



www.acclc.cat/ca/publicacions/revista-in-vitro-veritas:

In vitro veritas



Revisió

Nous biomarcadors per la detecció del càncer de pròstata

Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic

Secció de Biomarcadors Oncològics¹

Xavier Filella Pla^a, Laura Foj Capell^b, Marina Carbonell Prat^c, Josep Maria Augé Fradera^a, Marta de Ramon Amat^b, María Luisa Granada Ybern^d, Sílvia Miró Cañís^c, Jaume Trapé Pujol^e

^a Servei de Bioquímica i Genètica Molecular (CDB), Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

^b Laboratori de Referència de Catalunya, El Prat de Llobregat

^c Laboratori d'Anàlisis Clíniques, CLILAB Diagnòstics, Vilafranca del Penedès

^d Servei de Bioquímica, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona

^e Servei de Bioquímica Clínica, Departament de Diagnòstic Biològic, Althaia Xarxa Assistencial de Manresa, Manresa

¹ Membres de la Secció de Biomarcadors Oncològics durant la preparació d'aquest document: Josep Maria Augé Fradera, Marina Carbonell Prat, Xavier Filella Pla (coordinador), Laura Foj Capell, María Luisa Granada Ybern, Sílvia Miró Cañís, Marta de Ramon Amat, Jaume Trapé Pujol.

2019 © Publicat per l'Associació Catalana de Ciències de Laboratori Clínic

1. Introducció

El càncer de pròstata (d'ara endavant CaP) és el tumor més freqüent en homes en el món occidental. A Europa, per l'any 2018, es va estimar una incidència de 450 000 casos nous, amb una mortalitat de 107 000 casos (1). A Catalunya, el CaP és el tumor més freqüent en els homes, seguit del càncer de pulmó i de còlon i recte, segons dades recents (2). Una àmplia proporció dels CaP són latents, de manera que mai afectaran la vida del pacient. De fet, el sobrediagnòstic i sobretractament són el principal repte que cal afrontar per gestionar acuradament el CaP. Hi ha dades que indiquen que la proporció de tumors amb un baix risc de progressió podria estar entre el 50 i el 60 % dels casos (3). Les dades publicades per part de l'estudi PIVOT (acrònim de l'anglès *Prostate Cancer Intervention versus Observation Trial*) són especialment interessants per comprendre l'abast de la qüestió (4). Aquest estudi va incloure 731 homes entre novembre del

1994 i gener del 2002 amb CaP localitzat que van ser tractats amb prostatectomia radical o bé seguits amb observació i intervencions pal·liatives, però no curatives. Les diferències en mortalitat per qualsevol causa entre un i altre grup van ser menors a 6 punts després de 20 anys de seguiment, mentre que van ser menors a 4 punts pel que fa a la mortalitat específica per CaP. Els autors, a més, indiquen que la cirurgia podria associar-se amb una menor mortalitat que l'observació en el grup d'homes amb un CaP amb un risc de progressió intermedi segons la classificació de D'Amico, amb una diferència de 14,5 punts, però no entre els que, segons aquesta mateixa classificació, tenen un baix risc (amb una diferència de 0,7 punts) o un alt risc de progressió (amb una diferència de 2,3 punts).

Aquestes dades suggereixen que els esforços d'un programa de diagnòstic precoç del CaP haurien de dirigir-se a detectar els tumors amb un risc intermedi de progressió. De fet,

l'elevada incidència de tumors amb un baix risc de progressió és una de les raons que expliquen la poca o nul·la diferència que han mostrat els estudis de cribratge del CaP basat en la mesura de la concentració de l'antigen específic de la pròstata (PSA). El CaP és doncs una malaltia molt heterogènia que inclou tumors indolents. Hi ha diferents sistemes de classificació dels pacients amb CaP segons el seu pronòstic, de les quals la classificació de D'Amico és probablement la més estesa (5). Totes elles reconeixen un baix risc de progressió quan la concentració de PSA és inferior a 10 µg/L i quan el grau de Gleason del tumor és 6 o menor. De fet, diversos treballs posen en qüestió si els tumors amb un grau de Gleason 6 haurien de ser etiquetats com a càncer (6), encara que les dades disponibles són contradictòries (7).

En qualsevol cas, la vigilància activa ha estat proposada com una manera d'evitar els problemes derivats del sobretractament del CaP (8). Els protocols de vigilància activa ofereixen un seguiment controlat del pacient i posposen el tractament fins al moment en què es constata la progressió del tumor. Els pacients són seleccionats en relació a diferents variables que inclouen una concentració de PSA inferior a 10 µg/L, un grau de Gleason inferior a 7 i un baix nombre de cilindres afectats pel tumor.

La utilitat dels nous biomarcadors en el diagnòstic del CaP haurà de ser valorada no tan sols per la seva sensibilitat i per millorar l'especificitat del PSA, sinó també per la relació amb l'agressivitat del tumor. En el curs dels últims anys s'han proposat diversos biomarcadors (taula 1) que semblen complir aquests objectius. Un d'ells, la determinació d'un panell de 4 cal·licreïnes o *4Kscore*—que combina el PSA i dues de les seves fraccions juntament amb la cal·licreïna humana de tipus 2 o hK2— es presenta ja com una manera de detectar el CaP d'alt risc. També s'ha proposat l'índex de salut prostàtica, conegut com PHI per les seves sigles en anglès, *prostate health index*, que valora el PSA total i dues de les seves fraccions i es relaciona amb l'agressivitat del tumor. Per altra banda, el desenvolupament de la biologia molecular ha permès l'estudi de gens associats amb CaP. Nombrosos treballs han avaluat l'ús del gen *PCA3* en la detecció del CaP, per al qual hi ha un procediment aprovat per la FDA (acrònim de l'anglès *Food and Drug Administration*). Per una altra banda, s'ha estudiat la utilitat del gen de fusió *TMPRSS2:ERG*. En aquest document es revisa l'interès que tenen aquests nous biomarcadors en la detecció i pronòstic del CaP.

