

BÖLÜM 13

PROSTAT KANSERİNDE BİYOBELİRTEÇLER

Selim TAŞ¹
Baran ARSLAN²

GİRİŞ

Erkeklerde en sık tanı konulan kanser prostat kanseridir. Dünyada erkeklerde kansere bağlı ölümlerde ikinci sıradadır. Prostat kanseri için tarama testi olarak Prostat Spesifik Antijen (PSA) kullanılmaktadır. PSA kansere spesifik değildir. Prostat dokusuna spesifik olan PSA, prostat kanseri tanısında gereksiz biyopsilere yol açmaktadır. Bu nedenle son yıllarda PSA'nın türevlerinin kullanımı ve yeni tümör belirteçleri bulmak için çalışmalar yapılmaktadır.

PSA

PSA ile ilgili çalışmalar 1960'lı yıllarda başlasa da insan serumunda ilk defa gösterilmesi 1979 yılında olmuştur. Prostat spesifik antijeni hem normal hem de neoplastik prostat dokusundan sentezlenen insan kallikerin 3 olarak bilinen 237 aminoasitli bir serin proteazdır (1). Molekül ağırlığı 34 kDa olup prostat ductus epiteli ve asinerlerinde proenzim olarak üretilir ve aktif PSA oluşturmak için propeptitin çıkarıldığı lümene salgılanır (2).

TOTAL PSA

Tarihsel süreçte PSA<4 ng/dl olması normal değer olarak kabul görüp bu değer üstündeki değerlerde biyopsi yapılması gerektiği belirtilse de kesin olarak belirlenmiş kanser tanısı koyduracak PSA alt sınırı henüz tanımlanamamıştır. PCPT çalışmasında yapılan biyopsiler incelendiğinde düşük PSA değerlerinde bile prostat kanseri izlenmiştir. Avrupa Üroloji Derneği prostat kanseri kılavuzuna göre normal PSA değeri kabul edilebilecek eşik bir değer olmadığı, ancak genç erkeklerde PSA<2,5-3 ng/mL olması normal değer olarak kabul edilmiştir (3). Ayrıca ilk PSA bakılma yaşı ise 50 olarak önerilmektedir (4). Risk faktörü olanlarda (aile

¹ Dr., SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, drslmtas@hotmail.com

² Dr., SBÜ Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, drbrnarln@gmail.com

öyküsü, genetik mutasyonu vb.) daha erken yaşlarda bakılması önerilir. Yaşa göre normal PSA değerleri değişmekle birlikte normal kabul edilen değerler aşağıda belirtilmiştir (5).

- 5.dekat: 0 - 2,5 ng /mL arası
- 6.dekat: 0 - 3,5 ng / mL arası
- 7.dekat: 0 - 4,5 ng / mL arası
- 8.dekat: 0 - 6,5 ng / mL arası

PSA YÜKSEKLİĞİ NEDENLERİ

PSA yüksekliğinin başlıca ana sebepleri; benign prostat hiperplazisi, prostat kanseri, prostat enfeksiyonu, perineal travma olmakla birlikte daha farklı birçok nedenden dolayı yükselebilir (6). PSA yükselmesinin en sık sebepleri sırasıyla şöyle açıklanabilir:

Benign prostat hiperplazisi (BPH), yüksek serum PSA'nın en sık sebebidir. BPH'da normal prostat dokusundan gram başına daha fazla PSA üretilir. BPH tanılı hastalarda medikal tedavi ile PSA değerinde düşme görülebilir (7).

Prostat kanseri yüksek serum total PSA değerlerinde prostat kanseri her zaman düşünülmelidir. Prostat kanserlerinin birçoğunda serum total PSA değeri yüksek bulunmakla birlikte her zaman artmayabilir.

Aktif enfeksiyonu olan veya olmayan prostatit de yüksek PSA'nın önemli bir nedenidir. Bu nedenle prostatitli olgularda uygun antibiyoterapi verildikten sonra tekrar PSA bakmak faydalı olacaktır (8,9,10).

