

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO
Dottorato di Ricerca in Scienze Urologiche

SETTORI SCIENTIFICO-DISCIPLINARI:
Area 06 - Scienze mediche
MED/24 UROLOGIA

TESI DI DOTTORATO

L'espressione del PCA3 in pazienti a rischio di carcinoma della prostata: uno studio prospettico

Coordinatore

Prof. Carlo Pavone

Tutor

Prof. Marco De Sio

Candidato

Dott. Domenico Sorrentino

Ciclo XXIV

Indice	pag. 2
Premessa	pag. 3
Introduzione	pag. 5
Disegno dello studio	pag. 9
Raccolta dei campioni e procedura di analisi	pag. 9
Analisi statistiche	pag. 10
Risultati	pag. 11
Discussione	pag. 12
Conclusioni	pag. 14
Tabelle	pag. 15
Figure	pag. 16
Bibliografia	pag. 17

Premessa

L'adenocarcinoma della prostata (CaP), che ha un tasso di incidenza di 55 casi per 100000 abitanti per anno nei paesi della Comunità Europea, rappresenta il tumore più frequentemente diagnosticato negli individui di sesso maschile.

La biopsia prostatica rimane il gold standard nella diagnosi della malattia pur avendo un'accuratezza diagnostica correlata al numero dei campioni prelevati e risultando negativa approssimativamente nel 40-60% dei casi. In questi ultimi vi è un rischio del 20-40% di riscontrare un CaP alla seconda biopsia. Nonostante la disponibilità e l'impiego del PSA sierico e delle sue varianti, rimane la necessità di individuare ulteriori biomarkers che possano consentire all'Urologo di effettuare una diagnosi precoce e di ridurre il numero di procedure biottiche inutili, con un conseguente vantaggio per il paziente e per l'economia sanitaria, nonché una riduzione delle liste d'attesa. I biomarcatori dovrebbero supportare il PSA, identificando quei pazienti, con prima biopsia negativa, nei quali la più alta probabilità di essere affetti dal CaP, giustificerebbe l'esecuzione della rebiopsia.

L'incidenza del cancro della prostata aumenta con l'età più di qualsiasi altro tipo di cancro . Pertanto, il numero di nuovi casi diagnosticati continua crescere come l'aspettativa di vita della popolazione generale. L' adenocarcinoma della prostata si sviluppa dalle cellule epiteliali del tessuto ghiandolare . La maggior parte dei tumori della prostata (68 %) originano dalla zona periferica , il 24 % origina dalla zona di transizione e l'8 % dalla zona centrale della ghiandola . [1] .

Reperti autoptici indicano che le prime fasi di sviluppo del cancro alla prostata sono state individuate all'interno della

ghiandola individui maschi già a 30 anni di età [2] . Questi dati mostrano che il cancro della prostata è un tumore a lenta crescita che inizia a svilupparsi a circa 30 anni di età e che nel 10% della popolazione maschile occidentale di 50 anni è evidenziabile un tumore ($\geq 0,5$ cc). Da reperti autoptici si stima che il 50 % di tutti gli uomini sulla cinquantina avrà evidenza istologica di carcinoma della prostata , aumentando all' 80 % negli ottantenni [2] . Studi epidemiologici indicano che il cancro alla prostata è una malattia indolente e che la maggior parte degli uomini muoiono col cancro della prostata che per il cancro della prostata. Circa un uomo su ventisei (4 %) morirà di questa malattia [3] .

Nella popolazione maschile occidentale , il cancro alla prostata è diventato un importante problema di salute pubblica . Il naturale invecchiamento della popolazione e l' utilizzo diffusosi del PSA hanno determinato un aumento di diagnosi di CaP organo confinato.

In un maschio sano , la maggior parte del PSA viene escreto nel sistema duttale prostatico mentre solo piccole quantità penetrano nel torrente ematico. Fin dal suo primo utilizzo clinico negli anni Novanta il PSA ha dimostrato di essere uno strumento prezioso per la diagnosi ed il monitoraggio del CaP . Tuttavia il PSA ha una serie di limiti.

Il primo limite è la bassa specificità . Sebbene ampiamente accettato come marcatore tumorale della prostata , il PSA si è rivelato un marcatore organo-specifico ma non specifico per CaP . Come è noto, infatti, I valori del PSA si elevano anche nell'IPB e nella prostatite.