2. Biomarcadors relacionats amb el PSA

El PSA, també anomenat cal·licreïna humana de tipus 3, circula en el plasma majoritàriament unit a diverses proteïnes inhibidores de les proteases, especialment a l'alfa-1-antiquimotripsina. Tan sols un petit percentatge, anomenat PSA lliure, circula en el plasma en forma no unida. El percentatge de PSA lliure en relació al PSA total és menor en els pacients amb CaP, raó per la qual ha estat proposat com un biomarcador que permetria millorar els resultats del PSA en la

detecció del CaP. Certament, un percentatge inferior al 10 % es relaciona amb una alta probabilitat de CaP, mentre que la probabilitat és baixa quan el percentatge de PSA lliure és superior al 25 %. En canvi, la incertesa és gran quan el percentatge de PSA lliure està entre el 10 i el 25 %. Igualment, s'han proposat altres estratègies (9) derivades de la mesura de PSA, però que intenten introduir una millora en la seva especificitat (taula 2). Entre elles destaquen la densitat de PSA, que valora la concentració de PSA en relació al volum de la pròstata, els intervals específics per edat i els canvis de la concentració de PSA al llarg del temps, com són la velocitat de PSA i el temps de duplicació de la concentració de PSA. Més recentment, s'han descrit diversos nomogrames que valoren conjuntament la concentració de PSA amb altres variables per predir la presència de CaP. També, per altra banda, s'han observat canvis específics en la glicosilació del PSA que es relacionen amb la presència de CaP.

Finalment, en el curs dels darrers anys, el ventall de biomarcadors per la detecció de CaP s'ha ampliat amb la descripció de diferents isoformes del PSA lliure, com són el PSA benigne (BPSA), el PSA intacte (iPSA) i el proPSA, del qual existeixen diverses formes truncades, que són el [-2], [-4] i [-5, -7] proPSA. Actualment, és possible mesurar amb un equip de reactius comercial la concentració de la fracció [-2] del proPSA, així com la de l'iPSA i la de la cal·licreïna humana de tipus 2. La implementació d'aquestes mesures ha permès la validació de nous índexs que combinen algunes d'aquestes magnituds, com són el PHI i la determinació de 4 cal·licreïnes.

2.1 Índex de salut prostàtica o PHI

El PHI combina la mesura de la concentració de PSA total, PSA lliure i la fracció [-2] proPSA (p2PSA), segons la fórmula $(p2PSA/PSA \text{ lliure}) * \sqrt{PSA \text{ total}}$. La mesura de p2PSA es realitza mitjançant un procediment basat en un immunoassaig específic automatitzat de la companyia Beckman Coulter (Pasadena, CA). El PHI va ser aprovat per la FDA el juny del 2012 per decidir la realització de biòpsia de la pròstata en homes de més de 50 anys, PSA entre 4 i 10 µg/L, i un tacte rectal amb resultat negatiu.

El rendiment diagnòstic de PHI és superior al del PSA i al del percentatge de PSA (% PSA) lliure, amb una àrea sota de la corba de rendiment diagnòstic (ROC) d'entre 0,703 i 0,770 segons una metaanàlisi publicada per Filella i Giménez l'any 2013 (10). Les àrees sota la corba documentades en aquesta metaanàlisi per PSA i % PSA lliure van ser de 0,50-0,66 i 0,53-0,77, respectivament. Resultats semblants han estat documentats més recentment per una altra metaanàlisi que abasta 8 estudis en què es comparen PHI i % PSA lliure en 2969 pacients amb PSA entre 2 i 10 µg/L, obtenint àrees sota la corba de 0,74 i 0,63, respectivament (11). Addicionalment, segons un estudi realitzat a França, un model diagnòstic vertebrat en la mesura de PHI, malgrat el preu per determinació proper als 50 €, tindria uns costos econòmics només discretament superiors (528 €) al model de detecció de CaP basat en la mesura de PSA (514 €). L'estudi mostra un

benefici clínic significatiu, de manera que, quan s'utilitza PHI, el valor predictiu positiu augmenta en 13,9 punts i el valor predictiu negatiu en 31,6 punts (12).

Per altra banda, PHI es relaciona amb l'agressivitat del tumor, de manera que s'observen valors més elevats en pacients amb un grau de Gleason 7 o superior. Loeb *et al.* (13) han avaluat la capacitat de PHI de predir un grau de Gleason 7 o superior en una sèrie de 658 pacients amb PSA entre 4 i 10 µg/L. En aquest estudi, quan s'utilitza un valor discriminant de PHI de 28,1, els autors obtenen una àrea sota la corba de 0,707, una sensibilitat del 95 % i una especificitat del 27,4 %. Uns valors discriminants de 4,1 µg/L per PSA, i de 26,3 % per % PSA lliure, que corresponen a una sensibilitat del 95 %, van permetre obtenir una especificitat del 4,7 % i 10,8 %, respectivament. Igualment, de la Calle *et al.* (14) han subratllat que el valor de PHI s'associa significativament a un grau de Gleason 7 o superior, amb una àrea sota la corba de 0,815.

Més recentment, Dolejsova *et al.* (15) han indicat que PHI té la millor àrea sota la corba (0,7496) per definir grups segons el grau de Gleason obtingut després d'analitzar la peça quirúrgica obtinguda en la prostatectomia radical. Per la seva banda, Maxeiner *et al.* (16) han descrit la capacitat de PHI per predir l'aparició de recidiva bioquímica en una sèrie de 437 pacients tractats amb prostatectomia radical, dels quals 87 van patir una recidiva bioquímica. Aquests dos treballs, que es basen en l'estudi de la pròstata sencera o en l'aparició de recidiva bioquímica després del tractament quirúrgic, afegeixen més certesa en l'associació entre PHI i l'agressivitat del tumor. Aquestes dades suggereixen que PHI podria ser una determinació útil per decidir si els pacients amb CaP requereixen un tractament radical (prostatectomia, radioteràpia) o bé si poden ser inclosos en programes de vigilància activa.

Diversos treballs han relacionat PHI amb el volum de la pròstata. Així, Filella *et al.* (17) documenten diferències en les àrees sota la corba per PHI obtingudes en funció del volum de la pròstata, mostrant àrees de 0,818, 0,716 i 0,654 per pacients amb volums de <36, 36-50 i >50 cc, respectivament. En aquest sentit, Tosoian *et al.* (18) han subratllat que la densitat de PHI permetria millorar els resultats obtinguts no només amb el % PSA lliure, sinó també en relació a PHI. Així, les àrees sota la corba documentades per aquest grup van ser de 0,84 per la densitat de PHI, 0,75 pel % PSA lliure i 0,76 per PHI.