Herhangi bir perineal travma istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde serum PSA'yı yükseltebilir. Bir dakikalık yapılan prostat masajından 30 dk sonra yapılan PSA ölçümlerinde, masajın total PSA ve serbest PSA düzeylerini kompleks PSA düzeylerinden daha fazla arttırdığını göstermiştir (11). Prostat biyopsisi, sistoskopi, TURP ile mekanik manipülasyon; serum PSA'yı daha belirgin bir şekilde etkileyebilir (12). Cinsel aktivite, şiddetli bisiklet sürme gibi etmenlerin PSA artışına sebep olduğu gösterilmiştir (13,14).

SERBEST PSA

Serumda PSA'nın %5'i serbest olarak bulunur. Yüksek PSA değeri olan hastalarda prostat kanseri saptama duyarlılığını artırmak için serbest PSA bakılmaktadır (16). PSA türevlerinde en yaygın kullanılanı; serbest PSA değeridir. Total PSA değeri 4-10 ng /mL ise, serbest PSA'ya da bakılır. Serbest PSA/Total PSA oranı ne kadar düşükse daha agresif bir prostat kanseri formu ile ilişkilendirilir (16).

Serbest PSA değeri, örnek alındıktan sonraki ilk 8 saat içinde çalışmalıdır. Eğer çalışılmayacak ise örneğin soğuk zincirde saklanması gerekmektedir. Prostatik manipülasyonlar sonrası görülen total PSA'daki artışları büyük oranda serbest PSA artışına bağlıdır. Bu durumlarda PSA'ya 2-3 gün sonra bakılmalıdır (4). Prostat kanseri tanısı almış hastalarda takipte yeri bulunmamaktadır.

Serbest PSA'nın 3 ayrı izoformu bulunmuştur. Bunlardan B-PSA (BPH-PSA) ve i-PSA (inaktif-PSA) isimli izoformları, BPH'da yükseldiği tespit edilirken, yaklaşık %30 olarak tespit edilen ProPSA ise prostat kanserli vakalarda yüksek saptanmıştır. Yapılan son çalışmalara göre proPSA yüksek gleason skoru ve kapsül dışı uzanımıyla ilişkilendirilmektedir (17).

PSA VELOSİTESİ

PSA velositesi; PSA'nın yıllık artışını gösterir. Prostat kanser izleminde ardışık PSA ölçümlerindeki artmanın diagnostik doğruluğunu gösterir. PSA'daki ılımlı artışlar daha çok kanser riskiyle ilişkilendirilirken, ani artışlar kanserden çok inflamasyonla ilişkilendirilmiştir (18).

PSA DANSİTESİ

PSA Dansitesi; total PSA'nın transrektal ultrasonografi ölçülen prostat volümüne oranıdır (19). Bu ölçüm önemli 2 nedenden dolayı sınırlanmaktadır. Bunlar; prostat volümü ölçümünün kişiden kişiye değişiklik göstermesi ve bireyler arası stroma epitelyum oranında görülen farklılıklardır. PSA dansitesi ile ilgili yapılan çalışmalara göre dansite arttıkça kanser oranı artmaktadır. 773 radikal prostatektomi olgusunun değerlendirildiği çok merkezli bir çalışmada; ameliyat öncesi PSAD < 0,15 olanların %74'ünde histolojik olarak daha iyi, %36'sında daha kötü prognozlu kanser izlenmiştir (20).

PROSTAT SPESİFİK MEMBRAN ANTİJENİ

Prostat spesifik membran antijen (PSMA); folat hidrolaz olup prostat epitel hücrelerinde hücre zarına gömülü halde bulunmaktadır. PSMA hemen hemen sadece prostatta bulunması ve prostat kanserinin her evresinde over ekspresye edilmesi nedeniyle oldukça önemli bir yere sahiptir (21). Prostat kanserli hastaların incelendiği bir çalışmada, PSMA ekspresyonunun biyokimyasal nüksü ön görmede bağımsız bir faktör olduğu ve bu nedenle adjuvan kemoterapi planlanmasında yol gösterici olduğu vurgulanmıştır (22).

