA PSA slouží ke srovnání množství PCA3 s celkovým počtem prostatické RNA ve vzorku a k zajištění množství RNA dostatečného pro analýzu. Výsledné skóre PCA3 uváděné ve výsledku vyšetření bylo stanoveno jako poměr mRNA PCA3 a PSA vynásobený 1 000.

Dosavadní zkušenosti prokázaly, že k uvolnění dostatečného počtu buněk z prostaty stačí masáž prostaty obvyklým způsobem a několik tahů prstem po každém laloku (doporučují se aspoň tři) přináší množství vyhovující pro vyšetření u více než 95 % nemocných (12). První porce moče (20–30 ml) se zachytí do nádoby a poté se pipetou kalibrovanou na požadovaný objem přenesou do transportního média v dostatečném množství označeném ryskami na nádobce. Vzorek moče i transportní nádobku je potřeba několikrát obrátit, aby došlo k rovnoměrnému rozptýlení buněk ve vzorku. Po převozu do laboratoře se provádí výše popsaná analýza. Z praktického hlediska je důležitá stabilita vzorku. Při teplotě do 30 °C se vzorky mohou skladovat až pět dnů, v lednici mnohem déle. Veliký význam má i nezávislost vyšetření na příměších v moči díky nepřítomnosti exprese genu v krvinkách. Právě vyloučení možné zkřížené reaktivity patologických příměsí (leukocyturie, hematurie) umožňuje vyšetření exprese v prostatických buňkách uvolněných do moče (13). Výsledky mají dobrou reprodukovatelnost s koeficienty variace v rámci jednoho vzorku < 13 % a < 12 % mezi vzorky s celkovou variabilitou < 20 % (14). Podobně jako jiná genetická vyšetření je i hodnocení PCA3 srovnatelné z hlediska ceny a náročnosti zpracování.

Praktické indikace

Potenciál skóre PCA3 spočívá v možnosti zvýšit přesnost předpovědi výsledku primární biopsie u nemocných s hodnotami PSA (2,5–10 ng/ml), kde lze jen u 20–35 % mužů očekávat nález karcinomu prostaty. Podobně jej lze použít pro predikci výsledku opakované biopsie. Platí to zejména v případech s pozitivním nálezem vyšetření prostaty per rectum, vysokou hladinou PSA, pozitivní rodinnou anamnézou nebo jinými rizikovými faktory karcinomu prostaty. Zatím největší studie v Evropě zabývající se PCA3 před rebiopsií proběhla jako multicentrické hodnocení a výsledky byly zveřejněny v roce 2008 (15). Do studie bylo zařazeno celkem 463 mužů s průměrným věkem 64,4 roku s negativní předchozí biopsií. Při rebiopsii bylo odebráno minimálně 10 vzorků z periferní zóny podle standardizovaného protokolu. Celkem 467 (99,4 %) ze 470 hodnocených vzorků obsahovalo dostatečnou koncentraci mRNA na to, aby bylo možno vypočítat skóre PCA3. Z nich mělo 463 (99,1 %) hodnotitelné výsledky biopsie prostaty s pozitivním nálezem u 128 (28 %) pacientů. Muži s pozitivní biopsií měli statisticky významně vyšší věk, sérovou hladinu PSA, menší objem prostaty, častěji podezřelý nález při vyšetření prostaty per rectum a vyšší průměrné skóre PCA3 než muži s negativním nálezem. Průměrné skóre PCA3 u pacientů s pozitivní biopsií bylo 63,8 (95 % CI: 47,7–79,8) a 35,5 (95 % CI: 28,8–42,2) u negativní biopsie. Medián u pozitivních nálezů byl 33,7 a u negativních 19,5. Kvůli nerovnoměrné distribuci hodnot skóre PCA3 v obou skupinách je proto ke stanovení hraniční hodnoty pro opakování biopsie vhodnější aritmetický medián než průměr. Opět bylo potvrzeno, že hodnota skóre PCA3 kolem 35 přináší optimální rovnováhu mezi senzitivitou (47 %) a specificitou (72 %). Výsledky hodnocení skóre PCA3 nesusouvisely s počtem předchozích biopsií. Pearsonův korelační koeficient potvrdil, že skóre PCA3 nebylo závislé na objemu prostaty a sérové hladině PSA. Pacienti s klinickou klasifikací T2 měli statisticky významně vyšší průměrné skóre PCA3 než muži s klasifikací T1c. Podobně tomu bylo i při srovnání skupiny s Gleasonovým skóre 7 a nižší hodnotou. Celkem 83 % nemocných mělo signifikantní karcinom dle uznávaných histopatologických kritérií (16). Při uvedené hraniční hodnotě by bylo dle přepočtu výsledků studie možno vynechat 67 % rebiopsií a nezachytilo by se 24 (21 %) nádorů s GS 7, dva s GS 8 a jeden s GS 9, z toho sedm bylo T2. Z praktického hlediska je důležité, že muži s HGPIN před zařazením do studie měli významně vyšší skóre

