

# Neue Biomarker und Anwendung multivariater Modelle zur Detektion des Prostatakarzinoms

## New Biomarkers and Application of Multivariate Models for Detection of Prostate Cancer

### Autoren

C. Stephan<sup>1</sup>, H. Cammann<sup>2</sup>, H. Rittenhouse<sup>3</sup>, M. Lein<sup>1,4</sup>, F. Jentzmik<sup>1</sup>, M. Schrader<sup>1</sup>, S. Deger<sup>1</sup>, K. Miller<sup>1</sup>, K. Jung<sup>1,4</sup>

### Institute

- <sup>1</sup> Klinik für Urologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- <sup>2</sup> Institut für Medizinische Informatik, Charité – Universitätsmedizin Berlin
- <sup>3</sup> GenProbe Inc., San Diego, Californien, USA
- <sup>4</sup> Berliner Forschungsinstitut für Urologie, Berlin

### Schlüsselwörter

- Prostatakarzinom
- Diagnostik
- PSA
- Biomarker
- multivariate Modelle

### Key words

- prostate cancer
- diagnosis
- PSA
- biomarkers
- multivariate models

### Zusammenfassung

Molekulare Formen des prostataspezifischen Antigens (PSA) und des freien PSA (fPSA) wie das prozentuale freie PSA (%fPSA), proPSA, intaktes PSA oder das BPHA und andere neue Marker können die diagnostische Spezifität des PSA verbessern. Bei vielen der neuen Marker wie EPCA2 im Serum oder Annexin A3 (ANXA3) im Urin konnten die ersten guten Ergebnisse bisher noch nicht bestätigt werden bzw. es zeigte sich nur eine marginale Verbesserung der Spezifität. Andere Urinmarker wie das PCA3 oder das TMPRSS2-ERG Genfusionsprodukt haben das Potenzial, bevorzugt aggressive Tumoren zu entdecken und die Rate unnötiger Prostatabiopsien zu senken. Die Kombination dieser neuen Urinmarker mit etablierten Serummarkern könnte zukünftig eine weitere Spezifitätsverbesserung des Gesamt-PSA (tPSA) bewirken. Durch den Einsatz multivariater Modelle wie z.B. artifizielle neuronale Netzwerke (ANN) oder auf logistischer Regression (LR) basierte Nomogramme, die eine kombinierte und gleichzeitige Bewertung verschiedener Marker ermöglichen, ist in dieser Hinsicht ein weiterer Fortschritt zu erzielen. Diesen deutlichen Vorteil der multivariaten Bewertung gegenüber der Anwendung einzelner Parameter hat bereits die Nutzung des %fPSA innerhalb von ANN- und LR-Modellen gezeigt. In dieser Übersichtsarbeit werden neue Marker zur Detektion des Prostatakarzinoms (PCa) und deren Einsatz innerhalb multivariater Modelle eingeschätzt.

### Abstract

The specificity of PSA has been enhanced by using molecular forms of PSA and free PSA (fPSA) such as percent free PSA (%fPSA), proPSA, intact PSA or BPHA and/or new serum markers. Most of these promising new serum markers like EPCA2 or ANXA3 still lack confirmation of the outstanding initial results or show only marginally enhanced specificity at high sensitivity levels. PCA3, TMPRSS2-ERG, and other analytes in urine collected after digital rectal examination with application of mild digital pressure have the potential to preferentially detect aggressive PCa and to decrease the number of unnecessary repeat biopsies. The combination of these new urinary markers with new and established serum markers seems to be most promising to further increase specificity of tPSA. Multivariate models, e.g., artificial neural networks (ANN) or logistic regression (LR) based nomograms have recently been performed by incorporating these new markers in several studies. There is generally an advantage to include the new markers and clinical data as additional parameters to PSA and %fPSA within ANN and LR models. Results of these studies and also unexpected pitfalls are discussed in this review.

### Bibliografie

DOI 10.1055/s-0029-1224535  
Aktuel Urol 2009; 40: 221–230  
© Georg Thieme Verlag KG  
Stuttgart · New York ·  
ISSN 001-7868

### Korrespondenzadresse

#### PD Dr. Carsten Stephan

Klinik und Poliklinik für Urologie  
Charité – Universitätsmedizin  
Berlin · CCM  
Charitéplatz 1  
10117 Berlin  
Germany  
Tel.: +49/30/450615159  
Fax: +49/30/450515904  
carsten.stephan@charite.de

Mit einer für 2008 prognostizierten Neuerkrankungsrate von 186320 Fällen in den USA ist das Prostatakarzinom (PCa) seit mehr als 10 Jahren dort und in der westlichen Welt die häufigste bösartige Erkrankung [1]. Insgesamt entfallen 25% aller Krebserkrankungen auf das PCa [1]. Bei der Detektion, Verlaufsbeurteilung und Prognosebeurteilung des PCa spielt dabei das prostataspezi-

fische Antigen (PSA) die entscheidende Rolle. Mit steigender PSA-Konzentration erhöht sich das Risiko für das Vorliegen eines PCa. Kein anderer Biomarker kann derzeit das PSA als initialen Parameter beim Screening ersetzen [2–4]. Allerdings bewirken gutartige Veränderungen, wie die benigne Prostatahyperplasie (BPH) oder Entzündungen der Prostata viel häufiger als das PCa

eine Erhöhung des PSA [5]. Ein erhöhter PSA-Wert [6, 7] oder ein PSA-Anstieg über einen bestimmten Zeitraum (PSA-Velocity) [8, 9] ist allerdings trotz möglichen Vorhandenseins von anderen gutartigen Prostataveränderungen ein deutliches Hinweiszeichen für ein PCa. Die relativ geringe Spezifität des PSA stellt somit ein Hauptproblem bei der Bewertung der PSA-Konzentration dar. Daten einer Metaanalyse zeigen, dass bei Anwendung des bisherigen PSA-Grenzwertes von 4 µg/L aufgrund der geringen diagnostischen Spezifität von ca. 25% nur eine PCa-Detektionsrate von 20–40% bei Erstbiopsien der Prostata mit einem positiv prädiktiven Wert von nur 25% resultiert [10]. Im Ergebnis werden zu viele unnötige Biopsien durchgeführt. Eine verbesserte Früherkennung ist zwar notwendig, allerdings ist die Abgrenzung der aggressiven Karzinome von den Tumoren, die möglicherweise nur eine Überwachung bzw. eine weniger radikale Therapie benötigen, die wichtigste Aufgabe der Zukunft. Es wird eingeschätzt, dass die Anwendung des PSA-Tests in bis zu 50% der Fälle zu einer Überbehandlung von Tumoren führt, die möglicherweise nicht bzw. weniger aggressiv behandelt werden müssten [11]. Andererseits zeigt die aktuelle Auswertung der europäischen Screeningstudie (ERSPC) [12], dass die PCa-bedingte Mortalität bei Patienten mit regelmäßigen PSA-Messungen 20% geringer ist. Obwohl eine weitere Screeningstudie an deutlich weniger Patienten und einem hohem Anteil von PSA-Tests in der Kontrollgruppe (so genanntes opportunistisches Screening) keine geringere Sterblichkeit durch PSA-Screening zeigte [13], ist der Nutzen des PSA unbestritten. Viele Patienten können im Vergleich zu früher noch kurativ behandelt werden. Die Anzahl der primär bereits metastasierten Patienten sank um 80% von 20% auf 5%. Außerdem zeigt die fast unveränderte Mortalitätsrate in vielen Ländern, dass immer noch zu viele Patienten in einem zu späten Stadium der Erkrankung entdeckt werden. Die digital-rektale Untersuchung (DRU) ist in der urologischen Praxis eine Routineuntersuchung, da einige PCa nur durch einen suspekten Tastbefund entdeckt werden. Allerdings ist der PSA-Test der DRU als Screeningtest deutlich überlegen [14].

Derzeit ist die Bestimmung des PSA der Goldstandard für die klinische Stadienklassifikation des PCa sowie für den Nachweis des biochemischen Rezidivs. Eine aktuelle umfangreiche Übersichtsarbeit zur bedeutenden Rolle des PSA beim Management des PCa wurde von Lilja et al. [15] veröffentlicht.

Weitere PSA-Parameter wie die PSA-Geschwindigkeit (PSA-Velocity, Veränderung der PSA-Konzentration in der Zeiteinheit, gewöhnlich über ein Jahr berechnet) sowie die sogenannte PSA-Dichte (PSA-Konzentration bezogen auf das Prostatavolumen) oder die PSA-Verdopplungszeit wurden bereits ausführlich in Übersichtsarbeiten behandelt und zeigten nur Teilerfolge bei der Verbesserung der Spezifität des PSA [16, 17]. Ein erstes multivariates Modell, welches die PSA-Velocity und das %fPSA beinhaltete, konnte die PCa-Detektion nicht verbessern [18]. Gewebemarkers für das PCa wie das prostataspezifische Membranantigen, AMACR oder verschiedene Proteinmarker wurden ebenfalls bereits ausführlich diskutiert [19]. AMACR wird derzeit gemeinsam mit P63 und Zytokeratin als Teil einer Antikörperkombination als molekularer Marker zur PCa-Detektion in Biopsaten genutzt [20].