2.2 Determinació de 4 cal·licreïnes

La determinació de 4 cal·licreïnes inclou la mesura de 4 biomarcadors relacionats amb el PSA: PSA total, PSA lliure, PSA intacte (iPSA) i l'hK2 que té una elevada homologia amb el PSA. El procediment ha estat comercialitzat per Opko Diagnostics (Woburn, MA) amb el nom de 4Kscore amb l'objectiu de detectar un CaP d'alt risc (és a dir, amb un grau de Gleason 7 o superior) (19, 20). Aquest índex inclou, a més de les mesures dels biomarcadors esmentats, informació sobre

l'edat del pacient, el tacte rectal i l'existència d'una biòpsia negativa prèvia. L'objectiu de la determinació és, per tant, reduir el sobrediagnòstic del CaP, oferint biòpsia només als pacients amb un risc elevat de tenir un CaP d'alt grau. Aquest índex no disposa de l'aprovació de la FDA, però les mesures són realitzades en un laboratori amb el certificat CLIA (acrònim de *Clinical Laboratory Improvement Amendments*).

Les mesures d'iPSA i hK2 són realitzades en un analitzador AutoDelfia (Perkin Elmer) mitjançant un procediment basat en la fluorescència a temps retardat, mentre que les mesures de PSA total i lliure són realitzades mitjançant electroquimioluminiscència en un analitzador Cobas (Roche).

La determinació de 4 cal·licreïnes millora els resultats obtinguts amb l'ús del PSA per predir l'existència de CaP, segons mostren diversos treballs realitzats en poblacions de diversos països europeus incloses en un programa de cribatge i liderades per Hans Lilja i Andrew Vickers, del Centre de Càncer Memorial Sloan Kettering (*Memorial Sloan Kettering Cancer Center*) de Nova York. Aquests estudis mostren àrees sota la corba que van de 0,793 a 0,870 quan es valora la capacitat de detectar un CaP d'alt risc. Addicionalment, els autors d'aquests estudis indiquen que, quan s'inclou el resultat del tacte rectal, les àrees sota la corba van del 0,798 a 0,903 (21-26).

Un estudi multicèntric i prospectiu realitzat als Estats Units l'any 2015 confirmava els resultats obtinguts prèviament en els estudis retrospectius citats anteriorment (27). L'estudi, que incloïa 1012 pacients sotmesos a biòpsia prostàtica, indica que 4Kscore permet detectar els pacients amb un CaP d'alt risc amb una àrea sota la corba de 0,821. Els autors també subratllen que utilitzant un valor discriminant del 6 % es podrien evitar el 60 % de les biòpsies i tan sols es deixaria de diagnosticar l'1,3 % de CaP d'alt risc. Resultats semblants han estat publicats per Braun *et al.* (28) en una cohort de 749 pacients seleccionats per biòpsia per un PSA igual o superior a 3,0 µg/L, un % PSA lliure igual o menor al 20 % o un tacte rectal sospitós. D'acord amb aquest grup, es podria evitar el 17 % de les biòpsies usant un valor discriminant del 6 %, mentre que es deixaria de detectar un 3,8 % dels pacients amb CaP d'alt risc. L'àrea sota la corba reportada en aquest estudi fou de 0,784.

Un estudi prospectiu espanyol que incloïa 51 pacients sotmesos a biòpsia prostàtica per sospita de CaP va mostrar que un valor discriminant del 9 % de 4Kscore permetia detectar tots els CaP d'alt grau, amb un estalvi en biòpsies del 22 % (29). L'àrea sota la corba obtinguda en aquest estudi va ser de 0,794. L'estudi, d'altra banda, compara els resultats obtinguts amb 4Kscore amb els que s'obtenen amb el Calculador de Risc 4 de la Recerca Europea del Cribatge de Càncer de Pròstata (*European Research Screening Prostate Cancer-Risk Calculator 4*), que combina PSA i dades clíniques. L'àrea sota la corba per aquest calculador va ser discretament superior, de 0,807. Els autors assenyalen igualment que, utilitzant aquest calculador, per un valor discriminant del 3 % s'estalviaven el 39 % de les biòpsies, mentre que es detectaven tots els tumors d'alt risc.

Altres treballs destaquen la capacitat de 4Kscore per predir l'aparició d'un CaP al cap dels anys. Així, la seva mesura en homes de 50 i 60 anys permet diferenciar dos grups amb un risc diferent de desenvolupar metàstasis al cap de 20 anys (30). Aquests resultats suggereixen que la mesura de 4Kscore al voltant dels 50 anys pot ajudar a personalitzar les determinacions a realitzar en un programa de cribratge de CaP.

2.3 Nomogrames basats en la mesura de PSA

Els nomogrames són representacions gràfiques d'una funció matemàtica amb un elevat nombre de variables, que es basen en una anàlisi de regressió logística multivariada. Els nomogrames utilitzats per predir l'existència d'un CaP combinen variables demogràfiques, clíniques i bioquímiques, incloent l'edat del pacient, la història familiar de CaP, l'existència de biòpsies negatives prèvies, el tacte rectal, el volum de la pròstata i la concentració en plasma de PSA. El calculador de l'Estudi Europeu Randomitzat del Cribratge pel Càncer de Pròstata (*European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer*, ERSSPC) (<http://www.prostatecancer-riskcalculator.com/>) és probablement un dels més utilitzats i permet calcular el risc de tenir un CaP en funció de diferents models que abasten un nombre de variables diferent, que van des de tan sols variables demogràfiques i clíniques fins a models més complexos que inclouen PSA, tacte rectal i volum de la pròstata. El calculador de l'ERSSPC ofereix informació no tan sols sobre la probabilitat de tenir un CaP, sinó també sobre la probabilitat de tenir un CaP clínicament significatiu, definit com un estadi superior a T2b (el tumor afecta més de la meitat d'un lòbul de la pròstata) o un grau de Gleason 7 o superior.