PROSTAT KANSER GENİ-3

Prostat kanser geni-3 (PCA3); prostat kanserli dokularda benign dokulardan daha fazla salgılanan, kodlama yapmayan, prostata özgü bir mRNA'dır (23). PCA3, prostat kanserine özgü bir belirteç olup organa değil hastalığa özgüdür. PCA3'ün meme, mesane, testis, mide-bağırsak organı ve kas-iskelet dokusu dahil olmak üzere başka herhangi bir normal insan dokusunda saptanmaması nedeni ile oldukça önemlidir. PCA3 ölçümü ise en az 3 kez yapılan parmakla rektal muayene sonrası idrarda PCA ve PSA mRNA düzeyleri ile ölçülür. Bu ölçüm prostatik manipülasyonlardan ve 5-alfa redüktaz inhibitörü tedavisinden etkilenmemektedir (24).

PCA3 skoru; PCA3 mRNA /PSA mRNA x1000 formülü ile ölçülür (25). PCA3 skoru için eşik değer 35 ng/mL kabul edilmektedir. Değer büyüdükçe pozitif biyopsi oranı artmaktadır. PSA'nın spesifitesi %47 gösterilmişken PCA3 testinin sensitivitesi %66 spesifitesi %77 bulunmuş olup PSA'ya göre anlamlı gelmiştir (26). PCA3 testinin asıl amacı başlangıçta negatif bir biyopsiden sonra tekrar biyopsinin gerekip gerekmediğini belirlemektir (27).

SELECT MDX ÖLÇÜMÜ

SelectMDX testi PCA3 testi gibi idrardan mRNA biyobelirteç izolasyonuna dayanır. HOXC6 ve DLX1 mRNA düzeylerinin varlığı, hem biyopside prostat kanseri varlığı hem de yüksek riskli kanser varlığı riskinin bir tahminini sağlar (28). Yapılan bir çalışmada PSA'sı 3-10 ng/mL olan erkeklerde SelectMDX ve MRG birleştirmenin %93'lük negatif prediktif değeri olduğunu bildirilmiştir (29).

TRANSMEMBRAN PROTEAZ SERİN 2 (TMPRSS2) VE ERG GENİ

Transmembran proteaz serin 2 (TMPRSS2) ve ERG geni prostat kanserli olguların %50 sinde saptanabilir (30). PCA3 ekspresyonuna ve serum PSA'ya idrarda TMPRSS2-ERG tespiti eklendiğinde prostat kanseri saptama oranı arttığı gözlenmiştir (31).

ENDOGLİN

Endoglin ya da CD105; bir transmembran glikoproteindir. Human vasküler endotelial hücreleri tarafından üretilir. Endoglin transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) ve β 3 (TGF- β 3) için bir hücre yüzey ko-reseptörüdür ve endotelial hücre proliferasyonunun erken basamaklarında TGF- β 'ya karşı gelişen hücresel yanıtları düzenler (32). Prostat kanserinde yeni gelişen immatür vasküler dokularda endoglin gösterilmiştir. İmmünohistokimyasal çalışmaların sonucunda, endoglin seviyesi ile hastalığın ilerlemesi arasında bir korelasyon ortaya konulmuştur (33).

GLUTATYON S-TRANSFERAZ 1 (GSTP1)

Glutatyon S-transferaz ailesindeki enzimlerin birçok fonksiyonu mevcuttur. En önemli fonksiyonlarından biri de hücre metabolizması üzerinde, potansiyel zararlı substratların detoksifikasyonudur (34). Yapılan çalışmalarda prostat kanserli doku örneklerinin tamamında GTSP1 geninin düzenleyici dizilerinin tamamının hipermetilasyona uğradığı görülmüştür. Bununla birlikte normal prostat epitelinde artmış GSTP1 ekspresyonu, prostat kanseri epitelinde ise azalmış GTSP1 ekspresyonu izlenmiştir (35). Çalışmalarda prostat kanserli dokuların tespitinde testin duyarlılığı %73, özgül değeri %100 olarak bulunmuştur. GSTP1 hipermetilasyonunun ölçümünün yapılması ile küçük, sınırlı doku örneklerinde dahi prostat kanserinin kesin olarak tanı konulmasını sağlamıştır. Çalışmaların gösterdiği üzere GSTP1 metilasyonunun değerlendirilmesi, prostat kanseri tarama ve tanısında bir tümör belirteci olarak kullanılabilir (36).