Eine Methylierung der Glutathion S-Transferase Pi (GSTP1) ist eine häufig beobachtete epigenetische Alteration im PCa-Gewebe oder in der „high grade“ prostatistischen intraepithelialen Neoplasie (PIN) [21]. Widersprüchliche Daten zur GSTP1-Hypermethylierung im Urinsediment und Serum wurden bereits zusammengefasst [22, 23]. Die Anwendung der PCa-Gewebemarkers

in multiplexen Urinalysen wurde 2008 erstmals beschrieben [24, 25]. Einige Marker davon werden später beschrieben. Mechanismen von molekularen Alterationen wurden kürzlich in einer Übersichtsarbeit zusammengefasst [26].

Eine der bedeutendsten Entdeckungen der letzten Jahre war die Identifikation der Genfusion der nuklearen Transkriptionsfaktorengene ERG und ETV1 mit dem 5'DHT regulierten Promoter TMPRSS2 [27]. Etwa 50% der im Screening entdeckten PCa weisen diese Genfusion auf [28]. TMPRSS2 ist ein androgen-reguliertes Gen, welches mit erhöhter Tumoraggressivität (Gleason-Score > 7) und Mortalität assoziiert ist [29].

Nach erstmaliger Entwicklung eines Urintests für den Nachweis der TMPRSS2:ERG Fusion mittels RNA Amplifikation und quantitativer PCR [30] wurde 2009 ein kommerzieller Test dazu entwickelt [31]. Diese Fusionsgene könnten neben einer verbesserten Diagnose zukünftig auch bei der Prognose oder Therapieentscheidung des PCa Bedeutung erlangen. Die Genfusionsprodukte sind bereits Kandidaten für eine Targettherapie. Aktuelle Daten wurden dazu kürzlich zusammengefasst [32].

Im folgenden Kapitel werden neue Serum- und Urinmarker und deren Anwendung in multivariaten Modellen beschrieben.

## Serummarker



### Freies PSA und PSA-Komplexe

Anfang der 90er-Jahre entdeckten zwei unabhängige Forschergruppen verschiedenen molekularen Formen des PSA, das freie (ungebundene) PSA und das PSA-Alpha-1-Antichymotrypsin (PSA-ACT) [33, 34]. Etwa 65–95% des PSA sind an ACT gebunden, während das freie PSA (fPSA) im Durchschnitt nur 5–35% Anteil am Gesamt-PSA (engl. total PSA: tPSA) aufweist. Dabei ist der Anteil des fPSA bei der benignen Prostatahyperplasie (BPH) im Vergleich zum PCa erhöht. Mögliche Erklärungen dieses Phänomens sowie der klinische Nutzen des Quotienten fPSA zum tPSA (f/tPSA oder auch %fPSA) wurden in verschiedenen Übersichten bereits ausführlich erörtert [15, 35–37]. Mithilfe des %fPSA können etwa 20–25% der unnötigen Prostatabiopsien im PSA-Bereich 4–10 µg/L eingespart werden [38, 39]. Bisher ist das %fPSA der einzige akzeptierte Routineparameter neben dem PSA.

Mit dem PSA-Alpha-2-Makroglobulin (PSA-A2M) und dem PSA-Alpha-1-Protease Inhibitor (PSA-API) wurden zwei weitere PSA-Komplexe nachgewiesen [40, 41]. Bedingt durch eine zu komplizierte Nachweismethode und auch einen zu geringen Anteil am tPSA ist die klinische Relevanz dieser beiden PSA-Komplexe limitiert. Die Summe der PSA-ACT und PSA-API wird als komplexiertes PSA (cPSA) bezeichnet. Die Messung des cPSA kann auch direkt erfolgen, allerdings wird dabei das PSA-A2M nicht erfasst [42]. Obwohl anfangs vermutet wurde, dass cPSA als Parameter den Quotienten %fPSA ersetzen kann [43], zeigte nur der Quotient cPSA/tPSA vergleichbare Resultate mit dem %fPSA [44, 45]. D. h. cPSA allein kann das %fPSA nicht ersetzen.

### ProPSA

PSA wird initial aus einem Prä-pro-Protein mit 261 Aminosäuren synthetisiert. Durch Abspaltung von 17 Aminosäuren entsteht die Vorform des PSA, das proPSA. Physiologischerweise wird dann von dem inaktiven proPSA ein aus 7 Aminosäuren bestehendes Polypeptid am N-terminalen Ende der Polypeptidkette freigesetzt. Diese Spaltung aktiviert das proPSA zum enzymatisch aktiven, einkettigen PSA. Es kann jedoch zu einer ausblei-

benden oder nur partiellen Abspaltung der 7-Aminosäure-Prosequenz kommen, sodass proPSA-Formen mit partiell oder komplett erhaltenem Propeptid entstehen [46, 47]. Diese proPSA-Formen enthalten 1–7 Aminosäuren in der Prosequenz und werden in den häufigsten Formen als (–2)proPSA, (–4)proPSA, (–5)proPSA und (–7)proPSA (noch alle 2, 4, 5 bzw. 7 Aminosäuren vorhanden) bezeichnet. Im Vergleich zum sehr rasch aktivierten nativen (–7)proPSA ist das (–2)proPSA nicht mehr enzymatisch aktiv und akkumuliert im Prostatagewebe.

Die (–7) und (–5)proPSA-Formen können mit einem Testsystem der Fa. Roche (Roche Diagnostics, Penzberg) nachgewiesen werden. Dieses Testsystem hatte bei der Unterscheidung zwischen PCa und BPH sowie zwischen aggressiven und weniger aggressiven Tumoren nur einen limitierten Erfolg [48, 49]. In einer Studie an 376 radikal prostatektomierten Männern war der Quotient des (–5, –7)proPSA/%PSA allerdings signifikant assoziiert mit höherem Gleason-Grad und kapselüberschreitendem Tumorstadium [50].

Basierend auf früheren erfolgreichen Resultaten mit einem kombinierten (–2, –4)proPSA-Test (Beckman Coulter, San Diego, CA, USA) bezüglich der Unterscheidung von Patienten mit PCa und Patienten ohne Anhalt für Malignität (engl. no evidence of malignancy: NEM) [51], und der Detektion von aggressiven PCa [52], wurde ein automatisches Testsystem (Access Immunoassay) entwickelt, welches nur das (–2)proPSA (p2PSA) nachweist. Aktuelle Daten zeigen für das p2PSA/fPSA (als %p2PSA bezeichnet) die größte Fläche unter der ROC-Kurve (engl. area under the curve: AUC) mit 0,69 gefolgt vom %fPSA (AUC: 0,61) [53]. Im tPSA-Bereich 2–10 µg/L ist die AUC des %p2PSA sogar 0,73 [53]. Beide proPSA-Testsysteme, das (–5, –7)proPSA und das automatisierte (–2)proPSA wurden bereits in multivariaten Modellen als Variable angewandt (Daten dazu im entsprechenden Abschnitt). Zum proPSA existieren bereits einige Übersichtsarbeiten [54, 55].

### BPSA (BPHA)

BPSA (auch als BPH assoziiertes PSA bezeichnet: BPHA) ist eine weitere molekulare Form des fPSA, welche identisch zu nativen PSA mit 237 Aminosäuren ist, aber 2 innere Spaltungen der Aminosäurekette bei Lys182 und Lys145 aufweist. Dies führt zur Inaktivierung des fPSA und lässt damit Komplexbildung zu [56, 57]. Das BPSA ist eher mit einer gutartigen Vergrößerung der Prostata assoziiert [58, 59]. Eine Übersichtsarbeit zum BPSA widmet sich dieser speziellen Problematik [60]. Analog zum automatisiert messbaren p2PSA kann das BPHA ebenfalls am Access-Gerät (Beckman Coulter) bestimmt werden. Aktuelle Daten an 541 histologisch gesicherten PCa- und NEM-Patienten zeigten eine verbesserte Diskrimination zwischen BPH und PCa mit dem Quotient BPHA/tPSA (AUC 0,69) verglichen mit dem tPSA (AUC 0,59), wobei aber %fPSA mit 0,78 einen deutlich höheren AUC-Wert aufwies [61]. Die Kombination der beiden Testsysteme für BPHA und p2PSA könnte sich als vorteilhafter erweisen als die bisherige Kombination mit (–2)proPSA, (–4)proPSA und BPSA [62].

### Intaktes fPSA

Eine weitere Form des fPSA ist das intakte, nicht native PSA (inPSA), welches im Gewebe und Serum identifiziert wurde [63]. Das inPSA weist zwar keine innere Spaltung von Aminosäureketten auf, ist aber trotzdem ein inaktives PSA und bildet somit auch keine Komplexe. In einem vereinfachten fPSA-Modell kann inPSA berechnet werden, indem man vom fPSA das BPSA und die Summe aller proPSA-Formen subtrahiert [54]. Alle 3 mole-

kularen Formen des fPSA im Serum sind in etwa zu gleichen Anteilen vorhanden, wobei der relative Anteil des proPSA und BPSA individuell stark variieren kann. Der Anteil des inPSA im Serum ist in NEM-Patienten erhöht und korreliert negativ mit der proPSA-Konzentration. Eine mögliche Erklärung dafür könnte die Korrelation des fPSA mit BPSA und inPSA im benignen Prostatagewebe sein [35].