Actualment, el calculador de l'ERSSPC també permet incloure el resultat de PHI. En aquest sentit, Roobol *et al.* (31) han demostrat que l'addició de PHI al calculador de risc de l'ERSSPC permet millorar l'àrea sota la corba obtinguda de 0,65 a 0,72. Altres treballs han suggerit també l'interès d'afegir PHI per millorar la capacitat de predicció dels models multivariats. Lughezzani *et al.* (32) han desenvolupat un nomograma que incorpora PHI després d'analitzar els resultats procedents de 729 pacients als quals es va practicar biòpsia a causa d'una concentració alta de PSA o un tacte rectal sospitosos. L'addició de PHI a un model basat en edat, volum de la pròstata, tacte rectal i biòpsies anteriors va permetre augmentar l'àrea sota la corba de 0,73 a 0,80. De forma semblant, Filella *et al.* (33) han reportat un augment de l'àrea sota la corba de 0,762 a 0,815 quan PHI i el percentatge de p2PSA (% p2PSA) s'afegeixen a un model base que incloïa edat, volum de la pròstata, PSA total i % PSA lliure. Més recentment, Loeb *et al.* (34) han subratllat la utilitat de PHI dins d'un model multivariat per detectar CaP agressiu, enfocat a millorar la gestió d'aquesta malaltia reduint l'actual nombre de sobrediagnòstics.

2.4 Glicoformes del PSA

Les cèl·lules tumorals presenten diversos canvis en l'estructura dels seus glicans en comparació amb les cèl·lules sanes. Aquests canvis es poden relacionar amb diversos processos, incloent canvis en l'expressió de les glicosil-transferases o les xaperones responsables del plegament de les glicoproteïnes i glicosil-transferases, en l'expressió de glucosidases o de l'activitat de transportadors cel·lulars de monosacàrids (35, 36).

Els avenços tecnològics en espectrometria de masses han permès la identificació de diferents glicoformes de PSA que ajudarien a millorar la seva especificitat i a discriminar millor entre els càncers agressius i els indolents. En l'actualitat s'han descrit una cinquantena de glicoformes del PSA però poques s'han trobat en CaP agressiu. Les dues alteracions més freqüents i documentades de la molècula de PSA són la fucosilació del nucli (addició de fucosa al residu N-acetilglucosamina més intern del glicà) i un increment de la sialització, concretament de la concentració l' α 2,3-àcid siàlic (37).

Llop *et al.* (38) reportaren que el percentatge d' α 2,3-àcid siàlic associat a PSA (establint com a punt de tall un 30 %) pot ajudar a discriminar els pacients amb CaP d'alt risc d'aquells amb un risc baix-intermedi i dels pacients amb hiperplàsia benigna de pròstata (HBP), amb una sensibilitat i una especificitat del 85,7 i 95,5 %, respectivament. A més, el percentatge d' α 2,3-àcid siàlic també es relaciona amb el grau de Gleason, podent ser utilitzat per millorar l'estratificació del risc.

Més recentment, Zhang C *et al.* (39) publicaren un estudi (realitzat a una cohort de 543 pacients diagnosticats de CaP o HBP) en el que conclou que una concentració alta d'àcid siàlic es comporta com un predictor independent de CaP (establint com a punt de tall una concentració superior a 52,35 mg/dL, HR = 1,645, p = 0,036) i del desenvolupament de metàstasis òssies (establint com a punt de tall una concentració superior a 59 mg/dL, HR = 6,421, p = 0,012)

L'increment de la fucosilació del nucli també s'ha detectat en pacients amb CaP i està relacionat amb la progressió del tumor i amb el grau de Gleason. Exerceix un paper fonamental la fucosiltransferasa 8 (FUT8), l'expressió de la qual està augmentada en els pacients amb CaP d'alt grau o amb metàstasi (37). El seu increment també s'ha relacionat amb el desenvolupament de la resistència a la castració, la supervivència cel·lular i la disminució de la producció de PSA (40). Tanmateix però, una disminució de la fucosilació del nucli en pacients amb CaP en comparació amb pacients amb HBP també ha estat reportada en algun estudi (38).

Un estudi recent de Rinivasan *et al.* (41) explica l'existència d'un polimorfisme d'un únic nucleòtid en el cromosoma 19q13.3, que estaria relacionat amb la patogènesi del CaP, concretament amb un canvi o una alteració de la glicosilació del PSA, afectant l'estabilitat, activitat i funció de la glicoproteïna i alterant el quocient de PSA lliure/PSA total. El

polimorfisme descrit (rs61752561), es produeix per una substitució d'un aminoàcid (Asp84Asn) en l'exó 3 del gen *KLK3* (acrònim de l'anglès *kallikrein-related peptidase3*) que codifica la molècula de PSA, canvi pel qual s'altera l'estructura conformacional de la molècula, generant-se un lloc de glicosilació extra. La variant de PSA resultant té capacitat per estimular la proliferació i migració de les cèl·lules prostàtiques tumorals.

Els estudis referenciats mostren que els glicans estan implicats en diferents aspectes del CaP, constituint uns bons biomarcadors clínics tant pel que fa al diagnòstic, com a l'estratificació del risc i al pronòstic d'aquest tipus de tumor. Un altre aspecte, però, a considerar és la dificultat que existeix actualment de mesurar aquests glicans tant en plasma com en orina. La majoria dels autors utilitzen procediments basats en lectines, però també s'han utilitzat la cromatografia líquida d'alta resolució, l'electroforesi capil·lar i l'espectrometria de masses, soles o en combinació, per la detecció de les diferents glicofomes de PSA (42).

3. Diagnòstic molecular del CaP

3.1 *PCA3*

El gen *PCA3*, anomenat inicialment Differential Display Code 3 (*DD3*), s'expressa com un RNA no codificant llarg que va ser identificat l'any 1999 per Bussemakers *et al.* (43) els quals observaren la seva freqüent sobreexpressió —entre 60 i 100 vegades— en tumors de pròstata en comparació amb el teixit prostàtic sa. Estudis recents han mostrat que *PCA3* també se sobreexpressa en pacients amb leucèmia limfàtica crònica (44).

PCA3 és un gen compost per 4 exons i 3 introns, situat en la zona cromosòmica 9q21-22. Dades recents mostren que les majors diferències entre teixit tumoral i teixit control s'observen als encebadors (*primers* en anglès) que amplifiquen els exons 3-4 ($p = 0,007$). En canvi, les diferències per *primers* que amplifiquen els exons 2-3 o 1-2 són menors ($p = 0,012$) o no significatives ($p = 0,099$) (45). El gen *PCA3* està inserit en una regió intrònica del gen supressor de tumors *PRUNE2*, de manera que en regula negativament l'expressió i per tant, quan està sobreexpressat, pot accelerar la proliferació cel·lular i la capacitat de migració de les cèl·lules tumorals (46).

