

Continguts: [www.acclc.cat/ivv\\_docs.php?any=2015](http://www.acclc.cat/ivv_docs.php?any=2015)*In vitro veritas*Pàgina web de la revista: [www.acclc.cat/ivv.php](http://www.acclc.cat/ivv.php)

## Revisió

# Utilitat clínica del PCA3 en la detecció del càncer de pròstata

Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic  
Secció de Biomarcadors Oncològics

Xavier Filella Pla <sup>a</sup>, Josep Maria Augé Fradera <sup>a</sup>, Catrina Colomé Mallolas <sup>b</sup>, Maria Luisa Granada Ybern <sup>c</sup>, Marta de Ramon Amat <sup>d</sup>, Jaume Trapé Pujol <sup>e</sup>

<sup>a</sup> Servei de Bioquímica i Genètica Molecular (CDB), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

<sup>b</sup> Bioquímica, CATLAB, Terrassa

<sup>c</sup> Servei de Bioquímica, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona

<sup>d</sup> Laboratori de Referència de Catalunya, El Prat de Llobregat

<sup>e</sup> Servei de Bioquímica Clínica, Departament de Diagnòstic Biològic, Althaia Xarxa Assistencial Universitària de Manresa, Manresa

2015 © Publicat per l'Associació catalana de ciències de Laboratori Clínic

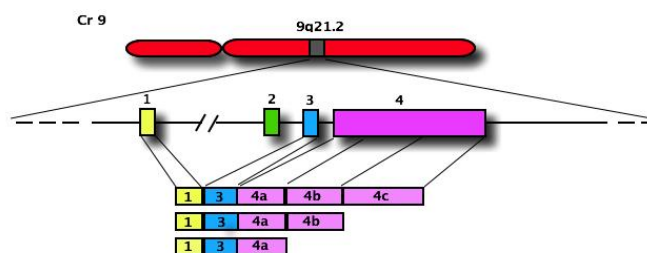
La concentració de massa de l'antigen específic de la pròstata en el plasma (PSA) segueix sent la magnitud biològica (també anomenada marcador o biomarcador) tumoral més utilitzada en la detecció precoç del càncer de pròstata, malgrat els inconvenients derivats de la seva falta d'especificitat diagnòstica. De fet, la biòpsia de la pròstata és positiva en aproximadament el 25 % dels pacients amb un valor de PSA compresos entre 2 i 10 µg/L (1). L'ús del PSA, però, ha comportat la detecció de tumors molt poc agressius, de manera que el sobrediagnòstic i sobretractament del càncer de pròstata afecta entre el 27 i el 56 % dels nous diagnòstics (2, 3).

En els darrers anys s'han descrit nous biomarcadors de càncer de pròstata amb la finalitat tant d'augmentar l'especificitat diagnòstica, com de diferenciar entre càncers agressius i càncers clínicament insignificants (4). Diversos estudis han seguit avaluant la utilitat de diversos biomarcadors relacionats amb el PSA. D'una banda, s'ha suggerit la utilitat del *prostate health index*, un càlcul basat en les concentracions de [-2] proPSA, PSA "total" i PSA "lliure" en el plasma, tant per la seva elevada eficàcia diagnòstica com per la seva relació amb l'agressivitat del tumor (5, 6). Igualment, s'ha proposat el mesurament simultani de quatre biomarcadors relacionats amb cal·licreïnes, que inclou el PSA "total", el PSA "lliure", el PSA "intacte" i la cal·licreïna humana de tipus 2, amb resultats inicials molt prometedors (7, 8). Una via completament diferent la constitueix l'estudi del gen *PCA3* (*prostate cancer gene 3*, *prostate cancer antigen 3*), un ARN missatger, no codificant i característic del càncer de pròstata, que, segons els estudis disponibles, s'ha proposat com a eina per decidir la realització d'una nova biòpsia en malalts amb

biòpsia negativa però amb valors de PSA sospitosos de càncer de pròstata.