Ein weiterer spezifischer monoklonaler Antikörper für eine Form des fPSA, dem sogenannten fPSA-I, detektiert alle fPSA Formen ohne innere Spaltung [64]. Demzufolge kann der Antikörper für fPSA-I das proPSA und inPSA, aber nicht das BPSA nachweisen. Studien mit dem fPSA-I-Test zeigten gute Resultate für die PCa-Detektion [65, 66]. Aber bisher existiert kein kommerzielles Testsystem für das fPSA-I. Es ist außerdem fraglich, ob die Summe von proPSA und inPSA, welche theoretisch äquivalent der Differenz des fPSA und BPSA ist, ein besserer PCa-Marker als das alleinige proPSA ist.

Alle molekularen Formen des PSA zeigen erfolversprechende Daten für eine verbesserte Frühdiagnostik des PCa. Eine Kombination verschiedener PSA-Formen in multivariaten Modellen könnte die korrekte Detektionsrate des PCa steigern. Da der Mechanismus der Freisetzung der molekularen PSA-Formen in den Blutkreislauf offensichtlich mit einer veränderten intraprostatatischen Gewebearchitektur korrespondiert, können andere molekulare Marker, die durch andere Mechanismen verändert sind (z.B. der direkte Tumorzellnachweis im Urin nach DRU), einen deutlichen synergistischen Effekt haben. Nomogramme mit der Kombination des PSA im Serum und des PCA3 im Urin haben diesen Effekt bereits teilweise gezeigt [67].

Mit Ausnahme des proPSA haben aber alle anderen molekularen Formen des fPSA keine klare und wiederholte Verbesserung der Spezifität gegenüber dem PSA und %fPSA zeigen können. So ist z.B. eine verbesserte BPH-Detektion ohne Nutzen, da Patienten beide Erkrankungen (PCa und BPH) haben können.

### Die Kallikrein-Familie

Innerhalb des letzten Jahrzehnts wurde die humane Kallikrein-Familie vollständig identifiziert. Sie besteht aus mindestens 15 Genen [68]. Von den initial bekannten 3 Kallikreinen KLK1 bis KLK3 wurden das humane glanduläre Kallikrein 2 (KLK2) und v. a. das KLK3, welches PSA ist, als PCa-Serummarker angewandt. Eine überarbeitete Nomenklatur für alle Kallikrein Gene vereinfacht deren Klassifikation als KLK1 bis KLK15 während die dazu gehörigen Proteine als KLK1 bis KLK15 notiert werden [69]. Neben dem PSA hat v. a. KLK2 seinen Wert bei der Früherkennung des PCa nachgewiesen [70, 71]. Aber dieser Marker wird trotzdem nicht routinemäßig zur PCa-Erkennung eingesetzt. Es existiert bisher auch kein kommerzielles Testsystem. Forschungstests für KLK4 oder KLK15 zeigten nur einen marginalen Gewinn in der Diagnostik des PCa. Nur KLK11 konnte die Spezifität des tPSA und %fPSA in Kombination mit beiden Parametern weiter verbessern [72]. Bedingt durch die enge Verwandtschaft und Ähnlichkeit aller Kallikreine und einer deutlich unterschiedlichen Expression im PCa-Gewebe könnten sich allerdings Einsatzmöglichkeiten der Kallikreine für die Prognose des PCa ergeben [19, 73].

### MIC-1

Das Makrophagen-Inhibitor Zytokin 1 (MIC-1) war in einer Untersuchung an 1 000 Männern ein unabhängiger Prädiktor für das Vorhandensein eines PCa und eines Tumors mit einem Gleason-Score >6 [74]. Ein diagnostischer Algorithmus basierend auf

den Serumwerten des MIC-1, tPSA und %fPSA reduzierte die Anzahl der unnötigen Prostatabiopsien um 27% [74]. Die Daten einer weiteren Studie wiesen auch signifikant geringere MIC-1-Konzentrationen im Serum für PCa- im Vergleich zu BPH-Patienten nach. Die AUC für MIC-1 war aber nur 0,6 und damit geringer als die AUC für PSA (0,64) oder %fPSA (0,69) [75].

### MIF

Ein weiterer Marker, der Makrophagen-Migrationsinhibitor-Faktor (MIF) war im Serum von PCa-Patienten im Vergleich zu BPH-Patienten erhöht [76]. Dabei korrelierte MIF allerdings stark mit dem tPSA ( $r_s=0,61$ ). Leider war in 152 der 509 untersuchten Patienten keine histologische Sicherung der Diagnose erfolgt, sodass die Interpretation dieser Daten erschwert ist [76]. In einer anderen Studie an 213 histologisch gesicherten PCa- und BPH-Patienten zeigten sich weder eine Korrelation von MIF zum tPSA ( $r_s=-0,05$ ) noch unterschiedliche MIF-Konzentrationen, wobei MIF in PCa-Patienten sogar leicht erniedrigt war [77]. Ein dritte Studie konnte ebenfalls erniedrigte MIF-Werte in PCa-Patienten im Vergleich zu BPH-Patienten und eine sehr geringe AUC mit 0,54 für MIF nachweisen [75].

### Caveolin

Ein Immunoassay für den Nachweis des Caveolin-1, dem Protein der Caveolae, welches beim molekularen Transport, der Zelladhäsion und Signaltransduktion in Zellen eine Rolle spielt, wies in 102 PCa-Patienten höhere Caveolin-Konzentrationen (Median:  $0,463 \mu\text{g/L}$ ) gegenüber 81 gesunden Männern ( $0,324 \mu\text{g/L}$ ) und 107 BPH-Patienten ( $0,172 \mu\text{g/L}$ ) nach [78]. Leider war der PSA-Wert nicht für alle Patienten als Vergleichsparameter vorhanden [78]. Dieselbe Arbeitsgruppe wies in einer Folgestudie das Caveolin-1 im Serum von 419 PCa-Patienten allerdings mit einem mehr als doppelt so hohen Median ( $1,01 \mu\text{g/L}$ ) nach [79]. Die Daten wurden bisher noch nicht von anderen bestätigt.

### EPCA

Ein Serumtest für das nukleäre Matrixprotein, dem so genannten „early PCa Antigen“ (EPCA) zeigte sehr hoffnungsvolle Werte mit 92% diagnostischer Sensitivität bei gleichzeitiger 94% Spezifität in einer kleinen Kohorte von 46 Patienten inklusive 12 PCa [80]. Eine Studie an einer größeren Kohorte von 385 Männern bestätigte diese Werte mit einer 92%igen diagnostischen Spezifität und einer 94%igen Sensitivität und einer AUC von 0,89 [81]. Allerdings wurden hier klare methodische Unzulänglichkeiten nachgewiesen [82]. Die Validierung dieses Markers durch unabhängige Forschergruppen ist bisher noch nicht erfolgt. Die Analyse eines zweiten EPCA Epitops, des EPCA-2.19 führte in einer Untersuchung an 328 Patienten zu einer Spezifität von 100% bei 91% Sensitivität mit einer AUC von 0,98 [83]. Auch hier wurden unabhängige Studien bisher nicht publiziert.

### IGF

Erhöhte Serumwerte des Insulin-analogen Wachstumsfaktors 1 (IGF-1) waren assoziiert mit einer zukünftigen Entwicklung eines PCa [84]. Diese Hypothese konnte aber an Daten von Screeningstudien nicht bestätigt werden [85, 86]. Im Plasma ist IGF-1 neben vielen anderen Proteinen hauptsächlich an IGFBP-3 gebunden. Eine Berücksichtigung des IGFBP-3 veränderte aber die Aussagekraft des IGF-1 bezüglich eines PCa-Risikos nicht [84]. Eine aktuelle Metaanalyse von 12 prospektiven Studien an ~3700 Männern fand ein moderat erhöhtes PCa-Risiko bei hohen IGF-I-Konzentrationen [87].

### PSP94

Während eine frühere Untersuchung von 1993 keine Unterschiede zwischen PCa, BPH und Kontrollpersonen in den Serumkonzentrationen des prostatatischen Sekretionsproteins 94 (PSP94) fand [88], zeigte eine aktuellere Studie an 1212 Männern, von denen 49,2% ein PCa hatten, signifikant geringere Werte für PCa-Patienten [89]. Innerhalb einer Subgruppe von 649 Männern mit geringerem PCa-Risiko konnte das PSP94 zwischen unterschiedlich aggressiven PCa differenzieren, während dies mit PSA und %fPSA nicht gelang [89]. Multivariate Analysen zeigten, dass das PSP94-bindende Protein (PSPBP) und der Quotient des gebundenen zum freien PSP94 unabhängige Prädiktoren eines biochemischen Rezidivs nach radikaler Prostatektomie sind [90].