Nombrosos estudis han mostrat la utilitat d'estudiar la sobreexpressió del gen *PCA3* en l'orina de pacients amb sospita de CaP, amb l'objectiu d'orientar sobre la necessitat o no de realitzar una biòpsia. Aquest estudi es realitza mesurant, mitjançant la reacció en cadena per la polimerasa (PCR) quantitativa, els RNA missatgers dels gens *PCA3* i *KLK3* (gen que codifica el PSA) en una mostra d'orina obtinguda després de realitzar un massatge prostàtic. La mesura del RNA missatger del gen que codifica el PSA permet normalitzar els resultats de *PCA3*, perquè el gen *KLK3* s'expressa de manera uniforme en totes les cèl·lules prostàtiques, siguin tumorals o

no. Addicionalment, la mesura del RNA missatger de *KLK3* permet distingir les mostres que tenen un contingut suficient en cèl·lules prostàtiques, mentre es descarten per poc fiables les que tenen un baix contingut de RNA missatger del gen *KLK3*. La determinació va ser aprovada per la FDA l'any 2012 amb l'objectiu de decidir la repetició de la biòpsia en aquells homes amb biòpsia prèvia negativa. L'equip de reactius ProgenSA *PCA3*[®], que comercialitza Hologic (Marlborough, MA, EUA), automatitza bona part del procés analític i permet l'ús d'un valor discriminant uniforme per part dels diversos centres, encara que hi ha polèmica sobre quin és el valor discriminant més adequat. La FDA recomana un valor discriminant de 25, mentre que probablement el més utilitzat és 35, encara que hi ha autors que suggereixen que convindria utilitzar un valor discriminant inferior a 25 per obtenir una sensibilitat propera al 100 %.

Una revisió sobre el significat clínic de la determinació de *PCA3* publicada el 2013 mostrava que la seva sensibilitat anava del 47 al 86,5 %, amb una especificitat d'entre el 33 i el 79 % (47). Una metaanàlisi publicada per Cui *et al.* (48) l'any 2016 que revisava 46 estudis i incloïa un total de 12 295 pacients obtenia una sensibilitat acumulada de 0,65 i una especificitat acumulada de 0,73, mentre l'àrea sota la corba era de 0,75. Les diferències de resultats entre els estudis publicats són en bona part causades per l'ús de diferents valors discriminants. Amb l'ús d'un valor discriminant de 35 es perden un nombre important de pacients amb CaP, una part dels quals tenen un tumor agressiu i per tant requereixen un tractament radical. Utilitzant un valor discriminant més baix s'evitaria la pèrdua d'aquests casos. Crawford *et al.* (49) mostren, en un estudi que inclou 1 962 pacients amb PSA superior a 2,5 µg/L o tacte rectal positiu, que usant *PCA3* amb un valor discriminant de 10 es pot reduir el nombre de falsos positius en un 35,8 %, mentre que el percentatge de falsos negatius augmenta només en un 5,6 %, més de la meitat dels quals són tumors amb un grau de Gleason 6. En canvi, per un valor discriminant de 35, si bé el nombre de biòpsies es reduiria de 1 089 a 248, el nombre de càncers deixats de diagnosticar augmenta fins a 413. En aquest mateix sentit, Roobol *et al.* (50) han mostrat que la sensibilitat de *PCA3* és del 68 %, 84 %, i 97 %, respectivament per a valors discriminants de 35, 20 i 10.

L'estudi publicat per Crawford *et al.* (49) mostra, per altra banda, que tan sols es detecta un CaP en 86 dels 114 pacients amb un índex de *PCA3* superior a 100. Aquest és un altre dels aspectes polèmics d'aquesta determinació. Malgrat que les dades inicials suggerien que *PCA3* se sobreexpressa de manera específica en CaP, les dades clíniques mostren que són molts els pacients en què no es detecta un CaP tot i tenir valors molt elevats de *PCA3*. A una conclusió similar arriben Schröder *et al.* (51) malgrat realitzar en el seu estudi esforços significatius encaminats a detectar el tumor en aquest grup de pacients amb *PCA3* superior a 100.

La relació de *PCA3* amb l'agressivitat del tumor és un darrer motiu de controvèrsia entre els diferents estudis. Merola *et al.* (52) troben una correlació de *PCA3* amb el grau de Gleason usant un valor discriminant de 51. En canvi, Foj *et al.* (53),

mesurant *PCA3* mitjançant una PCR amb primers que amplifiquen els exons 2-3 i 3-4, documenten que no hi ha correlació entre els valors de *PCA3* i el grau de Gleason o l'estadi clínic del tumor. De forma interessant en referència a aquesta polèmica, recentment Alshalalfa *et al.* (54) han destacat la baixa expressió tissular de *PCA3* en tumors amb un grau de Gleason elevat, observant, a més, que la baixa expressió tissular de *PCA3* en mostres obtingudes de prostatectomia radical està associada amb una major probabilitat de recurrència i de progressió metastàtica.

3.2 Gen de fusió *TMPRSS2:ERG*

El gen de fusió *TMPRSS2:ERG* es forma com a conseqüència d'un reordenament del cromosoma 21 en què es juxtaposa el promotor de la regió 5' del gen *TMPRSS2* (acrònim de l'anglès *transmembrane protease serine 2*) a l'oncogen *ERG* (acrònim de *v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog*). La seva presència és freqüent en el CaP (55) i causa la sobreexpressió d'*ERG* en resposta als andrògens, ja que el gen *TMPRSS2* té elements de resposta a aquesta hormona en la seva regió promotora. Dades recents indiquen que *TMPRSS2:ERG* augmenta l'expressió de diferents marcadors d'activitat osteoblàstica, com la cadena alfa 1 del col·lagen de tipus I i la fosfatasa alcalina. Aquest procés millora la supervivència i la capacitat de proliferar de les cèl·lules tumorals a l'aprofitar millor el microambient ossi, de manera que s'afavoreix el desenvolupament de lesions osteoblàstiques (56).