Introduzione

Nei pazienti con valori di PSA sierico tra 3-10 ng / ml , il tasso di biopsie negative è circa il 60-75 % [4] . Sebbene la biopsia della prostata sia considerata il gold standard per la diagnosi del CaP, questa metodica ha dei limiti e presenta complicanze anche gravi [5] . Le biopsie sono considerate non confortevoli dal 38 % degli uomini [6] . Il dolore ed il disagio può essere il risultato delle complicanze frequentemente associate alle biopsie prostatiche come l'ematuria (osservata nel 90 % dei casi) , l'ematochezia (nel 36 % dei casi) e emospermia (nel 13% dei casi) [5] . Inoltre , l'ansia che deriva dall'attesa dei risultati della biopsia è l'evento più stressante per il 65 % degli uomini [8] . Se permane il sospetto di CaP dopo l'iniziale biopsia negativa per livelli persistentemente elevati di PSA sierico ,la rebiopsia prostatica dimostra una detection rate del 10 % - 35 % . Tutto ciò si traduce in un elevato numero di biopsie negative e quindi in ansia per i pazienti falsi positivi.

Il secondo limite della diffusione del dosaggio del PSA è il rischio di sovra-trattamento a causa del maggior numero di diagnosi di CaP . Nonostante che la diagnosi di CaP sia più precoce si assiste solo ad una lieve flessione della mortalità cancro specifica. I risultati di uno studio di screening europeo randomizzato hanno dimostrato che lo screening basato sul PSA ha ridotto la mortalità per cancro alla prostata del 20% [7] . Tuttavia, molti dei tumori della prostata diagnosticati sono clinicamente insignificanti in quanto non rappresenteranno una grave minaccia per la vita. L' aumento del rapporto incidenza / mortalità nella popolazione maschile occidentale indica che gran parte dei tumori diagnosticati sono sovratrattati [7] . Inoltre l'incontinenza l'impotenza gli effetti collaterali della

chirurgia radicale e della radioterapia influenzano negativamente la qualità della vita del paziente .

Tuttavia come conseguenza positiva della diffusione del PSA si assiste ad una riduzione del numero di pazienti con malattia metastatica. Attualmente solo circa il 15-20 % dei CaP di nuova diagnosi si presentano con malattia localmente avanzato o metastatica [8] .

I tassi di sopravvivenza libera da metastasi a 10 anni nei pazienti con malattia localmete avanzata trattati con prostatectomia radicale è solo il 32 % [9] .

Questi dati mostrano il terzo limite del PSA : non può prevedere I CaP localmente per i quali è inferiore la probabilità che un trattamento radicale sia efficace.

Nuovi strumenti sono quindi necessari per la diagnosi e la stadiazione del CaP . Anche se i tumori della prostata sono a crescita lenta rispetto ad altri tumori umani, essi presentano un aggressività molto variabile .

Negli ultimi anni , più comprensione è stata acquisita sulle basi molecolari del CaP attraverso l'individuazione di geni che si ritiene siano rilevanti nell' avvio e nello sviluppo di questa malattia . Inoltre , l'applicazione di biomarcatori cancro della prostata specifici impiegati nella diagnosi e come indicatori prognostici del CaP potrà portare ad identificare quelle forme più aggressive di CaP che non possono essere sottoposte ad una sorveglianza attiva e che guadagnerebbero da un trattamento radicale precoce .

Alcuni derivati del PSA sono stati impiegati per migliorarne la specificità come la velocity, la density etc. Sono necessari esami più accurati, che possano aiutare il clinico a stratificare i pazienti in base al loro rischio di sviluppare il cancro alla prostata , e di identificare coloro che richiedano la ripetizione biopsia prostatica .

Il Prostate Cancer gene 3 (PCA3), anche noto come DD3 è stato identificato nel 1999 da Bussemakers e collaboratori comparando tessuto prostatico sano con tessuto di CaP.

Usando il metodo della trascrittasi inversa reazione a catena della polimerasi dimostrò che il PCA3 risulta essere altamente sovraespresso nel CaP mentre ha una bassa espressione nel tessuto benigno e non è riscontrabile negli altri organi. (10,11)

Il PCA3 è un mRNA non codificante localizzato sul cromosoma 9q21-22 la cui funzione è ignota. (10) Fig. 1

Sapendo che le cellule prostatiche esfoliano nelle urine dopo il massaggio prostatico Hessels eseguì il dosaggio del PCA3 nelle prime urine emesse dopo un'esplorazione rettale condotta eseguendo tre pressioni per lobo con direzione dall'alto in basso e latero-medialmente. L'mRNA del PSA veniva utilizzato per normalizzare il test per il numero di cellule prostatiche presenti nel sedimento urinario. (12)