### Urinmarker



#### Annexin A3

Annexin A3 (ANXA3) ist ein Kalzium-bindendes Protein mit Expressionsunterschieden im PCa-Gewebe, im Gewebe der BPH, der prostatatischen intraepithelialen Neoplasie und im normalen Prostatagewebe [91]. ANXA3 konnte immunhistochemisch im Gewebe innerhalb einer Gruppe von 969 PCa-Patienten mit intermediärem Rezidivrisiko diese in eine Hochrisikogruppe und Gruppe mit geringerem Rezidivrisiko unterteilen [92]. Bei der Quantifizierung von ANXA3 mittels Western-Blot in 591 Urinproben wurden signifikant geringere Werte in PCa-Proben im Vergleich zu BPH-Proben gefunden [93]. Einer nur geringen Spezifität bei den Sensitivitätsgrenzwerten steht eine verbesserte Sensitivität gegenüber dem tPSA bei hohen Spezifitätsgrenzwerten gegenüber [93]. Zusätzlich verbesserte die Kombination des ANXA3 und PSA (AUC 0,81) die diagnostische Aussagekraft des %fPSA, welches nur eine AUC von 0,73 hatte [93].

### PCA3

Das „Prostate cancer antigen 3“ (PCA3), welches auch als DD3 bekannt war, ist eine nicht-kodierende RNA, welche fast ausschließlich in der Prostata gebildet wird. PCA3 ist etwa 66fach überexprimiert im PCa-Gewebe verglichen mit normalem Prostatagewebe [94]. Der kommerziell verfügbare APTIMA®-Test der Fa. Gen-Probe [95] zeigte in einer Europäischen prospektiven multizentrischen Studie, dass die Wahrscheinlichkeit einer tumorpositiven Biopsie mit ansteigenden PCA3-Werten korreliert [96]. Bei den 463 untersuchten Männern war der PCA3-Score signifikant höher bei Patienten mit einem Gleason-Score  $\geq 7$  versus  $< 7$ . Dieser Score war ebenfalls höher im Vergleich zu indolenten Tumoren. Dies verdeutlicht die mögliche Rolle von PCA3 als Urinmarker bei der Prädiktion der Tumoraggressivität und des Tumorstadiums [96]. Diese Ergebnisse wurden in einer weiteren ähnlichen Studie mit Patienten vor der Erstbiopsie bestätigt [97]. Weiterhin hat PCA3 gegenüber dem PSA den Vorteil, dass dieser Marker unabhängig vom Prostatavolumen ist [96]. PCA3 korreliert mit dem Tumolvolumen [98, 99] und kann ebenso ein extrakapsuläres Tumorstadium vorhersagen [99]. Allerdings zeigen aber andere Studien an kleineren Populationen, dass die Korrelation des PCA3 zu Tumolvolumen nicht immer nachweisbar ist [100, 101].

### Methylierungsmarker

Eine multizentrische Studie mit Nachweis von DNA-Methylierungsmarkern mit einem Prototyp-Testsystem wurde kürzlich veröffentlicht [25]. Dieses multiplexe PCR-Testsystem erfasst die



3 Methylierungsmarker GSTP1, RARB und APC sowie eine endogene Kontrolle. Es wurden insgesamt 234 Patienten aus 9 Zentren gemessen [25]. In zwei unabhängigen Kohorten zeigte das multiplexe Testsystem in Kombination mit dem Serum tPSA, dem DRU-Status und dem Alter nur AUCs von 0,69 sowie 0,65 und damit nur eine gering verbesserte diagnostische Aussagekraft [25]. Dahingegen wies das GSTP1 eine gute Korrelation mit der Anzahl der tumorpositiven oder suspekten Proben bei der Biopsie auf, was eine mögliche weitere Evaluierung sinnvoll erscheinen lässt [25].

GOLM1 ist auf der Proteinebene im PCa hochreguliert. Die Grundlage dafür ist auf zellulärer Basis die Überexpression von GOLM1 in den prostatatischen Epithelzellen, welches mit laser-gestützter Mikrodisektion nachgewiesen wurde [102]. GOLM1 im Urinsediment (AUC 0,62) war ein signifikanter Vorhersagewert des PCa und besser als das PSA mit der AUC von 0,495 [102]. Mit der Hochregulation im Gewebe und dem Vorhandensein im Urin ist GOLM1 ein potentieller neuer Biomarker für das lokalisierte PCa.

Simultane Messungen von potentiellen Urinmetaboliten einschließlich dem Sarkosin und kombinierte Analysen mit anderen Markern sollten zukünftig verstärkt erfolgen [103, 104]. Viele aktuelle Studien mit molekularen Testen für den Nachweis von PCa-Zellen oder tumorassoziierten Metaboliten im Urin unterstützen die potenzielle Wertigkeit von Bestimmungen im Urin nach standardisierter DRU im Vergleich zu herkömmlichen Serumtests, um eine weitere Spezifitätsverbesserung bei der Diagnostik bzw. Prognostik des PCa zu erreichen.

## Multivariate Modelle mit neuen Biomarkern

Die diagnostische Aussagekraft des Tumormarkers PSA wird wesentlich durch die Wahl des Grenzwertes beeinflusst, wobei ein geringerer Wert zwar eine verbesserte Sensitivität aber dafür auch eine geringere Spezifität zur Folge hat. Dieses Verschieben des Grenzwertes resultiert in deutlich mehr unnötigen Biopsien. Höhere Grenzwerte verbessern die Spezifität, dafür wird aber eine zunehmende Anzahl an Tumorkranken übersehen. Die Kombination des PSA mit anderen Markern ist eine Möglichkeit, die Wahrscheinlichkeit einer tumorpositiven Biopsie besser vorherzusagen. Dieses kann mit verschiedenen Klassifikationsmodellen wie den auf logistischer Regression (LR) basierenden Nomogrammen, den artifiziellen neuronalen Netzwerken (ANN), den Entscheidungsbäumen und anderen Risikobewertungssystemen erfolgen. Nomogramme werden vielfach für die unterschiedlichen Indikationen zur Diagnostik des PCa, aber auch für die Vorhersage des biochemischen Rezidivs, des extrakapsulären Wachstums oder der Lymphknoteninvasion angewandt [105]. Sie zeigen Vorteile verglichen mit PCa-Risikokalkulatoren oder dem PSA allein [106]. Einige Autorengruppen schlussfolgern in Übersichtsarbeiten [105, 107] bzw. andere Autoren in Vergleichsstudien [108–110], dass Nomogramme besser und akkurater als andere Modelle sind. Im Gegensatz dazu zeigen andere Studien [111–113] und Übersichten [114, 115] Vorteile für die Anwendung von ANN-Modellen verglichen mit LR-basierten Nomogrammen. Auch wurden außergewöhnlich schlechte und stark PSA-Test abhängige Daten für ein LR-Modell präsentiert [116]. Wenn man beide Methoden, LR und ANN, in sehr großen Studienpopulationen (>5000) vergleicht, dann findet man in 7 von 8 Studien keinen Unterschied [115]. Diese unterstützt sehr stark die These, dass kein mathematischer Vorteil für die eine oder

andere Methode vorhanden ist, sondern die Unterschiede eher durch verschiedene Eingangsparameter oder Populationen, aber auch durch Nichtberücksichtigung der Methodenabhängigkeit von PSA-Werten zu erklären ist [108, 109, 112, 117]. Für weitere technische Details wird eine ausführliche Übersichtsarbeit empfohlen, die insbesondere die beiden Methoden LR und ANN sowie weitere Klassifikationsmodelle („support vector“ Maschinen, Entscheidungsbäume oder Nächste-Nachbarn-Klassifikation) ausführlich vergleicht [114].

Im Folgenden werden viele der bereits aufgeführten neuen Marker hinsichtlich ihrer Aussagekraft in den LR- und/oder ANN-Modellen aufgeführt.

## PSA, %fPSA und cPSA basierte multivariate Modelle

Nachdem 1994 Snow u. Mitarb. [118] erstmals ANN-Modelle bei der PCa-Diagnostik verwendeten, war die Einführung des %fPSA ein weiterer wichtiger Schritt bei der Verbesserung der PCa-Detektion [39]. Kurze Zeit später beschrieben mehrere Arbeitsgruppen eine weiter verbesserte Spezifität des %fPSA um bis zu 50%, wenn LR- und ANN-Modelle unter Einschluss des %fPSA genutzt wurden [111, 112, 119, 120]. Eine Übersichtsarbeit fasst alle diese Studien unter dem zusätzlichen Aspekt der verschiedenen PSA-Testsysteme zusammen [121]. Ein wertvoller Vergleich aller zur Verfügung stehenden ANN- und LR-Studien für die Detektion des PCa wurde kürzlich von Schröder und Kattan publiziert [122].