PCA3 (49,3; 95 % CI: 39,0–59,6) než pacienti bez HGPIIN (41,5; 95 % CI: 33,5–49,6). V uni- i multi-variantní analýze bylo skóre PCA3 statisticky významným a nezávislým prediktivním faktorem pro nález karcinomu prostaty v opakované biopsii a zvýšil předpovědní hodnotu ostatních parametrů o 4,2 %. Tato práce poprvé prokázala závislost klinické klasifikace a diferenciací hodnocené Gleasonovým skóre na skóre PCA3. Podobná studie ze Spojených států hodnotila primární biopsie i rebiopsie a zjistila srovnatelnou diagnostickou výtěžnost PCA3 v obou indikacích (17). Roli PCA3 při předpovědi výsledku biopsie prostaty je potřeba posuzovat ve světle všech známých nepřesností, vyplývajících z její strategie. Umístění odběrů, počet vzorků, záchyt karcinomu a indikace rebiopsie se mezi jednotlivými pracovišti liší. PCA3 může být pozitivní i v případě negativní biopsie, přičemž opačný případ je mnohem vzácnější. V tomto smyslu lze s nadsázkou konstatovat, že biopsie nezachytí všechny nádory odhalené analýzou PCA3 v moči a genetika „předběhla“ urology. I v případě genetického markeru se pracuje s pravděpodobnostmi a nemůže být stanovena žádná hraniční hodnota. S dalším rozvojem poznatků a přibývajících zkušeností bude skóre PCA3 hodnoceno přímo jako procento pravděpodobnosti odhalení karcinomu prostaty a bude tak možno individualizovat rozhodování o indikaci primární biopsie nebo časovém odstupu opakované biopsie.

Dalším logickým vyústěním výzkumu bylo, zda je možno skóre PCA3 použít k odhadu agresivity nádoru po pozitivní biopsii. Dvě studie srovnávající předoperační nálezy a skóre PCA3 s pooperačními histologickými nálezy v preparátech po radikální prostatektomii (RP) dospěly k různým závěrům. Nakanishi, a kol. hodnotili souvislost skóre PCA3 v moči s objemem nádoru po prostatektomii a jinými klinickými a patologickými ukazateli u 96 pacientů s lokalizovaným karcinomem prostaty (18). Zjistili, že skóre PCA3 může odlišit nádory podle objemu ($< 0,5$ ml proti $\geq 0,5$ ml), agresivity (GS 3 + 3 proti GS ≥ 7) a nesignifikantní karcinomy. Uvedená studie jako první naznačila možnost použití skóre PCA3 pro výběr nemocných pro aktivní sledování. Tyto nálezy jsou obzvláště důležité z hlediska snížení korelace sérové hladiny PSA a objemu nádorů v posledních letech způsobených častější diagnózou včasných stadií karcinomu. Ve druhé studii bylo hodnoceno 62 mužů po laparoskopické nebo otevřené retropubické radikální prostatektomii (19). Žádný pacient neměl, podobně jako v předchozí studii, neoadjuvantní hormonální léčbu.