Nomogrammi e calcolatori di rischio hanno mostrato una migliore accuratezza rispetto al PSA nel predire il risultato della biopsia [13] . L'uso del PCA3 nella pratica clinica resta ancora da definire , le sue indicazioni e valori di cut-off non godono di un unanime consenso . Il suo miglior impiego clinico potrebbe essere la valutazione dell'indicazione alla biopsia nella cosiddetta zona grigia del PSA o nella rebiopsia. Molti Autori suggeriscono che il PCA3 dovrebbe essere inserito nei modelli diagnostici che includono più variabili [14] come il calcolatore del Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT) che è stato aggiornato per includere PCA3 nel calcolo del rischio [15] , ed il nomogramma di Chun et al [16] . Il primo è disponibile online [17] e comprende altri sei variabili accanto PCA3 : razza, età, PSA , la storia familiare , l'esame digitale rettale (DRE) , precedenti biopsie eseguite. Il secondo è stato costruito come un nomogramma che include il PCA3 insieme

ad altre cinque variabili : età , PSA , DRE , precedenti biopsie eseguite ed il volume della prostata . Entrambi sono stati convalidati esternamente in coorti europee [15,18] . Il nostro studio propone un confronto testa a testa tra questi due modelli e viene eseguito in uno scenario clinico di pazienti con valori di PSA in zona grigia (2- 10 ng / ml) .

Disegno dello studio

Questo è stato uno studio prospettico, multicentrico. I rispettivi comitati etici indipendenti, hanno approvato il protocollo di studio, e il consenso informato è stato ottenuto da ciascun paziente. Sono stati esclusi gli uomini con un livello di PSA > 10 ng / ml, che avevano ricevuto una terapia medica nota per influenzare il PSA negli ultimi 6 mesi o quelli ai quali era stato precedentemente diagnosticato CaP. Su tutti gli uomini erano disponibili informazioni su età, PSA totale e percentuale di PSA libero (fPSA %) i livelli, DRE, anomalie all'ecografia transrettale (TRUS), il volume della prostata, storia di una precedente biopsia, anamnesi familiare positiva per CaP e PCA3 score.

Tutti gli uomini sono stati sottoposti ad una biopsia prostatica sistematica, ≥ 12 -cores, diretta lateralmente.

Raccolta dei campioni e procedura di analisi del PCA3

Il fPSA % ed il PSA totale sono stati dosati prima di eseguire una DRE e la TRUS. La raccolta dei campioni di urina è stata effettuata a seguito di un'attenta DRE (tre compressioni per lobo dirette lateromedialmete e dall'alto in basso) come descritto da Groskopf et al. [19] Fig. 2 immediatamente prima della biopsia; I campioni di urina sono stati elaborati e testati per quantificare le concentrazioni di PCA3 - RNA messaggero (mRNA) e PSA - mRNA utilizzando il PCA3 test Progensa (Gen-Probe, San Diego, CA, USA). Il punteggio del PCA3 è stato calcolato come mRNA PCA3 o PSA mRNA X 1000. I campioni bioptici sono stati valutati da un patologo esperto in ogni sede.

Analisi statistiche

Il calcolo del rischio secondo il PCPT è stata effettuato utilizzando la formula disponibile [15]. Il nomogramma di Chun è stato stimato individualmente utilizzando il nomogramma pubblicato [16]. Le variabili continue sono riportate come mediana ed intervallo interquartile (IQR) ; le variabili categoriche sono riportate come numero di occorrenze (n) e frequenza (%) . Il Mann-Whitney o il Wilcoxon e il test χ^2 di Pearson sono stati utilizzati per i confronti statistici delle variabili continue e categoriche , rispettivamente . La regressione logistica univariata e multivariata è stata effettuata per identificare i predittori indipendenti di PCa sulla biopsia . La correlazione tra PSA e PCA3 è stata valutata con il grado di correlazione di Spearman .

L'area sotto la curva ROC (AUC - ROC) è stata calcolata sia per il PCA3 che per il PSA per l'intera coorte ed per i sottoinsiemi dei pazienti sottoposti alla biopsia iniziale (I-biopsia) ed alla rebiopsia (R - biopsia) . Le differenze nelle stime di accuratezza predittiva sono state testate per la significatività statistica con il test di Mantel- Haenszel .

Le prestazione degli estimatori di rischio sono state esaminate da plots di calibrazione nei quali l'asse x rappresenta la probabilità prevista e l' asse y rappresenta le percentuali effettive osservate di biopsie positive .