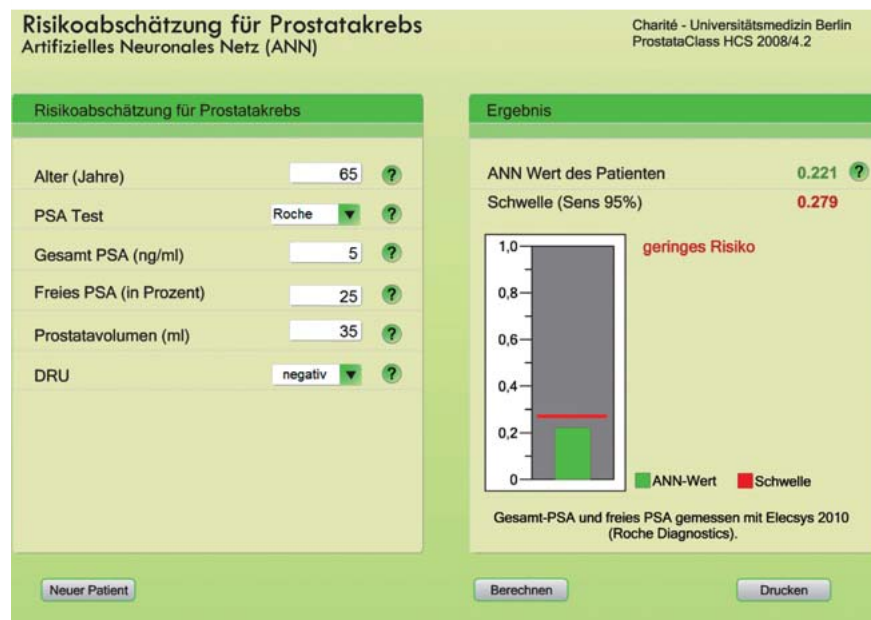
Unter Anwendung des cPSA wurde 2003 ein ANN-Modell vorgestellt, welches 6 zusätzliche klinische Parameter nutzte [113]. Eine Evaluation von 5 verschiedenen tPSA-Testsystemen mit dem fPSA oder cPSA in 780 Patienten fand ähnlich hohe AUC für die ANN-Modelle mit dem cPSA/tPSA-Quotienten (0,89) im Vergleich zu den Modellen mit dem %fPSA (AUC 0,88–0,89) [123]. Dieses ANN für 5 verschiedene tPSA-Testsysteme kann frei im Internet unter <http://www.charite.de/pcaberlin/ann5/ann5.html> genutzt werden (siehe **Abb. 1**). Die Unterschiede zwischen den verschiedenen PSA-Testsystemen beruhen auf analytischen Testsystemdifferenzen und nicht auf Differenzen in den getesteten Populationen. Dies limitiert die Aussage früherer Vergleichsstudien, die diesen Fakt unberücksichtigt lassen [124, 125]. Speziell für den Einsatz des cPSA in einem begrenzten tPSA-Bereich wurde die Diskordanz-Analysen-Charakteristik-Methode als neue statistische Auswertemethode entwickelt, welches die Diagnostik des PCa weiter verfeinern kann [126].

## Subformen des freien PSA in multivariaten Modellen

Eine Studie an einer relativ kleinen Gruppe unter Messung des (–5, –7)proPSA und KLK2 zeigte nur minimalen Erfolg mit einem LR-Modell zur Differenzierung zwischen BPH und PCa [48].

Eine weitere Untersuchung an 898 Patienten aus zwei Zentren konnte nur in einer Gruppe im 4–10 µg/L tPSA-Bereich mit ANN-Modell unter Einbeziehung des (–5, –7)proPSA und %fPSA dieselbe Aussagekraft erreichen wie mit einem routinemäßig genutzten ANN mit den Parametern PSA, %fPSA, Alter, Prostata-volumen und DRU-Status [127]. Bei Einstellung auf eine 95%ige Sensitivität verbesserte das ANN die Spezifität gegenüber dem %fPSA allerdings nicht [127].

Das automatisierte (–2)proPSA-Testsystem hatte in einer initialen Studie an 123 Patienten innerhalb eines LR-Modells mit dem Quotienten %p2PSA (p2PSA/fPSA) die größte AUC im Vergleich zum alleinigen %fPSA oder %p2PSA [53]. Innerhalb des 2–10 µg/L tPSA-Bereiches hatte das LR-Modells allerdings dieselbe AUC (0,73) wie das %p2PSA [53].



**Abb. 1** Das Programm ProstataClass mit den Eingangsparametern Alter, PSA-Testsystem (mit 5 Möglichkeiten), Gesamt-PSA (tPSA), prozentuales freies PSA, Prostatavolumen und dem Status der digital-rektalen Untersuchung. Ein Beispiel eines Patienten mit dem ANN-Wert „geringes Risiko“ am Sensitivitätsgrenzwert 95 %.

Eine eigene Studie an einer größeren Kohorte ( $n=586$ ) mit dem neuen automatisierten p2PSA-Test in Kombination mit LR- und ANN-Modellen unter Einbeziehung des tPSA, %fPSA, %p2PSA und des Alters erreichte vergleichbar gute AUC-Werte für die ANN- und LR-Modelle (0,85 und 0,84) [128]. Wenn unter diesen Bedingungen als Entscheidungskriterien 90 % bzw. 95 % Sensitivität gewählt wurden, verbesserten sich die diagnostische Spezifitäten (ANN: 62,1 % und 45,5 %; LR: 53,1 % und 41,2 %) im Vergleich zum tPSA (22,7 % und 11,4 %) und %fPSA (45,5 % und 26,1 %) deutlich [128]. Der wesentliche Vorteil dieses ANN-Modells ist, dass im Gegensatz zum  $(-5, -7)$ proPSA basierten ANN das Prostatavolumen nicht mehr als Eingangsvariable im ANN erforderlich ist [127].

Als Einzelwert kann das %p2PSA im Vergleich zum tPSA und %fPSA ebenfalls besser zwischen pT2 und pT3 als auch zwischen Gleason-Score  $<7$  und  $\geq 7$  Tumoren unterscheiden. Dieses könnte auf die bevorzugte Entdeckung von aggressiven und klinisch signifikanten Tumoren durch das p2PSA hinweisen [128].

Daten einer ersten Studie mit dem automatisierten BPHA-Test unter Anwendung eines ANN wiesen mit einem AUC-Wert von 0,81 eine verbesserte Diskrimination zwischen BPH- und PCA-Patienten nach im Vergleich zum %fPSA (AUC: 0,775) und BPHA/tPSA (AUC 0,69) [61]. Die Eingangsparameter dieses ANN waren Alter, Prostatavolumen sowie die Laborparameter tPSA, %fPSA und BPHA/tPSA [61]. Innerhalb des 0–10  $\mu\text{g/L}$  tPSA-Bereiches verzeichnete das ANN-Modell mit dem BPHA/tPSA die höchsten Spezifitäten (53,9 % und 44,5 %) verglichen mit dem ANN ohne BPHA/tPSA (50 % und 40,6 %) und dem %fPSA (40,9 % und 27,2 %) an den Sensitivitätsgrenzwerten von 90 % und 95 %. Ein Einbeziehen des Quotienten BPHA/tPSA in ein ANN-Modell verbesserte somit die Spezifität gegenüber dem %fPSA um 13 % bzw. 17 % bei 90 % bzw. 95 % Sensitivität [61]. Möglicherweise kann der automatisierte BPHA-Test zukünftig zusätzlich zur verbesserten PCA-Detektion z.B. in Kombination mit dem p2PSA innerhalb eines ANN genutzt werden.

Ein LR-Modell mit dem fPSA-I, %fPSA und tPSA wies nur einen nicht signifikant erhöhten AUC-Wert von 0,773 verglichen mit dem fPSA-I/tPSA auf (AUC: 0,755) auf [66]. In der 2–10  $\mu\text{g/L}$  tPSA-Subgruppe war nur der AUC-Wert der Kombination des

fPSA-I, %fPSA und tPSA (0,706) und das fPSA-I/tPSA (0,704) signifikant größer als die AUC des tPSA (0,602) [66].

Die Kombination von KLK2, PSA, %fPSA und intaktem PSA verbesserte in einer Screeningkohorte von 740 Männern den AUC-Wert von 0,68 auf 0,83 verglichen mit einem Modell, das nur das Alter und den PSA-Wert einbezog [129]. Multiple Kallikreine im Serum könnten somit die Vorhersage des Biopsieergebnisses verbessern.

### Kallikreine und andere Serummarker in multivariaten Modellen

Die Anwendung der Kallikreine und anderer Biomarker sowie deren Rolle in multivariaten Modellen wurde bereits ausführlich in mehreren Übersichtsarbeiten beschrieben [19, 121, 130, 131]. Die Einbeziehung von weiteren Kallikreinen außer dem KLK3 in PSA- und %fPSA-basierten ANN-Modellen erfolgte erstmals mit dem KLK2 [48, 132]. Die Spezifität mit dem Modell konnte gegenüber der alleinigen Auswertung des %fPSA nur geringfügig verbessert werden. Nur im niedrigen tPSA-Bereich 1–4  $\mu\text{g/L}$ , jedoch nicht im Bereich 4–10  $\mu\text{g/L}$  konnte das KLK2 im ANN-Modell die Spezifität gegenüber dem %fPSA an den typischen Sensitivitätsgrenzwerten von 90 und 95 % signifikant erhöhen [132].