HUMAN KALLİKREİN 2 (HK2)

Human kallikrein 2, PSA ile aynı gen ailesinden olup salgılanan bir serin proteazdır. Genetik kodlaması %80 oranında benzerlik gösterir ve her ikisi de primer olarak prostat bezi tarafından üretilir (37). hK2 mRNA kopya üretimi, total PSA'nın yarısı kadar olmasına karşın; prostat dokusu, plazma, semen ve serumdaki seviyeleri total PSA'nın %2'si kadardır (38). hK2 ölçümü ile prostat kanseri olguların ayırımında, serbest ve total PSA ile kombine olarak kullanılmasının tanıya yardımcı olabileceğine dair çeşitli çalışmalar vardır (39, 40). Serum PSA yüksekliği nedeniyle prostat biyopsisi yapılacak hastalarda, hK2'nin üç diğer kallikrein (serbest, total ve intakt PSA) ile birlikte kullanıldığında gereksiz prostat biyopsilerini önlemektedir (41).

Erkeklerin yaşam boyu klinik anlamlı prostat kanseri riski yapılan çalışmalarda yaklaşık %20 olarak gösterilmiştir. hK2 biyobelirtecinin kullanımıyla gereksiz biyopsi sayısının yarı yarıya azalması sağlanmaktadır. Ayrıca yüksek dereceli prostat kanser olgularına %90'nın üzerinde tanı koymaktadır (42).

A METİLASİL KOENZİM A RASMAZ (AMAKR)

5. kromozom üzerinde bulunan AMAKR geni, prostat kanserli dokularda artış göstermektedir (43). Yapılan çalışmalarda prostat kanserinde AMAKR'nin aşırı üretimini göstermişlerdir. Çalışmada prostat biyopsilerinde AMAKR ekspresyonu prostat kanserini %97 duyarlılık ve %100 özgül değer ile tespit edebilmiştir (44).

SONUÇ

Prostat kanserinde tanı ve takibinde günlük pratikte kabul gören test PSA'dır. Yapılan çalışmalarda henüz pratik uygulamalarda prostat kanseri için PSA türevleri kullanılsa da gelecekte kansere özgü biyobelirteçler için çalışmalar gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, et al: Purification of a human prostate specific antigen. Invest Urol 17:159-63, 1979
2. Lilja H, Abrahamsson PA. Three predominant proteins secreted by the human prostate gland. Prostate 1988;12:29- 38.
3. Link, Richard E., et al. Variation in prostate specific antigen results from 2 different assay platforms: clinical impact on 2,304 patients undergoing prostate cancer screening. The Journal of urology, 2004, 171.6 Part 1: 2234-2238.. doi: 10.1097/01.ju.0000127736.86597.e7.
4. MOTTET, Nicolas, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG guidelines on prostate cancer—2020 update. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent. European urology, 2021, 79.2: 243-262. doi.org/10.1016/j.eururo.2020.09.042
5. Partin AW, Criley SR, Subong EN, et al. Standard versus age-specific prostate specific antigen reference ranges among men with clinically localized prostate cancer: A pathological analysis. J Urol. 1996 Apr;155 (4):1336-9. doi.org/10.1016/S0022-5347 (01)66260-8
6. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. J Urol. 1994 May;151 (5):1283-90. doi: 10.1016/s0022-5347 (17)35233-3.
7. Berry SJ, Coffey DS, Walsh PC, et al. The development of human benign prostatic hyperplasia with age. J Urol. 1984 Sep;132 (3):474-9. doi: 10.1016/s0022-5347 (17)49698-4.
8. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. JAMA. 1997 May 14;277 (18):1452-5. 10.1001/jama.1997.03540420048028.
9. Nadler RB, Humphrey PA, Smith DS, et al. Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate specific antigen levels. J Urol. 1995 Aug;154 (2 Pt 1):407-13. doi: 10.1097/00005392-199508000-00023.
10. Dalton DL. Elevated serum prostate-specific antigen due to acute bacterial prostatitis. Urology. 1989 Jun;33 (6):465. doi: 10.1016/0090-4295 (89)90131-3.
11. Kawakami J, Siemens DR, Nickel JC. Prostatitis and prostate cancer: implications for prostate cancer screening. Urology. 2004 Dec;64 (6):1075-80. doi: 10.1016/j.urology.2004.07.017.
12. Tarhan F, Orçun A, Küçükercan I, et al. Effect of prostatic massage on serum complexed prostate-specific antigen levels. Urology. 2005 Dec;66 (6):1234-8. doi: 10.1016/j.urology.2005.06.077.
13. Oesterling JE, Rice DC, Glenski WJ, et al. Effect of cystoscopy, prostate biopsy, and transurethral resection of prostate on serum prostate-specific antigen concentration. Urology. 1993 Sep;42 (3):276-82. doi: 10.1016/0090-4295 (93)90616-i.
14. Crawford ED, Mackenzie SH, Safford HR, et al. The effect of bicycle riding on serum prostate specific antigen levels. J Urol. 1996 Jul;156 (1):103-5. doi: 10.1016/s0022-5347 (01)65954-8.
15. Tchetgen MB, Song JT, Strawderman M, et al. Ejaculation increases the serum prostate-specific antigen concentration. Urology. 1996 Apr;47 (4):511-6. doi: 10.1016/S0090-4295 (99)80486-5.
16. Parker ME. Free PSA for Detecting Prostate Cancer. JAMA. 1998;280 (21):1825. doi:10.1001/jama.280.21.1825
17. Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG, et al. SD. Serum pro-prostate specific antigen preferentially detects aggressive prostate cancers in men with 2 to 4 ng/ml prostate specific antigen. J Urol. 2004 Jun;171 (6 Pt 1):2239-44. doi: 10.1097/01.ju.0000127737.94221.3e.