Infine , l'analisi della decision curve [20] è stata utilizzata per esplorare gli effetti clinici dei calcolatori . Questo metodo stima un " netto vantaggio " per i modelli di previsione sommando i vantaggi (veri positivi) e sottraendo svantaggi (falsi positivi) .

Tutti i test erano a due code , con un livello di significatività fissato a 0.05 . L'analisi statistica è stata effettuata

utilizzando i seguenti software SPSS v.16.0 (SPSS , Chicago, IL , USA) e MedCalc v.11.1.1.0 (MedCalc Software BVBA , Mariakerke , Belgio) .

Risultati

Duecentodiciotto pazienti sono stati arruolati e sottoposti alla biopsia prostatica . Le loro caratteristiche sono riportate in Tabella 1 . La biopsia della prostata è risultata positiva per CaP in 73 pazienti (33,5%) ; 27 tumori di alto grado (Gleason ≥ 7) sono stati diagnosticati .

Il PSA totale ed il PCA3 score erano significativamente più alti nei pazienti con biopsia positiva mentre il fPSA % era significativamente più basso nei pazienti con CaP . Gli scores di PCA3 aumentati (secondo i cut-off precedentemente pubblicati) corrispondevano ad un aumento dei tassi di biopsia positiva ($p < 0,001$). I cutoff di PCA3 di 17 , 35 , e 58 sono risultati in odds ratio (OR) di 15,6 , 8,9 e 9,5 , rispettivamente . La correlazione tra PSA e PCA3 era scarsa ($r = 0.195$, $p = 0.004$) . Alla regressione logistica multivariata , un modello che incorpora PCA3 Score , PSA totale e il volume della prostata ha prodotto la migliore accuratezza predittiva (Tabella 2) .

Nel complesso, I rischi stimati prima della biopsia dal PCPT e dal nomogramma di Chun non erano significativamente differenti : un rischio medio del 45% (IQR : 34-56 %) per il PCPT confrontato con un rischio medio del 46 % (IQR : 26,5-60 %) per il nomogramma di Chun ($p = 0.16$; test dei ranghi di Wilcoxon) .

Il rischio calcolato col PCPT è stato significativamente maggiore nel gruppo di pazienti portatori di CaP dimostrato successivamente alla biopsia (mediana : 54 % ; IQR : 46-67

%) rispetto a quelli senza CaP (mediana : 39 % ; IQR : 29-49 %, $p < 0,001$; test di Mann-Whitney).

Il rischio stimato con il nomogramma di Chun era significativamente più alto negli uomini con una biopsia positiva (mediana: 54%; IQR 29-54%; $p < 0.001$; Mann-Whitney test).

L'analisi delle ROC curve ha dimostrato una AUC significativamente più alta per il PCPT quando comparato al nomogramma di Chun ed il PSA. Il PCA3 score da solo ha il migliore potere discriminativo sebbene in assenza di una differenza statisticamente significativa con il PCPT. Fig.3

Discussione

Schroder e Kattan hanno eseguito una revisione sistematica di 36 modelli previsionali, includendo 14 confronti diretti tra i modelli e l'accuratezza del PSA dimostrando una superiorità dei nomogrammi e dei network neurali artificiali sul PSA che varia tra il 2% ed il 26%. (13)

Più recentemente, Cavadas ha confrontato due calcolatori di rischio disponibili online, dimostrando delle performance migliori per l'ERSPC rispetto al PCPT. Una metodologia simile è stata applicata nel presente studio per analizzare le performance dei due estimatori di rischio che includono come una delle variabili il PCA3. (23)

La tabella 3 riassume alcuni degli studi disponibili sul valore diagnostico del PCA3 urinario di III generazione. I risultati variano ampiamente in merito allo studio della popolazione e dei valori di cut-off utilizzati, il che rende difficile raggiungere un consenso circa il suo uso nella pratica clinica.