Nach initial hoffnungsvollen Resultaten mit dem KLK11, welches die Spezifität in Kombination mit dem %fPSA erhöhte [72], konnte eine andere Studie mit dem KLK11 in einem %fPSA-basierten ANN allerdings nur noch eine marginal verbesserte Differenzierung zwischen PCA und BPH nachweisen [133]. Während der AUC-Wert mit 0,84 für das ANN zwar signifikant größer als der des %fPSA war, konnte eine Spezifitätsverbesserung gegenüber dem %fPSA und tPSA mit dem KLK11 basierten ANN bei 90 % Sensitivität nur in einer Subpopulation mit erhöhtem PCA-Risiko und %fPSA-Werten  $<15$  erzielt werden [133].

Die bereits erwähnten neuen Serummarker MIC-1 und MIF zeigten in einem %fPSA- und KLK11-basierten ANN einen erhöhten AUC-Wert im Vergleich zum %fPSA (0,86 vs. 0,81), aber keine Unterschiede bei 90 % oder 95 % Sensitivität [75]. Nur wenn das Prostatavolumen einbezogen wurde, war der Vorteil des ANNs mit den Markern KLK11, MIC-1 und MIF im Vergleich zum %fPSA immer nachweisbar [75].

Mit dem Eingangsparameter IGF-1 innerhalb von multivariaten Modellen wurden zwei Studien publiziert [134, 135]. Während KLK2 und IGF-1 in der diagnostischen „Grauzone“ allein nicht zwischen PCa und NEM unterschieden, hatten der KLK2/fPSA Quotient im tPSA-Bereich 4–10 µg/L und der Quotient IGF-1/fPSA bei tPSA-Werten >10 µg/L den größten Einfluss innerhalb der multivariaten Analyse. Allerdings war in der multivariaten Analyse aller 345 Patienten das %fPSA der stärkste Parameter [134]. Nur im tPSA-Bereich 4–10 µg/L ergab der Vergleich der AUC-Werte einen geringen Vorteil für die Quotienten KLK2/fPSA (0,74) und IGF-1/fPSA (0,75) gegenüber dem %fPSA (0,71) [134]. Eine ähnlich verbesserte Differenzierung zwischen PCa und NEM im Vergleich zum %fPSA (AUC: 0,69) wurde in einer anderen Studie an 586 Patienten im tPSA-Bereich 4–10 µg/L für den Quotienten IGF-1/fPSA (0,75) nachgewiesen [135]. Ein LR-Modell bestätigte das größte Potenzial für den IGF-1/fPSA Quotienten (odds ratio für IGF-1/fPSA: 4,74). Bei 90% Sensitivität hatten IGF-1/fPSA eine 10% höhere Spezifität verglichen mit dem %fPSA [135].

Eine multivariate Analyse des PSP94 in einer Studie mit 1212 Männern zeigte einen erhöhten AUC-Wert (0,74) für ein Modell mit PSP94 und %fPSA im Vergleich zum Standardmodell nur mit dem Alter, der DRU, der Ethnizität und dem tPSA (AUC: 0,66) und dem Modell nur mit PSP94 oder %fPSA allein (AUC jeweils 0,72) [89]. In der Patientengruppe (n=649) mit tPSA Werten <20 µg/L war das Modell mit PSP94 und %fPSA (AUC: 0,75) deutlich besser als das Standardmodell mit tPSA (0,56), %fPSA (0,64) oder PSP94 allein (0,67) [89].

### Multivariate Modelle mit Urinmarkern

Kürzlich wurden erste Daten präsentiert, bei denen die Resultate des PCA3-Testes und des Genfusionstranskripts TMPRSS2-ERG kombiniert wurden [136, 137]. Eine erste Studie untersuchte beide Parameter im Urin von 108 Patienten [137]. Für die 78 PCa-Patienten ergab die Analyse für das TMPRSS2-ERG Genfusions-transkript eine Sensitivität von 37%, während der PCA3-Test eine Sensitivität von 62% aufwies. Die Kombination beider Parameter verbesserte die Sensitivität auf 73% [137]. Wesentlich war jedoch, dass für Männer mit dauerhaft erhöhten PSA-Werten und negativen Biopsien der positiv prädiktive Wert des TMPRSS2-ERG Genfusionstranskripts bei 94% lag [137].

In einer zweiten Studie an 32 PCa- und 73 NEM-Patienten wurden zusätzlich zu den Urinparametern PCA3 und TMPRSS2-ERG auch die PSA-Serumkonzentrationen ausgewertet [136]. PCA3 allein hatte einen AUC-Wert von 0,65, die Kombination mit dem TMPRSS2-ERG-Genfusionstranskript erhöhte den Wert auf 0,77. Die Hinzunahme des PSA steigerte den AUC-Wert auf 0,80 [136]. Bei 67% Sensitivität wurde eine 77%ige Spezifität unter Kombination aller 3 Parameter erzielt. Allerdings konnten mithilfe des LR-Modells keine besseren Sensitivitäten und Spezifitäten als mit den individuellen Grenzwerten der Einzelparameter erzielt werden. Diese initialen Daten zeigen, dass zwischen den Urinmarkern PCA3 und TMPRSS2-ERG ein synergistischer diagnostischer Effekt zu erwarten ist und dass die zusätzliche Integration von Serummarkern unter Nutzung multivariater Modelle eine weitere Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft ermöglichen könnte. Eine baldige klinische Erprobung der Kombination von PCA3 und TMPRSS2-ERG wird durch das neue Testsystemkit für TMPRSS2-ERG begünstigt [31].

Im einem ersten publizierten Nomogramm mit Integration des PCA3 und weiteren Parametern wie PSA, Alter, DRU-Befund, Prostatavolumen aber ohne %fPSA war zwar eine Verbesserung

der AUC von 0,68 auf 0,725 möglich, jedoch wurden knapp 400 Patienten der 1206 Probanden wegen fehlender Werte von der Analyse ausgeschlossen. Eine signifikante AUC-Steigerung ( $p=0,04$ ) war jedoch nur bei einem PCA3-Grenzwert von 17 vorhanden [67].

Für das TMPRSS2-ERG Genfusionstranskript zeigten prospektive Daten von 252 PCa-Patienten mit einem 9-jährigen Nachbeobachtungszeitraum eine deutliche Assoziation mit der Tumoraggressivität (Gleason-Score >7) und dem karzinomspezifischen Überleben [29]. Damit haben offensichtlich die beiden Urinparameter PCA3 und TMPRSS2-ERG eindeutiges Potenzial, aggressive und lebensbeeinträchtigende Tumore nachzuweisen.

Eine multivariate Regressionsanalyse mit den Urinparametern SPINK1, PCA3, GOLPH2 und TMPRSS2-ERG ergab einen signifikant höheren AUC-Wert (0,758), als die alleinigen Parameter PCA3 (0,662) oder PSA (0,51) [24]. Eine zweite aktuelle Studie mit den Methylierungsmarkern GSTP1, RARB und APC im Urin zeigte einen erhöhten AUC-Wert von 0,65 für die multivariate Kombination aller 3 Marker, dem tPSA, DRU Status und dem Alter, während tPSA allein (AUC: 0,54), nur die 3 neuen Marker zusammen oder nur die klinischen Parameter zusammen (AUC jeweils 0,6) schlechter abschnitten [25]. Allerdings war die Verbesserung der AUC nicht statistisch signifikant [25].

### Schlussfolgerungen

Im letzten Jahrzehnt hat das %fPSA und v. a. die Einbeziehung dieses Wertes in multivariate Modelle die diagnostische Spezifität des PSA verbessert. Das (–2)proPSA, dass mit einem automatisierten p2PSA-Test gemessen werden kann, hat von allen molekularen Formen des PSA das größte Potenzial, die Spezifität des %fPSA weiter zu steigern und damit die Diskrimination zwischen Patienten mit und ohne Prostatakarzinom zu erhöhen. Bisher gelang das aber nur unter Anwendung von LR- oder ANN-Modellen. Nach anfänglich hoffnungsvollen Resultaten für die Kallikreine und v. a. für das KLK2 hat bisher kein Mitglied der Kallikreinfamilie neben dem PSA (KLK3) als Routineparameter den Eingang in die Diagnostik des PCa gefunden. Von allen neuen Serummarkern hatte EPCA2 die besten diagnostischen Resultate mit extrem hohen Sensitivitäten und Spezifitäten, aber diese Ergebnisse konnten bisher nicht bestätigt werden. PCA3 als Urinmarker hat das Potenzial die PCa-Detektion und v. a. die Entdeckung von aggressiven Tumoren zu verbessern. Hier bestätigten zahlreiche Studien vieler unabhängiger Arbeitsgruppen die initialen Daten. Eine Kombination des TMPRSS2-ERG-Genfusions-transkripts mit dem PCA3 oder anderen Urin- bzw. Serummarkern ist zukünftig eine der hoffnungsvollsten Möglichkeiten, die PCa-Diagnostik zu verbessern. Diese Kombinationen könnte auch für die Prognose oder Therapieauswahl zukünftig Bedeutung erlangen. Die zusammengefassten Daten dieser Übersicht zeigen aber auch, dass einige LR-basierte Nomogramme und ANN-Modelle kritisch evaluiert werden müssen. Generell sollten beide Methoden, LR und ANN genutzt werden, um die Spezifität von Einzelmarkern weiter zu optimieren.