El gen de fusió *TMPRSS2:ERG* pot ser detectat en l'orina de pacients amb CaP obtinguda després d'un massatge prostàtic mitjançant procediments basats en la PCR quantitativa que mesuren el seu RNA missatger en relació al RNA missatger del PSA (57). El RNA missatger del PSA permet normalitzar els resultats i, a la vegada, valorar si la mostra és o no informativa. El nombre de còpies de RNA missatger del PSA serà baix en cas d'haver-hi poc material cel·lular i per tant, en aquests casos, caldrà analitzar una nova mostra. El gen de fusió *TMPRSS2:ERG* també es pot detectar mitjançant el sistema QuantStudio 3D Digital PCR (ThermoFisher) que permet quantificar concentracions d'àcid nucleic en nombre de còpies/ μ L.

Un estudi multicèntric prospectiu realitzat a Holanda amb 443 pacients documenta que l'anàlisi conjunta de *TMPRSS2:ERG* i *PCA3* permet augmentar el valor predictiu obtingut amb el calculador de risc de CaP *European Research Screening Prostate Cancer-Risk Calculator*, basat en variables clíniques i de laboratori, de manera que l'àrea sota la corba augmentava de 0,799 a 0,842 (58). Els autors, a més, indiquen que *TMPRSS2:ERG* es relaciona amb el grau de Gleason, cosa que no observen per *PCA3*. De forma semblant, Vetterlein *et al.* (59) documenten la capacitat de *TMPRSS2:ERG* per discriminar pacients amb CaP amb grau de Gleason inferior a 7 de pacients amb CaP amb grau de Gleason 7 o superior, amb una àrea sota la corba de 0,73.

4. Conclusions

A hores d'ara l'ús del PSA per la detecció precoç del CaP segueix sent un motiu de polèmica (60, 61). La biòpsia, de fet, és positiva en el 25 % dels pacients amb una concentració alta de PSA, mentre que es detecten tumors en pacients amb PSA menor a 4 μ g/L. Els pacients amb una elevació persistent del PSA en plasma i biòpsia negativa continuen sent un veritable problema sanitari que presenta la dificultat de decidir en quins pacients i fins quin moment cal anar repetint la biòpsia. Addicionalment, la implementació del PSA ha significat el diagnòstic d'un gran nombre de tumors amb un molt baix risc de progressió, amb els conseqüents problemes de sobrediagnòstic i sobretractament.

La necessitat de disposar de biomarcadors més específics i relacionats amb l'agressivitat del tumor és més que evident. Actualment, diverses guies clíniques recullen la utilitat de *PCA3*, PHI i 4Kscore en la detecció precoç del CaP. La Guia clínica de l'Associació Europea d'Urologia (*European Urology Association*) (62) indica que PHI i la determinació de 4 cal·licreïnes poden permetre reduir el nombre de biòpsies innecessàries i que millora la utilitat del % PSA lliure. També assenyalen que PHI i la determinació de 4 cal·licreïnes tenen una eficàcia semblant.

De forma semblant, la guia clínica de la Xarxa Nacional Integral del Càncer (*National Comprehensive Cancer Network, NCCN*) indica que un % PSA lliure menor al 10 %, un PHI superior a 35 i un 4Kscore informen sobre la necessitat de realitzar una biòpsia. Igualment, aquesta guia assenyalen que un índex de *PCA3* > 35 suggereix la necessitat de repetir la biòpsia en pacients amb una biòpsia negativa prèvia (63).

Les dades disponibles que s'han ressenyat en aquest document mostren l'interès dels biomarcadors que s'han revisat per al diagnòstic precoç del CaP. A més, els resultats publicats documenten que PHI i la determinació de 4 cal·licreïnes es relacionen amb l'agressivitat del tumor. Un programa d'investigació que permeti referendar aquestes dades hauria d'ajudar a discernir quin és el valor discriminant més adequat per cada un d'aquests nous biomarcadors. Per altra banda, es necessiten nous estudis que comparin aquests marcadors en la detecció i pronòstic del CaP, ja que les dades disponibles en aquest sentit són escasses (64-68). Finalment, a causa dels bons resultats que està oferint la ressonància magnètica nuclear serà necessari valorar la seva complementarietat amb els marcadors tumorals descrits en aquesta revisió. Òbviament, el desenvolupament de la biologia molecular oferirà en un futur proper nous biomarcadors, com els miRNAs, sobre els quals, en aquest moment, disposem de resultats inicials, però prometedors.

Taula 1. Nous biomarcadors per la detecció i pronòstic del càncer de pròstata

Biomarcador/ Determinació	Tipus de mostra	Utilitat	Aprovat per FDA
PSA	Sèrum, plasma	Detecció precoç	Sí
PHI	Sèrum, plasma	Detecció precoç Rebiòpsia Pronòstic	Sí
4Kscore	Sèrum, plasma	Detecció precoç Rebiòpsia Pronòstic	No
Índex de <i>PCA3</i> (<i>PCA3</i> score)	Orina	Rebiòpsia	Sí
miRNAs	Sèrum, plasma i orina	Detecció precoç Pronòstic	No
<i>TMPRSS2-ERG</i>	Orina	Rebiòpsia Pronòstic	No
Glicans (% sialització, fucosilació del nucli)	Sèrum, plasma i orina	Diagnòstic Estratificació risc Pronòstic	No

Taula 2. Descripció de diverses determinacions derivades del PSA per la detecció del càncer de pròstata

Determinació	Descripció
Velocitat de PSA	Increment de la concentració de PSA al llarg del temps, mesurat en µg/L per any
Temps de duplicació de la concentració de PSA	Número de mesos que la concentració de PSA tarda en duplicar-se
Densitat de PSA	Concentració de PSA en relació al volum de la pròstata
Intervals de PSA segons l'edat del pacient	Límit de referència de la concentració de PSA específics per l'edat del pacient
% PSA lliure	Percentatge de PSA lliure en relació al PSA total
Nomogrames	Representacions gràfiques basades en una anàlisi de regressió logística multivariada que inclouen diverses variables demogràfiques (edat), clíniques (tacte rectal, volum de la pròstata, antecedents familiars de càncer de pròstata) i bioquímiques (PSA)
Glicofomes del PSA	Canvis en la glicosilació del PSA