Il calcolatore PCPT aggiornato, con il PCA3, raggiunge un'una AUC (Area under curve) significativamente maggiore (69,9%) comparandola sia al PSA (60,7%) ed al precedente calcolatore PCPT (65,3%) in una coorte di validazione esterna. Il nomogramma di Chun è stato recentemente validato dimostrando un potere discriminatorio molto buono (AUC 75%) rispetto al valore raggiunto nello studio di sviluppo dello stesso. Considerando l'intera coorte, il PCPT dimostra un potere discriminatorio migliore rispetto al nomogramma di Chun (79,6% vs 71,5% p 0,043). Entrambe I discriminatori di rischio dimostrano un'AUC significativamente più alta nel gruppo delle rebiopsie rispetto al PSA. Nel gruppo delle prime biopsie il PCPT ottiene una AUC maggiore rispetto al nomogramma di Chun (84% vs 70,6%) ed al PSA (66%). Il PCPT inoltre è più facile da usare. Il numero di variabili da inserire è simile (7 per il PCPT, 6 per Chun) e tutte prontamente disponibili, tranne che per la volumetria transrettale della prostata richiesta dalla versione di Chun.

In maniera sorprendente la AUC del PCA3 da solo è più alta rispetto ai modelli predittivi multivariabile. Il miglior equilibrio tra sensibilità e specificità nella nostra coorte è stato raggiunto per un valore di cut-off di 51, che è significativamente più alto dei valori precedentemente riportati. Il volume prostatico medio non differisce molto negli altri studi rispetto al present, sebbene il numero di prelievi biotici effettuati (12) è più alto di quello eseguito negli altri studi. Questo sottocampionamento della prostata può portare ad avere più falsi negativi e quindi a sottostimare l'AUC del solo PCA3.

Tenendo presente le considerazioni precedenti è nostro parere che entrambi gli strumenti possono essere un valore aggiunto nella valutazione dei pazienti con PSA in zona grigia.

Il principale limite del nostro studio è il numero di pazienti inclusi. Inoltre la nostra coorte di pazienti ha incluso solo maschi caucasici quindi l'inferenza su una popolazione multi-etnica andrebbe considerata con cautela. Mentre i principali punti di forza sono l'inclusione dei soli pazienti con PSA < 10 ng/mL, ed il disegno prospettico multicentrico. Alcuni modelli aggiornati come il calcolatore ERSPC che si è dimostrato migliore del vecchio PCPT o lo sviluppo di altri predittori multivariabile di rischio potrebbero apportare un futuro miglioramento.

Conclusioni

Entrambi i calcolatori che utilizzano il PCA3 in un modello predittivo multivariabile possono essere di aiuto nell'indicare la biopsia prostatica assegnando un rischio individuale di essere portatore del Pca, soprattutto nella zona grigia del PSA quando i dubbi, nello scenario clinico quotidiano, sono molto frequenti.

	Cohort	Negative biopsy	Positive biopsy	p value
Age, yr	–	–	–	0.097 [†]
Median	66	65	69	
IQR	60–72	60–71	61–74	
PSA level, ng/ml	–	–	–	0.001 [†]
Median	6.7	6.0	8.0	
IQR	5.0–9.0	4.9–8.0	5.8–9.1	
fPSA%	–	–	–	0.008 [†]
Median	16	17	15	
IQR	12–20	13–21	12–18	
DRE	–	–	–	0.22 ^{**}
Normal, No. (%)	169 (77.5)	116 (80.0)	53 (72.6)	
Abnormal, No. (%)	49 (22.5)	29 (20.0)	20 (27.4)	
TRUS	–	–	–	0.84 ^{**}
Normal, No. (%)	202 (92.7)	134 (92.4)	68 (93.2)	
Abnormal, No. (%)	16 (7.3)	11 (7.6)	5 (6.8)	
Prostate volume, ml:	–	–	–	0.21 [†]
Median	43	45	42	
IQR	35–54	35–57	35–52	
Family history	–	–	–	0.069 ^{**}
Negative, No. (%)	208 (95.4)	141 (97.2)	67 (91.8)	
Positive, No. (%)	10 (4.6)	4 (2.8)	6 (8.2)	
Previous biopsy	–	–	–	0.80 ^{**}
No, No. (%)	134 (61.5)	90 (62.1)	44 (60.3)	
Yes, No. (%)	84 (38.5)	55 (37.9)	29 (39.7)	
No. of biopsy cores	–	–	–	0.42 [†]
Median	12	12	12	
IQR	12–16	12–16	12–16	
PCA3 score	–	–	–	< 0.001 [†]
Median	33	22	72	
IQR	16–70	9–43	42–118	

IQR = interquartile range; PSA = prostate-specific antigen; fPSA% = percent free prostate-specific antigen; DRE = digital rectal examination; TRUS = transrectal ultrasound; PCA3 = prostate cancer antigen 3.
[†] Mann-Whitney test.
^{**} χ^2 test.