Nebyla zjištěna významná korelace mezi skóre PCA3 a celkovým objemem nádoru, diferenciací (GS 6 proti GS 7) a pooperační T klasifikací. PCA3 rovněž nebylo schopno odlišit signifikantní a nesignifikantní karcinomy. Vysvětlením bude pravděpodobně problém se změnou GS a T klasifikace po operaci. Další významný faktor je malý počet hodnocených pacientů a výběr mužů vhodných k radikální prostatektomii. Zejména v západních zemích se muži s nízkým GS léčí brachyterapií nebo se provádí aktivní sledování – a tím se významně snižuje možnost srovnání výsledků operační léčby. Rovněž nemocní s vysokým GS obvykle podstupují radioterapii a dostatečné spektrum nálezů tak nelze posoudit. Existuje hypotéza, že se zhoršující se diferenciací se snižuje vzájemná adhezivita buněk a tím pádem by se měly buňky dediferencovaných karcinomů snáze uvolňovat po masáži prostaty ve srovnání se zralými nádory. Výsledkem by bylo uvolnění většího množství nádorových buněk do moče a vyšší skóre PCA3. Podobná závislost by měla být patrná i v závislosti na objemu karcinomu. Jelikož nebyla v obou studiích prokázána statisticky signifikantní závislost skóre PCA3 a T klasifikace, zdá se, že průnik buněk karcinomu prostaty do vývodů prostatických žláz a prorůstání nádoru přes kapsulu prostaty nebo do semenných váčků jsou dva odlišné biologické procesy. Definitivní hodnocení použití PCA3 v této indikaci zatím není možné a tyto výsledky lze považovat jen za předběžné. V případě potvrzení korelace PCA3 a pooperačních nálezů by se do budoucna jednalo o rozhodování o způsobu léčby (kurativní léčba/aktivní sledování) a samozřejmě i rozsahu a rizika případných nežádoucích účinků radikální operační či radiační léčby.

Budoucnost

Bližší porozumění molekulárních změn souvisejících se vznikem a rozvojem karcinomu prostaty může poskytnout racionální podklad pro vývoj nových způsobů léčby. Například genová léčba pomocí promotorů specifických pro karcinom prostaty by mohla přinést nový způsob léčby této smrtelné nemoci (20). Dosud bylo identifikováno mnoho lidských genů specificky exprimovaných v lidské prostatě včetně prostatického specifického antigenu, prostatické kyselé fosfatázy, lidského kalikreinu-2, prostatického specifického membránového antigenu a antigenu prostatické kmenové buňky (21). Teorie přepokládá promotor pro gen vysoce specifický pro karcinom prostaty kombinovaný se sebevražedným genem, který by se dopravit pomocí pří-

slušného vektoru do cílové buňky a způsobí její selektivní zničení. Předpokládá se, že například pro PCA3 bude možné charakterizovat promotor a iniciační elementy a využít jej ke genové léčbě, jenž selektivně dopravuje léčivé látky do buněk karcinomu prostaty. Využily by se již známé poznatky, jako je několikanásobně vyšší exprese v maligních buňkách, možnost kvantifikace exprese a přesného odlišení maligní a normální tkáně. Na základě výsledků dosavadních pokusů, zkoumajících účinek zesílení exprese PSA na aktivitu promotoru PCA3, lze očekávat jeho ještě výraznější expresi. Kombinace se zesílením exprese PSA v pokusech mnohonásobně zvýšila expresi promotoru, což ještě zvýšilo zájem o využití genu v budoucí léčbě.

Závěr

Kromě PCA3 bylo zkoumáno mnoho jiných genetických markerů. Jedním z nejvýznamnějších epigenetických markerů je hypermetylace genu GTSP1, což je nejčastější genetická porucha, popisovaná až u 90 % karcinomů prostaty (22). K dalším patří markery se zvýšenou expresí, jako je hepsin, α -metylacylracemáza koenzymu A, telomeráza, serinová proteáza TMPRSS (zejména ve formě fúzních genů) a δ -catenin. Přes velmi slibné výsledky základního výzkumu si tyto markery zatím nenašly cestu do klinického použití a určitě zůstávají i zajímavým cílem pro genetickou léčbu. Běžná diagnostika totiž vyžaduje nejenom spolehlivý marker, ale i dostupnou laboratorní metodu na jeho zjištění a dobrou korelaci mezi stavem onemocnění a výsledky. Je otázkou, zda si některý z uvedených markerů najde cestu do rutinní praxe. Samotné zavedení PCA3 je revolucí v molekulární biologii. Diagnostika karcinomu prostaty pomocí RNA nás nutí naučit se zacházet s novými informacemi a způsobem jejich hodnocení podobně jako biologická léčba. Do budoucna nebude jedinou možností diagnostiky a v dalších letech bude možno mnohem více využít potenciálu genetických analýz tak, jak se to děje u jiných nádorů. Kromě stanovení výchozího stavu při vstupním vyšetření bude možno sledovat stav nemocného a lépe definovat jednotlivé kroky v jeho léčbě a výsledky analýz DNA nebo proteomika umožní přesně určit další léčebné možnosti pro naše pacienty.