Dades recents mostren que els ARNs no codificants tenen un paper en la iniciació, desenvolupament i progressió del càncer de pròstata. El seu estudi o mesurament en diferents líquids biològics, entre els quals el plasma i l'orina, han suggerit la seva utilitat en la detecció i pronòstic del càncer de pròstata. Els microARNs (miR) (entre els quals miR 141 i miR 375) i alguns ARNs no codificants llargs, com PCA3, són els biomarcadors més estudiats d'aquest grup (9).

El gen *PCA3*, que prèviament va ser anomenat DD3, va ser descobert l'any 1999 per Bussemakers *et al.* (10) com un gen sobreexpressat entre 10 i 100 vegades en el càncer de pròstata. Aquest gen, del qual no es coneix ben bé la funció biològica, està localitzat en el cromosoma 9q21-22 i consisteix en 4 exons i 3 introns (Figura 1). El transcrit més comú conté els exons 1, 3, 4a i 4b, encara que l'exó 2 ha estat descrit com a específicament amplificat en mostres de càncer de pròstata, però no en teixit hipertròfic (11).



**Figura 1.** Estructura del gen *PCA3*.

L'anomenat PCA3 consisteix en l'examen de l'ARN missatger del gen *PCA3* en orina després de la realització d'un massatge prostàtic per alliberar cèl·lules prostàtiques al tracte urinari. L'orina ha de ser recollida utilitzant un medi que estabilitzi l'ARN. L'examen de l'ARN missatger de *PCA3* ha d'efectuar-se simultàniament al de l'ARN missatger del PSA que, en no sobreexpressar-se en el càncer de pròstata, permet normalitzar la quantitat d'ARN missatger de *PCA3* en les mostres estudiades. El quocient o índex de *PCA3*, valorant l'ARN missatger de *PCA3* en funció de l'ARN missatger de PSA, permet que, ni la intensitat del massatge efectuat, ni la quantitat d'orina recollida incideixin en la valoració de l'expressió del gen de *PCA3*.

Els primers treballs publicats per valorar la utilitat de *PCA3* en la detecció del càncer de pròstata ho van fer mitjançant un procediment de mesura basat en la reacció en cadena per la polimerasa quantitativa en temps real (RT-PCR). L'any 2003 Hessels (12) comunicava que l'índex de *PCA3* tenia una sensibilitat del 67 % i una especificitat del 83 % en un estudi centrat en homes amb un valor de PSA superior a 3 µg/L. Un any després, els grups de Fradet (13) i Tinzl (14) posaven a punt un procediment de "segona generació" basat en l'amplificació isotèrmica, a 41 °C, dels ARN missatgers de *PCA3* i de PSA, observant resultats similars als publicats per Hessels. Posteriorment, l'any 2006, Groskopf *et al.* (15) van introduir un procediment de "tercera generació" que inclou l'aïllament, ampliació i quantificació dels ARN missatgers de *PCA3* i PSA mitjançant l'ús del sistema GTS400 de Gen-Probe. Aquest procediment va obtenir la *Conformitat europea* (CE) el novembre del 2006 i va ser aprovat per l'*Administració d'Aliments i Fàrmacs dels Estats Units* (FDA) l'any 2012 per decidir la repetició de la biòpsia de la pròstata en homes de més de 50 anys que tenen una o més biòpsies prèvies negatives.

L'empresa Gen-Probe, actualment fusionada amb Hologic, ha promogut l'automatització i estandardització d'aquest procediment de mesura, denominat ProgenSA® *PCA3*, de manera que el nombre d'estudis publicats sobre *PCA3* s'ha multiplicat progressivament, i, actualment, la base de dades PubMed ja recull 295 articles quan es fa una recerca per les paraules clau *PCA3* i *prostate cancer*, dels quals en 56 casos es tracta de revisions. Aquesta documentació inclou una metanàlisi publicada per Ruiz-Aragón i Márquez-Peláez l'any 2010 en la qual es valoraven 14 estudis de qualitat moderada o alta i que venia a concloure que l'estudi de l'índex de *PCA3* en l'orina té una validesa acceptable per a ser utilitzat en la detecció del càncer de pròstata. La FDA ha recomanat utilitzar un valor discriminant de 25 per al procediment ProgenSA® *PCA3* per indicar la repetició de la biòpsia, encara que, com varen recollir Ruiz-Aragón i Márquez-Peláez, el valor discriminant més usat és 35.