Tab. 1

Variable	Univariate logistic regression				Multivariate logistic regression			
	OR	95% CI	p value	Predictive accuracy, %	OR	95% CI	p value	Predictive accuracy, %
PCA3	1.030	1.020–1.039	<0.001	76.1	1.030	1.020–1.041	<0.001	79.4
PSA	1.258	1.101–1.437	0.001	64.2	1.239	1.060–1.447	0.007	
Volume	0.985	0.969–1.001	0.063	66.5	0.976	0.958–0.995	0.012	
Age, yr	1.030	0.995–1.066	0.097	66.5	0.998	0.953–1.045	0.94	–
fPSA%	0.935	0.890–0.982	0.007	66.1	0.968	0.913–1.026	0.27	
DRE	1.509	0.783–2.908	0.22	66.5	1.702	0.682–4.245	0.25	
TRUS	0.896	0.299–2.682	0.84	66.5	1.510	0.342–6.672	0.59	
Prior biopsy	1.079	0.606–1.919	0.80	66.5	0.758	0.356–1.614	0.47	
Family history	3.157	0.862–11.561	0.083	67.4	3.486	0.746–16.302	0.11	

OR = odds ratio for positive biopsy; CI = confidence interval; PCA3 = prostate cancer antigen 3; PSA = prostate-specific antigen; fPSA% = percent free prostate-specific antigen; DRE = digital rectal examination; TRUS = transrectal ultrasound.

Tab. 2

	Biopsy status	Cohort, No.	Cancer incidence, %	Vol, ml	Cores, No.	AUC	PCA3 cut-off	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Van Gils et al. [11]	N/A	67	34.3	53	10	0.70	43	61	80	61	80
Haese et al. [12]	Repeat	463	27.6	50	≥10	0.66	35	47	72	39	78
Ankerst et al. [3]	Repeat	443	27.8	40	≥6	0.67	25	63	60	38	81
Marks et al. [13]	Repeat	226	26.5	43	12	0.68	35	58	72	43	83
Hessels et al. [14]	Repeat	336	39.9	46	≥8	0.72	35	61	74	61	74
Wang et al. [15]	Combined	187	46.5	59	12	N/A	35	53	80	70	66
Shappell et al. [16]	Combined	35	31.4	N/A	N/A	N/A	35	73	79	61	86
Auprich et al. [6]	Combined	621	41.1	44	≥10	N/A	17	88	45	53	84
Roobol et al. [17]	Combined	721	16.9	40	6–7	0.64	35	68	56	24	90
Chun et al. [4]	Combined	809	39.1	44	≥10	0.68	17	81	45	49	79
Deras et al. [18]	Combined	570	36.1	40	≥10	0.69	35	54	74	54	74
Current study	Combined	218	33.5	43	≥12	0.83	51	70	81	65	84

AUC = area under the curve; PCA3 = prostate cancer antigen 3; PPV = positive predictive value; NPV = negative predictive value; N/A: not available.