18. Eggener SE, Yossepowitch O, Roehl KA, et al. Relationship of prostate-specific antigen velocity to histologic findings in a prostate cancer screening program. *Urology*. 2008 Jun;71 (6):1016-9. doi: 10.1016/j.urology.2007.12.008. Epub 2008 Mar 21.
19. Günay LM, Yazıcı S, Özen H. PSA nerden geldi nereye gidiyor? *Bull Urooncol* 2011;10 (2):5-10
20. Catalona WJ, Southwick PC, Slawin KM, et al . Comparison of percent free PSA, PSA density, and age-specific PSA cutoffs for prostate cancer detection and staging. *Urology*, 2000, 56.2: 255-260. doi.org/10.1016/S0090-4295 (00)00637-3.
21. Bjartell A, Montironi R, Berney DM, et al. Tumour markers in prostate cancer II: diagnostic and prognostic cellular biomarkers. *Acta Oncol*. 2011 Jun;50 Suppl 1:76-84. doi: 10.3109/0284186X.2010.531284.
22. Perner S, Hofer MD, Kim R, et al. Prostate-specific membrane antigen expression as a predictor of prostate cancer progression. *Hum Pathol*. 2007 May;38 (5):696-701. doi: 10.1016/j.humpath.2006.11.012. Epub 2007 Feb 22.
23. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, et al. A new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res*. 1999 Dec 1;59 (23):5975-9. PMID: 10606244.
24. 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 Nov;62 (5 Suppl 1):34-43. doi: 10.1016/s0090-4295 (03)00759-3.
25. Horasanlı K, Aydın M. Tekrarlayan prostat muayenelerinde ideal bir çalışma şeması var mı? PCA3 PSA kadar yararlı etkileri? *Bull Urooncol* 2010;9:47-52.
26. Deras IL, Aubin SM, Blase A, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol*. 2008 Apr;179 (4):1587-92. doi: 10.1016/j.juro.2007.11.038. Epub 2008 Mar 4.
27. Nicholson A, Mahon J, Boland A, et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of the PROGENSA® prostate cancer antigen 3 assay and the Prostate Health Index in the diagnosis of prostate cancer: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess*. 2015 Oct;19 (87):i-xxxi, 1-191. doi: 10.3310/hta19870.
28. Van Neste L, Hendriks RJ, Dijkstra S, et al. Detection of High-grade Prostate Cancer Using a Urinary Molecular Biomarker-Based Risk Score. *Eur Urol*. 2016 Nov;70 (5):740-748. doi: 10.1016/j.eururo.2016.04.012. Epub 2016 Apr 20.
29. Lendínez-Cano G, Ojeda-Claro AV, Gómez-Gómez E, et al. Prospective study of diagnostic accuracy in the detection of high-grade prostate cancer in biopsy-naïve patients with clinical suspicion of prostate cancer who underwent the Select MDx test. *Prostate*. 2021 Sep;81 (12):857-865. doi: 10.1002/pros.24182. Epub 2021 Jun 29.
30. Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S, et al. Transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 2005 Oct 28;310 (5748):644-8. doi: 10.1126/science.1117679.
31. Tomlins SA, Day JR, Lonigro RJ, et al. Urine TMPRSS2:ERG Plus PCA3 for Individualized Prostate Cancer Risk Assessment. *Eur Urol*. 2016 Jul;70 (1):45-53. doi: 10.1016/j.eururo.2015.04.039. Epub 2015 May 16.
32. Cheifetz S, Bellon T, Cales C, et al. Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem*. 1992;267 (27):19027-30.
33. Wikstrom P, Lissbrant IF, Stattin P, et al. Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer. *Prostate*. 2002;51 (4):268-75. doi.org/10.1002/pros.10083
34. Jakoby WB. The glutathione S-transferases: a group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*. 1978;46:383-414. doi: 10.1002/9780470122914.ch6.
35. Lee WH, Morton RA, Epstein JI, et al. Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi-class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Nov 22;91 (24):11733-7. doi: 10.1073/pnas.91.24.11733.
36. Harden SV, Guo Z, Epstein JI, et al. Quantitative GSTP1 methylation clearly distinguishes benign prostatic tissue and limited prostate adenocarcinoma. *J Urol*. 2003 Mar;169 (3):1138-42. doi: 10.1097/01.ju.0000049627.90307.4d.