### Danksagungen

Diese Studie wurde partiell durch die DFG (STE 996/2–1), die SONNENFELD-Stiftung, die Monika-Kutzner-Stiftung und die Berliner Sparkassenstiftung Medizin unterstützt.



## Literatur

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71–96
- 2 Aus G, Damber JE, Khatami A et al. Individualized screening interval for prostate cancer based on prostate-specific antigen level: results of a prospective, randomized, population-based study. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1857–1861
- 3 Postma R, Schroder FH, van Leenders GJ et al. Cancer detection and cancer characteristics in the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) – Section Rotterdam. A comparison of two rounds of screening. *Eur Urol* 2007; 52: 89–97
- 4 Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level  $\leq 4.0$  ng per milliliter. *N Engl J Med* 2004; 350: 2239–2246
- 5 Stamey TA, Caldwell M, McNeal JE et al. The prostate specific antigen era in the United States is over for prostate cancer: What happened in the last 20 years? *J Urol* 2004; 172: 1297–1301
- 6 Schroder FH, Roobol MJ, van der Kwast TH et al. Does PSA velocity predict prostate cancer in pre-screened populations? *Eur Urol* 2006; 49: 460–465
- 7 Thompson IM, Ankerst DP, Chi C et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 529–534
- 8 Berger AP, Deibl M, Strasak A et al. Large-scale study of clinical impact of PSA velocity: long-term PSA kinetics as method of differentiating men with from those without prostate cancer. *Urology* 2007; 69: 134–138
- 9 Loeb S, Roehl KA, Catalona WJ et al. Prostate specific antigen velocity threshold for predicting prostate cancer in young men. *J Urol* 2007; 177: 899–902
- 10 Mistry K, Cable G. Meta-analysis of prostate-specific antigen and digital rectal examination as screening tests for prostate carcinoma. *J Am Board Fam Pract* 2003; 16: 95–101
- 11 Draisma G, Boer R, Otto SJ et al. Lead times and overdiagnosis due to prostate-specific antigen screening: estimates from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 868–878
- 12 Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 2009; 360: 1320–1328
- 13 Andriole GL, Grubb III RL, Buys SS et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med* 2009; 360: 1310–1319
- 14 Vis AN, Hoedemaeker RF, Roobol M et al. Tumor characteristics in screening for prostate cancer with and without rectal examination as an initial screening test at low PSA (0.0–3.9 ng/ml). *Prostate* 2001; 47: 252–261
- 15 Lilja H, Ulmert D, Vickers AJ. Prostate-specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 268–278
- 16 Loeb S, Catalona WJ. Prostate-specific antigen in clinical practice. *Cancer Lett* 2007; 249: 30–39
- 17 Schroder FH, Carter HB, Wolters T et al. Early detection of prostate cancer in 2007. Part 1: PSA and PSA kinetics. *Eur Urol* 2008; 53: 468–477
- 18 Stephan C, Boker N, Cammann H et al. Artificial neural network (ANN) velocity better identifies benign prostatic hyperplasia but not prostate cancer compared with PSA velocity. *BMC Urol* 2008; 8: 10
- 19 Sardana G, Dowell B, Diamandis EP. Emerging Biomarkers for the Diagnosis and Prognosis of Prostate Cancer. *Clin Chem* 2008; 54: 1951–1960
- 20 Herawi M, Epstein JI. Immunohistochemical antibody cocktail staining (p63/HMWCK/AMACR) of ductal adenocarcinoma and Gleason pattern 4 cribriform and noncribriform acinar adenocarcinomas of the prostate. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 889–894
- 21 Harden SV, Sanderson H, Goodman SN et al. Quantitative GSTP1 methylation and the detection of prostate adenocarcinoma in sextant biopsies. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1634–1637
- 22 Reynolds MA, Kastury K, Groskopf J et al. Molecular markers for prostate cancer. *Cancer Lett* 2007; 249: 5–13
- 23 Wright JL, Lange PH. Newer potential biomarkers in prostate cancer. *Rev Urol* 2007; 9: 207–213
- 24 Laxman B, Morris DS, Yu J et al. A first-generation multiplex biomarker analysis of urine for the early detection of prostate cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 645–649
- 25 Vener T, Derecho C, Baden J et al. Development of a multiplexed urine assay for prostate cancer diagnosis. *Clin Chem* 2008; 54: 874–882
- 26 Reynolds MA. Molecular alterations in prostate cancer. *Cancer Lett* 2008; 271: 13–24
- 27 Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005; 310: 644–648
- 28 Tomlins SA, Laxman B, Dhanasekaran SM et al. Distinct classes of chromosomal rearrangements create oncogenic ETS gene fusions in prostate cancer. *Nature* 2007; 448: 595–599
- 29 Demichelis F, Fall K, Perner S et al. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene* 2007; 26: 4596–4599
- 30 Laxman B, Tomlins SA, Mehra R et al. Noninvasive detection of TMPRSS2:ERG fusion transcripts in the urine of men with prostate cancer. *Neoplasia* 2006; 8: 885–888
- 31 Groskopf J, Siddiqui J, Aubin SMJ et al. Feasibility and clinical utility of a TMPRSS2:ERG gene fusion urine test [Abstract]. *Eur Urol Suppl* 2009; 8: 195
- 32 Morris DS, Tomlins SA, Montie JE et al. The discovery and application of gene fusions in prostate cancer. *BJU Int* 2008; 102: 276–282
- 33 Stenman UH, Leinonen J, Alfthan H et al. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 222–226
- 34 Lilja H, Christensson A, Dahlen U et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clin Chem* 1991; 37: 1618–1625
- 35 De Angelis G, Rittenhouse HG, Mikolajczyk SD et al. Twenty Years of PSA: From Prostate Antigen to Tumor Marker. *Rev Urol* 2007; 9: 113–123
- 36 Stenman UH, Abrahamsson PA, Aus G et al. Prognostic value of serum markers for prostate cancer. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 2005; (216): 64–81
- 37 Stephan C, Jung K, Lein M et al. PSA and other tissue kallikreins for prostate cancer detection. *Eur J Cancer* 2007; 43: 1918–1926
- 38 Catalona WJ, Smith DS, Wolfert RL et al. Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA* 1995; 274: 1214–1220
- 39 Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998; 279: 1542–1547
- 40 Zhang WM, Finne P, Leinonen J et al. Characterization and immunological determination of the complex between prostate-specific antigen and alpha2-macroglobulin. *Clin Chem* 1998; 44: 2471–2479
- 41 Zhang WM, Finne P, Leinonen J et al. Measurement of the complex between prostate-specific antigen and alpha1-protease inhibitor in serum. *Clin Chem* 1999; 45: 814–821
- 42 Allard WJ, Zhou Z, Yeung KK. Novel immunoassay for the measurement of complexed prostate-specific antigen in serum. *Clin Chem* 1998; 44: 1216–1223
- 43 Brawer MK, Meyer GE, Letran JL et al. Measurement of complexed PSA improves specificity for early detection of prostate cancer. *Urology* 1998; 52: 372–378
- 44 Lein M, Kwiatkowski M, Semjonow A et al. A multicenter clinical trial on the use of complexed prostate specific antigen in low prostate specific antigen concentrations. *J Urol* 2003; 170: 1175–1179
- 45 Stephan C, Schnorr D, Loening SA et al. Re: Roddam AW, Duffy MJ, Hamdy FC et al. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2–10 ng/ml: systematic review and meta-analysis. *Eur Urol* 2005; 48: 386–399: 1059–1060
- 46 Mikolajczyk SD, Grauer LS, Millar LS et al. A precursor form of PSA (pPSA) is a component of the free PSA in prostate cancer serum. *Urology* 1997; 50: 710–714
- 47 Peter J, Unverzagt C, Krogh TN et al. Identification of precursor forms of free prostate-specific antigen in serum of prostate cancer patients by immunosorption and mass spectrometry. *Cancer Res* 2001; 61: 957–962
- 48 Bangma CH, Wildhagen MF, Yurdakul G et al. The value of (–7, –5)pro-prostate-specific antigen and human kallikrein-2 as serum markers for grading prostate cancer. *BJU Int* 2004; 93: 720–724
- 49 Lein M, Semjonow A, Graefen M et al. A multicenter clinical trial on the use of (–5, –7) pro prostate specific antigen. *J Urol* 2005; 174: 2150–2153