Més recentment, han estat publicades dues altres metanàlisis per Luo *et al.* (17, 18), incloent 11 (17) i 24 (18) articles, respectivament, que corroboren les conclusions anteriors. Aquest grup comunica una sensibilitat del 0,82 (95 % IC: 0,72–0,90) i una especificitat del 0,962 (95 % IC: 0,73–0,99); amb una àrea sota la corba de rendiment diagnòstic (ROC) de 0,744 (18). Els autors documenten els resultats obtinguts utilitzant valors discriminants de 20 o 35 per indicar una biòpsia i suggereixen que els resultats obtinguts són millors quan s'utilitza un valor discriminant de 20, encara que, òbviament, els resultats en quant a especificitat siguin menors (17).

La Taula 1 mostra un recull d'alguns dels estudis més significatius sobre la utilitat clínica de l'índex de *PCA3*. Tanmateix, però, per valorar adequadament la utilitat de *PCA3* en el càncer de pròstata és especialment útil revisar dos articles publicats pels grups de Haese i Roobol. El primer, és un estudi

multicèntric publicat l'any 2008 en base a 463 pacients amb una o més biòpsies negatives prèvies (19). Els autors indicaven que el valor discriminant de 35 oferia un balanç òptim entre sensibilitat i especificitat (47 % i 72 %, respectivament) i que ajudaria a decidir en quins pacients cal repetir la biòpsia. Amb l'ús del valor discriminant de 35, explicaven els autors, es podrien evitar el 67 % de les biòpsies, encara que s'haurien deixat de diagnosticar un 21 % de càncers amb un grau de Gleason entre 7 i 9, alguns dels quals en estadi T2. Aquests resultats posen en entredit l'ús de l'índex de *PCA3*, a causa del risc de diferir el diagnòstic d'un càncer de pròstata d'alt risc que requereix ser tractat. De fet, la probabilitat de càncer de pròstata en malalts amb un índex de *PCA3* menor a 35 és del 22 %. Tampoc sembla que disminuint el valor discriminant de l'índex de *PCA3* es pugui excloure amb seguretat l'existència d'un càncer de pròstata. Segons els autors, un valor discriminant de 20 permetria reduir el nombre de biòpsies en un 44 %, però es deixarien de diagnosticar un 9 % de càncers amb un grau de Gleason 7 o 8.

Autor	Població inclosa en l'estudi	Àrea sota la corba ROC	Relació amb l'agressivitat del tumor
Hessels <i>et al.</i> Eur Urol, 2003 (12)	108 malalts amb PSA > 3 µg/L	0,72	No estudiada
Fradet <i>et al.</i> Urology, 2004 (13)	Estudi multicèntric que inclou 517 pacients amb biòpsia	0,86	No estudiada
Tinzl <i>et al.</i> Eur Urol, 2004 (14)	Estudi prospectiu que inclou 201 pacients amb biòpsia	0,87	No estudiada
Groskopf <i>et al.</i> Clin Chem, 2006 (15)	3 grups: pacients amb biòpsia (n=70), subjectes sans (n=52), pacients tractats amb prostatectomia radical (n=21).	0,746	No estudiada
Ruiz-Aragón and Márquez-Peláez, Actas Urol Esp, 2010 (16)	Metanàlisi	0,63 - 0,87	No estudiada
Luo <i>et al.</i> Asian J Androl, 2014 (17)	Metanàlisi	0,577 - 0,73	No estudiada
Luo <i>et al.</i> Chin Med J, 2014 (18)	Metanàlisi	0,63 - 0,87	No estudiada
Haese <i>et al.</i> Eur Urol, 2008 (19)	Estudi prospectiu que inclou 463 pacients amb una o més biòpsies negatives	0,658	Sí, amb el grau de Gleason i l'estadi clínic
Roobol <i>et al.</i> Eur Urol, 2010 (20)	721 pacients biopsiats si PSA > 3 µg/L o <i>PCA3</i> > 10	0,635	No estudiada
Chevli <i>et al.</i> J Urol, 2014 (21)	Estudi retrospectiu que inclou 3073 pacients amb biòpsia	0,697	Sense correlació amb el grau de Gleason
Foj <i>et al.</i> Clin Chim Acta, 2014 (22)	122 pacients amb biòpsia	0,804	Sense correlació amb el grau de Gleason ni amb l'estadi clínic