37. Yousef GM, Diamandis EP. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev.* 2001 Apr;22 (2):184-204. doi: 10.1210/edrv.22.2.0424.
38. Shariat SF, Semjonow A, Lilja H, et al. Tumor markers in prostate cancer I: blood-based markers. *Acta Oncol.* 2011 Jun;50 Suppl 1 (Suppl 1):61-75. doi: 10.3109/0284186X.2010.542174.
39. Nam RK, Diamandis EP, Toi A, et al. Serum human glandular kallikrein-2 protease levels predict the presence of prostate cancer among men with elevated prostate-specific antigen. *J Clin Oncol.* 2000 Mar;18 (5):1036-42. doi: 10.1200/JCO.2000.18.5.1036.
40. Becker C, Piironen T, Pettersson K, et al. Discrimination of men with prostate cancer from those with benign disease by measurements of human glandular kallikrein 2 (HK2) in serum. *J Urol.* 2000 Jan;163 (1):311-6.
41. Becker C, Piironen T, Pettersson K, et al. Clinical value of human glandular kallikrein 2 and free and total prostatespecific antigen in serum from a population of men with prostate-specific antigen levels 3.0 ng/mL or greater. *Urology.* 2000;55 (5):694-9. doi.org/10.1016/S0090-4295 (99)00585-3.
42. Vickers AJ, Cronin AM, Aus G, et al. A panel of kallikrein markers can reduce unnecessary biopsy for prostate cancer: data from the European Randomized Study of Prostate Cancer Screening in Goteborg, Sweden. *BMC Med.* 2008;6:19. doi.org/10.1186/1741-7015-6-19
43. Luo J, Zha S, Gage WR, et al. Alpha-methylacylCoA racemase: a new molecular marker for prostate cancer. *Cancer Res.* 2002;62 (8):2220-6.
44. Rubin MA, Zhou M, Dhanasekaran SM, et al. alpha-Methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer. *JAMA.* 2002;287 (13):1662-70. doi:10.1001/jama.287.13.1662.