Referències

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, *et al.* Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. *Eur J Cancer* 2018;103:356-87.
2. Pla contra el càncer de la Generalitat de Catalunya 2015-2020. <<https://scientiasalut.gencat.cat/handle/11351/1685>>. (Accés 2019-11-28).
3. Klotz L. Low-risk prostate cancer can and should often be managed with active surveillance and selective delayed intervention. *Nat Clin Pract Urol* 2008;5:2-3.
4. Wilt TJ, Jones KM, Barry MJ, *et al.* Follow-up of prostatectomy versus observation for early Prostate Cancer. *N Engl J Med* 2017;377:132-42.
5. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, *et al.* Clinical utility of the percentage of positive prostate biopsies in defining biochemical outcome after radical prostatectomy for patients with clinically localized prostate cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:1164-72.
6. Lepor H, Donin NM. Gleason 6 prostate cancer: serious malignancy or toothless lion? *Oncology (Williston Park)* 2014;28:16-22.
7. Reichard CA, Klein EA. Clinical and molecular rationale to retain the cancer descriptor for Gleason score 6 disease. *Nat Rev Urol* 2017;14:59-64.
8. Tosoian JJ, Carter HB, Lepor A, Loeb S. Active surveillance for prostate cancer: current evidence and contemporary state of practice. *Nat Rev Urol* 2016;13:205-15.
9. Filella X, Marcadors tumorals en el càncer de pròstata: del laboratori a la pràctica clínica. *In vitro veritas* 2013;14:58-74.
10. 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.
11. Bruzzese D, Mazzaella C, Ferro M, *et al.* Prostate health index vs. percent free prostate-specific antigen for prostate cancer detection in men with "gray" prostate-specific antigen levels at first biopsy: Systematic review and meta-analysis. *Transl Res* 2014;164:444-51.
12. Mathieu R, Castelli C, Fardoun T, *et al.* Cost analysis of prostate cancer detection including the prostate health index (phi). *World J Urol* 2019;37:481-7.
13. Loeb S, Sanda MG, Broyles DL, *et al.* The prostate health index selectively identifies clinically significant prostate cancer. *J Urol* 2015;193:1163-9.
14. De la Calle C, Patil D, Wei JT, *et al.* Multicenter evaluation of the Prostate Health Index to detect aggressive prostate cancer in biopsy naïve men. *J Urol* 2015;194:65-72.
15. Dolejšova O, Kucera R, Fuchsova R, *et al.* The ability of Prostate Health Index (PHI) to predict Gleason Score in patients with prostate cancer and discriminate Patients between Gleason score 6 and Gleason score higher than 6-A Study on 320 patients after radical prostatectomy. *Technol Cancer Res Treat* 2018;17:1533033818787377.
16. Maxeiner A, Kilic E, Matalon J, *et al.* The prostate health index PHI predicts oncological outcome and biochemical recurrence after radical prostatectomy - analysis in 437 patients. *Oncotarget* 2017;8:79279-88.
17. Filella X, Foj L, Alcover J, Augé JM, Molina R, Jiménez W. The influence of prostate volume in prostate health index performance in patients with total PSA lower than 10 µ g/L. *Clin Chim Acta* 2014;436:303-7.
18. Tosoian JJ, Druskin SC, Andreas D, *et al.* Prostate Health Index density improves detection of clinically significant prostate cancer. *BJU Int* 2017;120:793-8.
19. Punnen S, Pavan N, Parekh DJ. Finding the Wolf in Sheep's Clothing: The 4Kscore is a novel blood test that can accurately identify the risk of aggressive Prostate Cancer *Rev Urol* 2015;17:3-13.
20. Filella X, Foj L. Emerging biomarkers in the detection and prognosis of prostate cancer. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:963-73.
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 Göteborg, Sweden. *BMC Med* 2008;6:19.
22. Vickers A, Cronin A, Roobol M, *et al.* Reducing unnecessary biopsy during prostate cancer screening using a four-kallikrein panel: an independent replication. *J Clin Oncol* 2010;28:2493-8.
23. Vickers AJ, Cronin AM, Roobol MJ, *et al.* A four-kallikrein panel predicts prostate cancer in men with recent screening: data from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer, Rotterdam. *Clin Cancer Res* 2010;16:3232-9.
24. Vickers AJ, Cronin AM, Aus G, *et al.* Impact of recent screening on predicting the outcome of prostate cancer biopsy in men with elevated prostate-specific antigen: data from the European Randomized Study of Prostate Cancer Screening in Gothenburg, Sweden. *Cancer* 2010;116:2612-20.
25. Gupta A, Roobol MJ, Savage CJ, *et al.* A four-kallikrein panel for the prediction of repeat prostate biopsy: data from the European Randomized Study of Prostate Cancer screening in Rotterdam, Netherlands. *Br J Cancer* 2010;103:708-14.