**Taula 1.** Estudis relacionats amb la utilitat clínica del *PCA3* en el càncer de pròstata.

La majoria de treballs que han valorat l'índex de *PCA3* ho han fet en pacients que han estat seleccionats per a la realització d'una biòpsia en funció dels valors de PSA. Aquest fet introdueix un biaix de selecció en l'estudi que infravalora la utilitat del PSA en relació a la de l'índex de *PCA3*. L'estudi publicat per Roobol *et al.* (20) l'any 2010 intentava reduir aquest biaix seleccionant pacients per biòpsia no tan sols quan els valors de PSA eren

superiors a 3 µg/L, sinó també quan l'índex de PCA3 era igual o superior a 10. L'àrea sota la corba per l'índex de PCA3 obtinguda en aquest estudi va ser de 0,635, superior a l'observada per al PSA (0,581), però una mica menor a la comunicada per la majoria dels estudis realitzats fins al moment.

Aquesta avaluació també mostrava que l'especificitat diagnòstica de l'índex de PCA3 per un valor discriminant de 100 era tan sols del 89,7 %. En un estudi posterior Roobol *et al.* (23) indiquen que la probabilitat de detectar càncer de pròstata en pacients amb una biòpsia inicial negativa és superior quan l'índex de PCA3 és superior o igual a 100 que quan és inferior a aquest valor (30 % en front a 18,8 %). Tanmateix, també ressalten que, en un percentatge important d'homes amb un índex de PCA3 igual o superior a 100, no es detecta càncer de pròstata en el seu seguiment, la qual cosa no té una explicació clara, donada l'especificitat tissular del PCA3 i la hipotètica expressió diferencial de PCA3 en les cèl·lules prostàtiques normals i canceroses. Més recentment, el mateix grup ha confirmat aquests resultats després d'efectuar el seguiment d'un grup de malalts amb biòpsia negativa malgrat tenir un índex de PCA3 igual o superior a 100, tot i haver efectuat un ampli ventall d'estudis o procediments addicionals, incloent la biòpsia guiada per ressonància magnètica nuclear (24). Aquest treball també indica que l'índex de PCA3 obtingut en el seguiment d'aquests pacients és menor que l'obtingut inicialment, si bé en tan sols un cas és inferior al valor discriminant de 35. Els autors ressalten que aquests resultats no encaixen amb la idea que un marcador específic de càncer hauria d'incrementar els seus valors i no disminuir com succeeix en aquests malalts. Els autors, que també descarten que els valors de l'índex de PCA3 puguin estar emmascarats per canvis en el procediment de mesura emprat per a l'estudi de l'ARNm del PSA, reconeixen que el seu treball planteja més preguntes que respostes definitives (25), però subratllen la importància de la seva observació.

També és controvertida la relació entre l'índex de PCA3 i l'agressivitat del càncer de pròstata. De fet, mentre que hi ha estudis que suggereixen que hi ha relació (26–28), d'altres no troben cap relació entre l'índex de PCA3 i el grau de Gleason o l'estadi clínic o patològic (22, 29, 30). Malgrat tot, un estudi recent, que avalua 1341 pacients amb càncer de pròstata, conclou que l'índex de PCA3 s'associa amb el grau de Gleason de la biòpsia (21), encara que no millora la capacitat del PSA per predir un grau de Gleason superior a 6, observant àrees sota la corba de 0,682 pel PSA i de 0,679 per l'índex de PCA3.