Tab.3

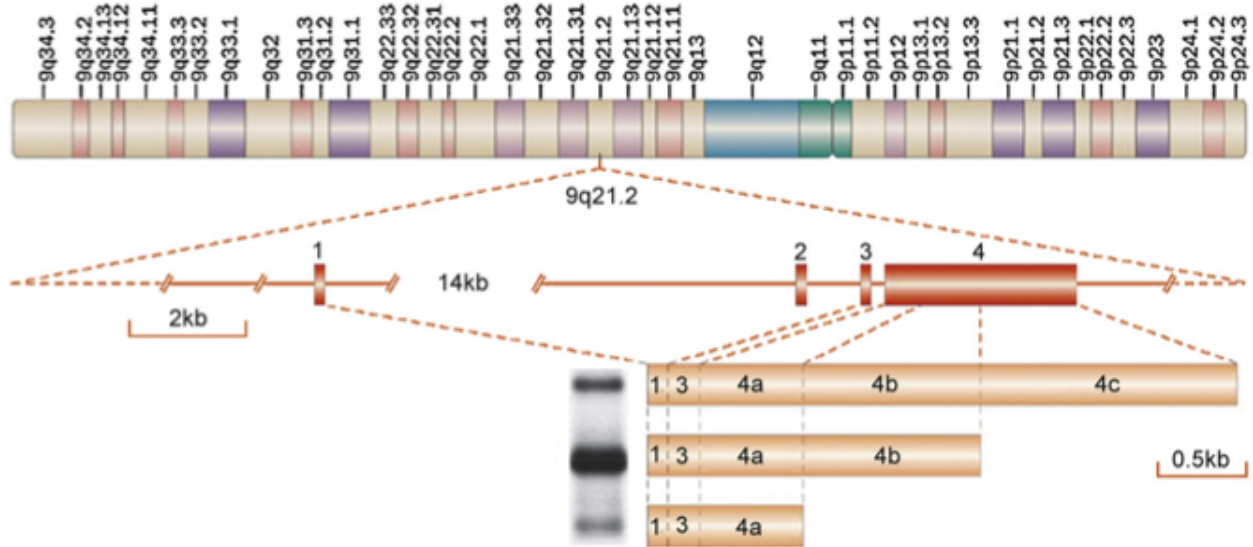


Fig.1

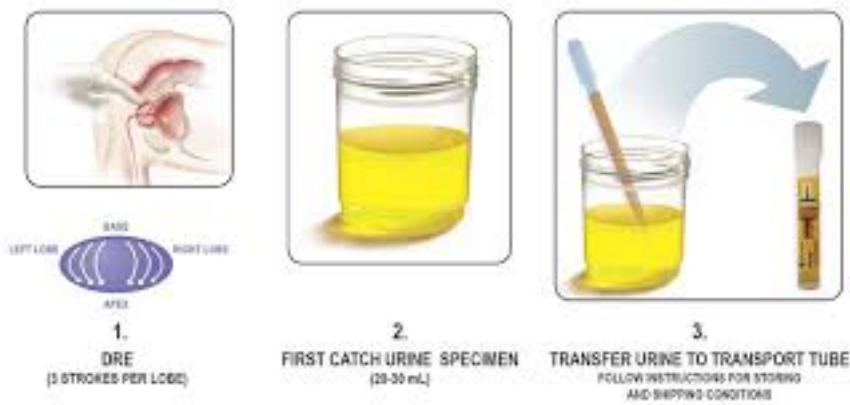


Fig.2

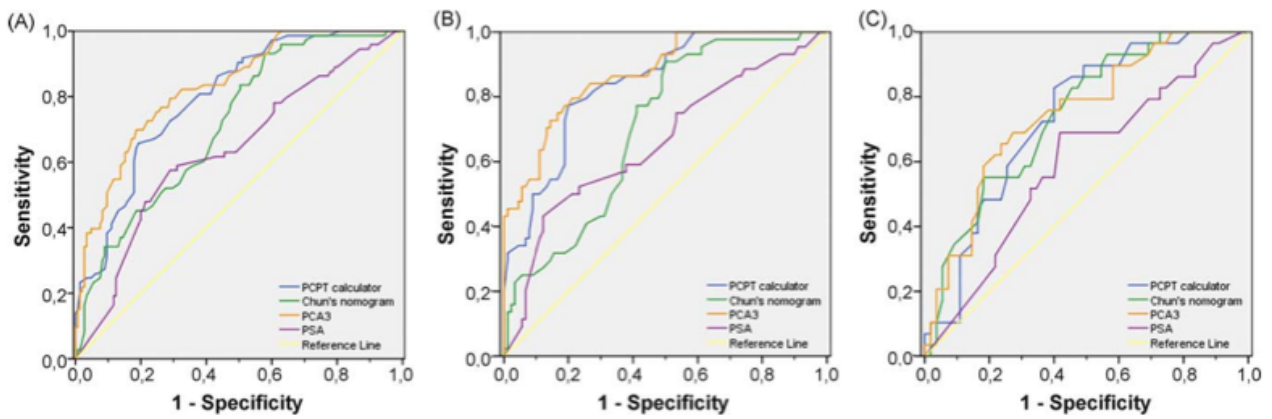


Fig.3

Bibliografia

1. McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *Am J Surg Pathol* 1988;12:897-906.
2. Sakr WA, Grignon DJ, Haas GP, Heilbrun LK, Pontes JE, Crissman JD. Age and racial distribution of prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur Urol* 1996;30:138-144.
3. Burford DC, Kirby M, Austoker J. Prostate Cancer Risk Management Programme. www.cancerscreening.nhs.uk/prostate/prostate-booklet-text.pdf; 2009: 1-21.
4. Borley N, Feneley MR. Prostate cancer: diagnosis and staging. *Asian J Androl* 2009;11:74-80.
5. Lee G, Attar K, Laniado M, Karim O. Safety and detailed patterns of morbidity of transrectal ultrasound guided needle biopsy of prostate in a urologist-led unit. *Int Urol Nephrol* 2006;38:281-285.
6. Awsare NS, Green JS, Aldwinckle B, Hanbury DC, Boustead GB, McNicholas TA. The measurement of psychological distress in men being investigated for the presence of prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2008;11:384-389.
7. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, Kwiatkowski M, Lujan M, Lilja H, Zappa M, Denis LJ, Recker F, Berenguer A, Maattanen L, Bangma CH, Aus G, Villers A, Rebillard X, van der KT, Blijenberg BG, Moss SM, de Koning HJ, Auvinen A. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 2009;360:1320-1328.
8. Roach M, III, Weinberg V, Sandler H, Thompson I. Staging for prostate cancer: time to incorporate pretreatment prostate-specific antigen and Gleason score? *Cancer* 2007;109:213- 220.
9. Gerber GS, Thisted RA, Chodak GW, Schroder FH, Frohmuller HG, Scardino PT, Paulson DF, Middleton AW, Jr., Rukstalis DB, Smith JA, Jr., Ohori M, Theiss M, Schellhammer PF. Results of radical prostatectomy in men with locally advanced prostate cancer: multi-institutional pooled analysis. *Eur Urol* 1997;32:385-390.
10. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999;59:5975-9.
11. de Kok JB, Verhaegh GW, Roelofs RW, et al. DD3(PCA3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors. *Cancer Res* 2002;62:2695-8.
12. Hessels D, Klein Gunnewiek JMT, van Oort I, et al. DD3^{PCA3}-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003;44:8-16, discussion 15-6.
13. Schroder F, Kattan MW. The comparability of models for predicting the risk of a positive prostate biopsy with prostate-specific antigen alone: a systematic review. *Eur Urol* 2008;54:274-90.