26. Benchikh A, Savage C, Cronin A, *et al.* A panel of kallikrein markers can predict outcome of prostate biopsy following clinical work-up: an independent validation study from the European Randomized Study of Prostate Cancer screening, France. *BMC Cancer* 2010;10:635.
27. Parekh DJ, Punnen S, Sjoberg DD, *et al.* A Multi-institutional prospective trial in the USA confirms that the 4Kscore accurately identifies men with high-grade prostate cancer. *Eur Urol* 2015;68:464-70.
28. Braun K, Sjoberg DD, Vickers AJ, Lilja H, Bjartell AS. A four-kallikrein panel predicts high-grade cancer on biopsy: Independent validation in a community cohort. *Eur Urol* 2016;69:505-11.
29. Borque-Fernando Á, Rubio-Briones J, Esteban LM, *et al.* Role of the 4Kscore test as a predictor of reclassification in prostate cancer active surveillance. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2019;22:84-90.
30. Stattin P, Vickers AJ, Sjoberg 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;68:207-13.
31. Roobol M, Vedder MM, Nieboer D, *et al.* Comparison of two Prostate Cancer Risk Calculators that include the Prostate Health Index. *European Urology Focus* 2015;1:185-90.
32. Lughezzani G, Lazzeri M, Larcher A, *et al.* Development and internal validation of a Prostate Health Index based nomogram for predicting prostate cancer at extended biopsy. *J Urol* 2012;188:1144-50.
33. Filella X, Foj L, Alcover J, Augé JM, Molina R, Jiménez W. The influence of prostate volume in prostate health index performance in patients with total PSA lower than 10 μ g/L. *Clin Chim Acta* 2014;436:303-7.
34. Loeb S, Shin SS, Broyles DL, *et al.* Prostate Health Index improves multivariable risk prediction of aggressive prostate cancer. *BJU Int* 2017;120:61-8.
35. Varki A, Kannagi R, Toole B, Stanley P. Glycosylation changes in cancer. A: Varki A, ed. *Essentials of Glycobiology*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015.
36. Tkac J, Gajdosova V, Hroncekova S, *et al.* Prostate-specific antigen glycoprofiling as diagnostic and prognostic biomarker of prostate cancer. *Interface Focus* 2019;9:20180077.
37. Scott E, Munkley J. Glycans as Biomarkers in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci* 2019;19:20(6).
38. Llop E, Ferrer-Batallé M, Barrabés S, *et al.* Improvement of Prostate Cancer Diagnosis by detecting PSA glycosylation-specific changes. *Theranostics* 2016;6:1190-204.
39. Zhang C, Yan L, Song H, *et al.* Elevated serum sialic acid levels predict Prostate Cancer as well as bone metastases. *Journal of Cancer* 2019;10:449-57.
40. Hoti, N, Yang, S, Hu, Y, Shah, P, Haffner, M.C, Zhang, H. Overexpression of alpha (1,6) fucosyltransferase in the development of castration-resistant prostate cancer cells. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2018;21:137-46.
41. Rinivasan S, Stephens C, Wilson E, *et al.* Prostate cancer risk-associated single-nucleotide polymorphism affects prostate-specific antigen glycosylation and its function. *Clin Chem* 2019;65(1):e1-e9.
42. Filella X, Fernández-Galán E, Fernández R, Foj L. Emerging biomarkers in the diagnosis of prostate cancer. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine* 2018;11:83-94.
43. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, *et al.* DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999;59:5975-79.
44. Sajjadi E, Atashi A, Tajrishi MAMH, Saei Z. Gene expression analysis of noncoding PCA3 gene in patients with chronic myeloid leukemia. *J Cancer Res Ther* 2018;14:1079-82.
45. Wang T, Qu X, Jiang J, *et al.* Diagnostic significance of urinary long non-coding PCA3 RNA in prostate cancer. *Oncotarget* 2017;8:58577-86.
46. Clarke RA, Zhao Z, Guo AY, *et al.* New genomic structure for prostate cancer specific gene PCA3 within BMCC1: implications for prostate cancer detection and progression. *PLoS One* 2009;4(3):e4995.
47. Filella X, Foj L, Milà M, Augé JM, Molina R, Jiménez W. PCA3 in the detection and management of early prostate cancer. *Tumour Biol* 2013;34:1337-47.
48. Cui Y, Cao W, Li Q, *et al.* Evaluation of prostate cancer antigen 3 for detecting prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2016;6:25776.
49. 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;188:1726-31.
50. Roobol MJ, Schröder FH, van Leeuwen P, *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.
51. Schröder FH, Venderbos LD, van den Bergh RC, *et al.* Prostate cancer antigen 3: diagnostic outcomes in men

- presenting with urinary prostate cancer antigen 3 scores ≥ 100 . *Urology* 2014;83:613-6.
52. Merola R, Tomao L, Antenucci A, *et al.* PCA3 in prostate cancer and tumor aggressiveness detection on 407 high-risk patients: a National Cancer Institute experience. *J Exp Clin Cancer Res* 2015;34:15.
53. Foj L, Milà M, Mengual L, *et al.* Real-time PCR PCA3 assay is a useful test measured in urine to improve prostate cancer detection. *Clin Chim Acta* 2014;435:53-8.
54. Alshalalfa M, Verhaegh GW, Gibb EA, *et al.* Low PCA3 expression is a marker of poor differentiation in localized prostate tumors: exploratory analysis from 12,076 patients. *Oncotarget* 2017;8:50804-13.
55. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, *et al.* Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005;310:644-8.
56. Delliaux C, Tian TV, Bouchet M, *et al.* TMPRSS2:ERG gene fusion expression regulates bone markers and enhances the osteoblastic phenotype of prostate cancer bone metastases. *Cancer Lett* 2018;438:32-43.
57. Tomlins SA, Aubin SM, Siddiqui J, *et al.* Urine TMPRSS2:ERG fusion transcript stratifies prostate cancer risk in men with elevated serum PSA. *Sci Transl Med* 2011;3:94ra72.
58. Leyten GH, Hessels D, Jannink SA, *et al.* Prospective multicenter evaluation of PCA3 and TMPRSS2-ERG gene fusions as diagnostic and prognostic urinary biomarkers for prostate cancer. *Eur Urol* 2014;65:534-42.
59. Vetterlein MW, Trinh QD, Chun FKH. Novel non-invasive urine-based gene expression assay discriminates between low- and high-risk prostate cancer before biopsy. *Transl Cancer Res* 2016;5(S2):S286-S289.
60. Filella X, Albaladejo MD, Allué JA, *et al.* Prostate cancer screening: guidelines review and laboratory issues. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:1474-87.
61. Filella X. Towards personalized prostate cancer screening. *Adv Lab Med* (en premsa).
62. 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;71:618-29
63. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Prostate Cancer Early Detection. Version 2.2019, May 2019. <https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/prostate_detection.pdf>. (Accés 2019-11-28).
64. Russo GI, Regis F, Castelli T, *et al.* A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of Prostate Health Index and 4-kallikrein panel score in predicting overall and high-grade prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer* 2017;15:429-39.
65. Nordström T, Vickers A, Assel M, Lilja H, Grönberg H, Eklund M. Comparison between the four-kallikrein panel and Prostate Health Index for predicting Prostate Cancer *Eur Urol* 2015;68:139-46.
66. Scattoni V, Lazzeri M, Lughezzani G, *et al.* Head-to-head comparison of prostate health index and urinary PCA3 for predicting cancer at initial or repeat biopsy. *J Urol* 2013;190:496-501.
67. Stephan C, Jung K, Semjonow A, *et al.* Comparative assessment of urinary prostate cancer antigen 3 and TMPRSS2:ERG gene fusion with the serum [-2]proprostate-specific antigen-based prostate health index for detection of prostate cancer. *Clin Chem* 2013;59:280-8.
68. Vedder MM, de Bekker-Grob EW, Lilja HG, *et al.* The added value of percentage of free to total Prostate-specific Antigen, PCA3, and a kallikrein panel to the ERSPC Risk Calculator for Prostate Cancer in prescreened Men. *Eur Urol* 2014;66:1109-15.