Literatura

1. Jansen FH, Roobol M, Bangma CH, van Schaik RH. Clinical impact of new prostate-specific antigen WHO standardization on biopsy rates and cancer detection. Clin Chem 2008; 54(12): 1999–2006.

2. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999; 59(23): 5975–5979.
3. Popa I, Fradet Y, Beaudry G, et al. Identification of PCA3 (DD3) in prostatic carcinoma by in situ hybridization. *Mod Pathol* 2007; 20: 1121–1127.
4. de la Taille A. ProgenSA PCA3 test for prostate cancer detection. *Expert Rev Mol Diagn* 2007; 7(5): 491–497.
5. Schalken JA, Hessels D, Verhaegh G. New targets for therapy in prostate cancer: differential display code 3 (DD3 (PCA3)), a highly prostate cancer-specific gene. *Urology* 2003; 62(5, Suppl 1): 34–43.
6. Meng FJ, Shan A, Jin L, Young CY. The expression of a variant prostate-specific antigen in human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11(3): 305–309.
7. de Kok JB, Verhaegh GW, Roelofs RW, et al. DD3 (PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors. *Cancer Res* 2002; 62(9): 2695–2698.
8. van Gils MP, Cornel EB, Hessels D, et al. Molecular PCA3 diagnostics on prostatic fluid. *Prostate* 2007; 67(8): 881–887.
9. Groskopf J, Aubin SMJ, Deras IL, et al. APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem* 2006; 52: 1089–1095.
10. Klečka J, Hora M, Pešta M, Holubec L, Topolčan O, Eret V. DD3 (Differential Display Code 3) – nový marker v diagnostice karcinomu prostaty. Výroční konference České urologické společnosti ČLS JEP, Plzeň, 10.–12.10.2007 (abstrakt). *Čes Urol* 2007; 11: 20.
11. Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I, et al. DD3 (PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003; 44(1): 8–15.
12. Marks LS, Fradet Y, Deras IL, Blase A, Mathis J, Aubin SM, Cancio AT, Desaulniers M, Ellis WJ, Rittenhouse H, Groskopf J. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology* 2007; 69(3): 532–535.
13. Kirby RS, Fitzpatrick JM, Irani J. Prostate cancer diagnosis in the new millennium: strengths and weaknesses of prostate-specific antigen and the discovery and clinical evaluation of prostate cancer gene 3 (PCA3). *BJU Int* 2009; 103(4): 441–445.
14. Sokoll L, Ellis W, Lange P, et al. A multicenter evaluation of the PCA3 molecular urine test: preanalytical effects, analytical performance, and diagnostic accuracy. *Clin Chim Acta* 2008; 389: 1–6.
15. Haese A, de la Taille A, van Poppel H, et al. Clinical utility of PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 2008; 54: 1081–1088.
16. Bastian PJ, Mangold LA, Epstein JI, Partin AW. Characteristics of insignificant clinical T1c prostate tumors. A contemporary analysis. *Cancer* 2004; 101: 2001–2005.
17. Deras IL, Aubin SM, Blase A, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol* 2008; 179(4): 1587–1592.
18. Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, et al. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol* 2008; 179(5): 1804–1809.
19. van Gils MP, Hessels D, Hulsbergen-van de Kaa CA, et al. Detailed analysis of histopathological parameters in radical prostatectomy specimens and PCA3 urine test results. *Prostate* 2008; 68(11): 1215–1222.
20. Verhaegh GW, van Bokhoven A, Smit F, Schalken JA, Bussemakers MJ. Isolation and characterization of the promoter of the human prostate cancer-specific DD3 gene. *J Biol Chem* 2000; 275(48): 37496–37503.
21. Vik V, Šácha P, Koukolík F, Konvalinka J, et al. Co nového víme o PSMA (prostatický specifický membránový antigen): z pohledu urologa. *Urol listy* 2007; 5(4): 10–13.
22. Leman ES, Cannon GW, Trock BJ, et al. EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer. *Urology* 2007; 69(4): 714–720.

MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU

Urologické oddělení ÚVN
U Vojenské nemocnice 1200
169 02 Praha 6-Střešovice
belejkam@uvn.cz