Una revisió d'efectivitat comparativa publicada per Bradley *et al.* (31) l'any 2014 va identificar 34 estudis observacionals sobre l'índex de PCA3 amb una qualitat suficient per ser inclosos en el seu estudi. Els autors venien a concloure que la utilitat diagnòstica de l'índex de PCA3 és superior a la del PSA, mostrant que per una especificitat del 50 %, la sensibilitat és del 77 % i 57 %, respectivament. La sensibilitat de l'índex de PCA3 va del 94,3 % per un valor discriminant de 10 fins al 61,1 % per un valor discriminant de 35, amb un percentatge de càncers no detectats del 6 % i del 39 %, respectivament. Tanmateix, els autors també subratllen que l'evidència obtinguda fins al moment sobre la utilitat de l'índex de PCA3 és baixa per concloure que representi un avenç en la detecció del càncer de pròstata. També destaquen que les dades actuals no permeten definir si l'índex de PCA3 s'hauria d'oferir en el cribatge del càncer de pròstata, en pacients amb PSA superior a 4 µg/L o tan sols en pacients amb una biòpsia negativa prèvia. Per la seva banda, l'Associació Europea d'Urologia afirma que l'índex de PCA3 podria ajudar a decidir si s'ha de repetir la biòpsia en pacients amb una biòpsia negativa prèvia i una sospita persistent de càncer de pròstata, però també indiquen que, per al moment, la seva mesura és

experimental i que el seu impacte clínic és encara qüestionable (32).

## Bibliografia

- (1) Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, *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.
- (2) Etzioni R, Penson DF, Legler JM, di Tommaso D, Boer R, Gann PH, *et al.* Overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: lessons from U.S. prostate cancer Incident TRENDS. *J Nat Cancer Inst* 2002;94:981–90.
- (3) Johansson JE, Andrén O, Andersson SO, Dickman PW, Holmberg L, Magnuson A, *et al.* Natural history of early, localized prostate cancer. *JAMA* 2004;291:2713–9.
- (4) Filella X, Foj L. Emerging biomarkers in the detection and prognosis of prostate cancer. *Clin Chem Lab Med.* 2015 Jan 10. pii: /j/cclm.ahead-of-print/cclm-2014-0988/cclm-2014-0988.xml. doi: 10.1515/cclm-2014-0988.
- (5) Filella X, Giménez 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* 2013;51:729–39.
- (6) Hori S, Blanchet JS, McLoughlin J. From prostate-specific antigen (PSA) to precursor PSA (proPSA) isoforms: a review of the emerging role of proPSAs in the detection and management of early prostate cancer. *BJU Int* 2013;112:717–28.
- (7) Voigt JD, Zappala SM, Vaughan ED, Wein AJ. The Kallikrein Panel for prostate cancer screening: its economic impact. *Prostate* 2014;74:250–9.
- (8) Parekh DJ, Punnen S, Sjoberg DD, Asroff SW, Bailen JL, Cochran JS, *et al.* A Multi-institutional Prospective Trial in the USA Confirms that the 4Kscore Accurately Identifies Men with High-grade Prostate Cancer. *European Urol.* Epub ahead of print 27 October 2014. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2014.10.021.
- (9) Rönna CG, Verhaegh GW, Luna-Velez MV, Schalken JA. Noncoding RNAs as novel biomarkers in prostate cancer. *Biomed Res Int* 2014;2014:591703. Epub ahead of print 28 Aug 2014. DOI: 10.1155/2014/591703.
- (10) Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, Smit FP, Karthaus HF, Schalken JA, *et al.* DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999;59:5975–9.
- (11) Clarke RA, Zhao Z, Guo AY, Roper K, Teng L, Fang ZM, *et al.* New genomic structure for prostate cancer specific gene PCA3 within BMCC1: implications for prostate cancer detection and progression. *PLoS One* 2009;4:e4995.
- (12) Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I, Karthaus HF, van Leenders GJ, van Balken B, *et al.* DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003;44:8–15.
- (13) Fradet Y, Saad F, Aprikian A, Dessureault J, Elhilali M, Trudel C, *et al.* uPM3, a new molecular urine test for the detection of prostate cancer. *Urology* 2004;64:311–5.
- (14) Tinzi M, Marberger M, Horvath S, Chypre C. DD3PCA3 RNA analysis in urine—a new perspective for detecting prostate cancer. *Eur Urol* 2004;46:182–6.
- (15) Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, Blase A, Bodrug S, Clark C, *et al.* APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem* 2006;52:1089–95.
- (16) Ruiz-Aragón J, Márquez-Peláez S. Assessment of the PCA3 test for prostate cancer diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Actas Urol Esp* 2010;34:346–55.
- (17) Luo Y, Gou X, Huang P, Mou C. The PCA3 test for guiding repeat biopsy of prostate cancer and its cut-off score: a systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl* 2014;16:487–92.
- (18) Luo Y, Gou X, Huang P, Mou C. Prostate cancer antigen 3 test for prostate biopsy decision: a systematic review and meta analysis. *Chin Med J* 2014;127:1768–74.