14. Vlaeminck-Guillem V, Ruffion A, André J, Devonec M, Paparel P. Urinary prostate cancer 3 test: toward the age of reason? *Urology* 2010;75:447-53.
15. [3] Ankerst DP, Groskopf J, Day JR, et al. Predicting prostate cancer risk through incorporation of prostate cancer gene 3. *J Urol* 2008;180: 1303-8.
16. [4] Chun FK, de la Taille, van Poppel, et al. Prostate cancer gene 3 (PCA3): development and internal validation of a novel biopsy nomogram. *Eur Urol* 2009;56:659-68.

17. Risk of biopsy-detectable prostate cancer. University of Texas Health Science Center San Antonio Web site. <http://deb.uthsca.edu/URORiskCalc/Pages/uroriskcalc.jsp>. Accessed June 2010.
18. [6] Auprich M, Haese A, Walz J, et al. External validation of urinary PCA3-based nomograms to individually predict prostate biopsy outcome. *Eur Urol* 2010;58:727–32.
19. Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, et al. APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem* 2006;52:1089–95.
20. Vickers AJ, Elkin EB. Decision curve analysis: a novel method for evaluating prediction models. *Med Decis Making* 2006;26:565–74. [9] Steyerberg EW, Vickers EJ. Decision curve analysis: a discussion.
21. *Med Decis Making* 2008;28:146–9. [10] CavadasV, OsorioL, SabellF, TevesF, BrancoF, Silva-RamosM. Prostate
22. Cancer Prevention Trial and European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer risk calculators: a performance comparison in a contemporary screened cohort. *Eur Urol* 2010;58:551–8.
23. [11] van Gils MP, Cornel EB, Hessels D, et al. Molecular PCA3 diagnostics on prostatic fluid. *Prostate* 2007;67:881–7.
24. [12] HaeseA, delaTailleA, vanPoppelH, et al. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 2008;54:1081–8.
25. [13] Marks LS, Fradet Y, Deras IL, et al. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology* 2007;69: 532–5.
26. [14] Hessels D, van Gills MP, van Hooij O, et al. Predictive value of PCA3 in urinary sediments in determining clinic-pathological characteristics of prostate cancer. *Prostate* 2010;70:10–6.
27. [15] Wang R, Chinnaiyan AM, Dunn RL, Wojno KJ, Wei JT. Rational approach to implementation of prostate cancer antigen 3 into clinical care. *Cancer* 2009;115:3879–86.
28. [16] ShappellSB, FulmerJ, ArguelloD, WrightBS, OppenheimerJR, Putzi MJ. PCA3 urine mRNA testing for prostate carcinoma: patterns of use by community urologists and assay performance in reference laboratory setting. *Urology* 2009;73:363–8.
29. [17] Roobol MJ, Schroder 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.
30. [18] Deras IL, Aubin SM, Blase A, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol* 2008;179:1587–92.