- (19) Haese A, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, *et al.* Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 2008;54:1081-8.
- (20) Roobol MJ, Schröder FH, van Leeuwen P, Wolters T, van den Bergh RC, van Leenders GJ, *et al.* Performance of the prostate cancer antigen 3 (PCA3) gene and prostate-specific antigen in prescreened men: exploring the value of PCA3 for a first-line diagnostic test. *Eur Urol* 2010;58:475–81.
- (21) Chevli KK, Duff M, Walter P, Yu C, Capuder B, Elshafei A, *et al.* Urinary PCA3 as a predictor for prostate cancer in a cohort of 3073 men undergoing initial prostate biopsy. *J Urol* 2014;191:1743-8.
- (22) Foj L, Milà M, Mengual L, Luque P, Alcaraz A, Jiménez W *et al.* Real-time PCR PCA3 assay is a useful test measured in urine to improve prostate cancer detection. *Clin Chim Acta* 2014;435:53-58.
- (23) Roobol MJ, Schröder FH, van Leenders GL, Hessels D, van den Bergh RC, Wolters T, *et al.* Performance of prostate cancer antigen 3 (PCA3) and prostate-specific antigen in prescreened men: reproducibility and detection characteristics for prostate cancer patients with high PCA3 scores ( $\geq 100$ ). *Eur Urol* 2010;58:893–9.
- (24) Schröder FH, Venderbos LD, van den Bergh RC, Hessels D, van Leenders GJ, van Leeuwen PJ, *et al.* Prostate cancer antigen 3: diagnostic outcomes in men presenting with urinary prostate cancer antigen 3 scores  $\geq 100$ . *Urology* 2014;83:613-6.
- (25) Versluis Y, Kranse R, Jenster G, Roobol M. PCA3 Score Change over Time in a Prostate Cancer Screening Population. Atlanta: AUA; 2012; abstract.
- (26) Capoluongo E, Zambon CF, Basso D, Boccia S, Rocchetti S, Leoncini E, *et al.* PCA3 score of 20 could improve prostate cancer detection: results obtained on 734 Italian individuals. *Clin Chim Acta* 2014;429: 46–50.
- (27) van Poppel H, Haese A, Graefen M, de la Taille A, Irani J, de Reijke T, *et al.* The relationship between prostate cancer gene 3 (PCA3) and prostate cancer significance. *BJU Int* 2012;109: 360-6.
- (28) Durand X, Xylinas E, Radulescu C, Haus-Cheymol R, Moutereau S, Ploussard G, *et al.* The value of urinary prostate cancer gene 3 (PCA3) scores in predicting pathological features at radical prostatectomy. *BJU Int* 2012;110:43-9.
- (29) Hessels D, van Gils MP, van Hooij O, Jannink SA, Witjes JA, Verhaegh GW, *et al.* Predictive value of PCA3 in urinary sediments in determining clinico-pathological characteristics of prostate cancer. *Prostate* 2010;70:10-6.
- (30) Ploussard G, Durand X, Xylinas E, Moutereau S, Radulescu C, Forgue A, *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;59:422-9.
- (31) Bradley LA, Palomaki GE, Gutman S, Samson D, Aronson N. Comparative effectiveness review: prostate cancer antigen 3 testing for the diagnosis and management of prostate cancer. *J Urol* 2013;190:389-98.
- (32) Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, *et al.* EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. *Eur Urol* 2014;65:124-37.