- 50 Stephan C, Meyer HA, Paul EM et al. Serum (-5,-7) proPSA for distinguishing stage and grade of prostate cancer. *Anticancer Res* 2007; 27: 1833–1836
- 51 Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG et al. Serum pro prostate specific antigen improves cancer detection compared to free and complexed prostate specific antigen in men with prostate specific antigen 2 to 4 ng/ml. *J Urol* 2003; 170: 2181–2185
- 52 Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG et al. Serum pro-prostate specific antigen preferentially detects aggressive prostate cancers in men with 2 to 4 ng/ml prostate specific antigen. *J Urol* 2004; 171: 2239–2244
- 53 Sokoll LJ, Wang Y, Feng Z et al. [-2]proenzyme prostate specific antigen for prostate cancer detection: a national cancer institute early detection research network validation study. *J Urol* 2008; 180: 539–543
- 54 Mikolajczyk SD, Rittenhouse HG. Pro PSA: a more cancer specific form of prostate specific antigen for the early detection of prostate cancer. *Keio J Med* 2003; 52: 86–91
- 55 Peyromaure M, Fulla Y, Debre B et al. Pro PSA: a “pro cancer” form of PSA? *Med Hypotheses* 2005; 64: 92–95
- 56 Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ et al. “BPSA”, a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2000; 55: 41–45
- 57 Wang TJ, Slawin KM, Rittenhouse HG et al. Benign prostatic hyperplasia-associated prostate-specific antigen (BPSA) shows unique immunoreactivity with anti-PSA monoclonal antibodies. *Eur J Biochem* 2000; 267: 4040–4045
- 58 Canto EI, Singh H, Shariat SF et al. Serum BPSA outperforms both total PSA and free PSA as a predictor of prostatic enlargement in men without prostate cancer. *Urology* 2004; 63: 905–910
- 59 Linton HJ, Marks LS, Millar LS et al. Benign prostate-specific antigen (BPSA) in serum is increased in benign prostate disease. *Clin Chem* 2003; 49: 253–259
- 60 Slawin KM, Shariat S, Canto E. BPSA: A novel serum marker for benign prostatic hyperplasia. *Rev Urol* 2005; 7 Suppl8: S52–S56
- 61 Stephan C, Cammann H, Deger S et al. BPHA (bPSA) improves detection of prostate cancer in an artificial neural network. *Urology* 2009; online available
- 62 de Vries SH, Raaijmakers R, Blijenberg BG et al. Additional use of [-2] precursor prostate-specific antigen and “benign” PSA at diagnosis in screen-detected prostate cancer. *Urology* 2005; 65: 926–930
- 63 Mikolajczyk SD, Marks LS, Partin AW et al. Free prostate-specific antigen in serum is becoming more complex. *Urology* 2002; 59: 797–802
- 64 Nurmikko P, Vaisanen V, Piironen T et al. Production and characterization of novel anti-prostate-specific antigen (PSA) monoclonal antibodies that do not detect internally cleaved Lys145–Lys146 inactive PSA. *Clin Chem* 2000; 46: 1610–1618
- 65 Nurmikko P, Pettersson K, Piironen T et al. Discrimination of prostate cancer from benign disease by plasma measurement of intact, free prostate-specific antigen lacking an internal cleavage site at Lys145–Lys146. *Clin Chem* 2001; 47: 1415–1423
- 66 Steuber T, Nurmikko P, Haese A et al. Discrimination of benign from malignant prostatic disease by selective measurements of single chain, intact free prostate specific antigen. *J Urol* 2002; 168: 1917–1922
- 67 Chun FK, de la TA, van PH et al. Prostate Cancer Gene 3 (PCA3): Development and Internal Validation of a Novel Biopsy Nomogram. *Eur Urol* 2009; online available
- 68 Yousef GM, Diamandis EP. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev* 2001; 22: 184–204
- 69 Lundwall A, Band V, Blaber M et al. A comprehensive nomenclature for serine proteases with homology to tissue kallikreins. *Biol Chem* 2006; 387: 637–641
- 70 Kwiatkowski MK, Recker F, Piironen T et al. In prostatism patients the ratio of human glandular kallikrein to free PSA improves the discrimination between prostate cancer and benign hyperplasia within the diagnostic “gray zone” of total PSA 4 to 10 ng/mL. *Urology* 1998; 52: 360–365
- 71 Partin AW, Catalona WJ, Finlay JA et al. Use of human glandular kallikrein 2 for the detection of prostate cancer: preliminary analysis. *Urology* 1999; 54: 839–845
- 72 Nakamura T, Scorilas A, Stephan C et al. The usefulness of serum human kallikrein 11 for discriminating between prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Cancer Res* 2003; 63: 6543–6546
- 73 Rabien A, Fritzsche F, Jung M et al. High expression of KLK14 in prostatic adenocarcinoma is associated with elevated risk of prostate-specific antigen relapse. *Tumour Biol* 2008; 29: 1–8
- 74 Brown DA, Stephan C, Ward RL et al. Measurement of serum levels of macrophage inhibitory cytokine 1 combined with prostate-specific antigen improves prostate cancer diagnosis. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 89–96
- 75 Stephan C, Xu C, Brown DA et al. Three new serum markers for prostate cancer detection within a percent free PSA-based artificial neural network. *Prostate* 2006; 66: 651–659
- 76 Meyer-Siegler KL, Bellino MA, Tannenbaum M. Macrophage migration inhibitory factor evaluation compared with prostate specific antigen as a biomarker in patients with prostate carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 1449–1456
- 77 Michael A, Stephan C, Kristiansen G et al. Diagnostic validity of macrophage migration inhibitory factor in serum of patients with prostate cancer: a re-evaluation. *Prostate* 2005; 62: 34–39
- 78 Tahir SA, Ren C, Timme TL et al. Development of an immunoassay for serum caveolin-1: a novel biomarker for prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3653–3659
- 79 Tahir SA, Frolov A, Hayes TG et al. Preoperative serum caveolin-1 as a prognostic marker for recurrence in a radical prostatectomy cohort. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4872–4875
- 80 Paul B, Dhir R, Landsittel D et al. Detection of prostate cancer with a blood-based assay for early prostate cancer antigen. *Cancer Res* 2005; 65: 4097–4100
- 81 Leman ES, Cannon GW, Trock BJ et al. EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer. *Urology* 2007; 69: 714–720
- 82 Diamandis EP. POINT: EPCA-2: a promising new serum biomarker for prostatic carcinoma? *Clin Biochem* 2007; 40: 1437–1439
- 83 Leman ES, Magheli A, Cannon GW et al. Analysis of a second EPCA-2 epitope as a serum test for prostate cancer. *J Urol [Suppl]* 2008; 179: 704
- 84 Stattin P, Rinaldi S, Biessy C et al. High levels of circulating insulin-like growth factor-I increase prostate cancer risk: a prospective study in a population-based nonscreened cohort. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3104–3112
- 85 Finne P, Auvinen A, Koistinen H et al. Insulin-like growth factor I is not a useful marker of prostate cancer in men with elevated levels of prostate-specific antigen. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 2744–2747
- 86 Oliver SE, Holly J, Peters TJ et al. Measurement of insulin-like growth factor axis does not enhance specificity of PSA-based prostate cancer screening. *Urology* 2004; 64: 317–322
- 87 Roddam AW, Allen NE, Appleby P et al. Insulin-like growth factors, their binding proteins, and prostate cancer risk: analysis of individual patient data from 12 prospective studies. *Ann Intern Med* 2008; 149: 461–468
- 88 von der Kammer H, Jurincic-Winkler C, Horlbeck R et al. The potential use of prostatic secretory protein of 94 amino acid residues (PSP94) as a serum marker for prostatic tumor. *Urol Res* 1993; 21: 227–233
- 89 Nam RK, Reeves JR, Toi A et al. A novel serum marker, total prostate secretory protein of 94 amino acids, improves prostate cancer detection and helps identify high grade cancers at diagnosis. *J Urol* 2006; 175: 1291–1297
- 90 Reeves JR, Dulude H, Panchal C et al. Prognostic value of prostate secretory protein of 94 amino acids and its binding protein after radical prostatectomy. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 6018–6022
- 91 Wozny W, Schroer K, Schwall GP et al. Differential radioactive quantification of protein abundance ratios between benign and malignant prostate tissues: cancer association of annexin A3. *Proteomics* 2007; 7: 313–322
- 92 Kollermann J, Schlomm T, Bang H et al. Expression and prognostic relevance of Annexin A3 in prostate cancer. *Eur Urol* 2008; 54: 1314–1323
- 93 Schostak M, Schwall GP, Poznanovic S et al. Annexin A3 in Urine: A highly specific noninvasive marker for prostate cancer early detection. *J Urol* 2009; 181: 343–353
- 94 Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I et al. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003; 44: 8–15
- 95 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: 1089–1095
- 96 Haese A, de la Taille A, van Poppel H et al. Clinical Utility of the PCA3 urine assay in european men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 2008; 54: 1081–1088

- 97 de la Taille A, Irani J, de Reijke TM et al. Can Prostate cancer gene (PCA3) predict initial biopsy outcome? [Abstract]. J Urol [Suppl] 2009; 181: 655
- 98 Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA et al. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. J Urol 2008; 179: 1804–1809
- 99 Whitman EJ, Groskopf J, Ali A et al. PCA3 score before radical prostatectomy predicts extracapsular extension and tumor volume. J Urol 2008; 180: 1975–1978
- 100 van Gils MP, Hessels D, Hulsbergen-van de Kaa CA et al. Detailed analysis of histopathological parameters in radical prostatectomy specimens and PCA3 urine test results. Prostate 2008; 68: 1215–1222
- 101 Schilling DA, Hennenlotter J, von Weyhern CH et al. Does the PCA3 score depend on tumor localization within the prostate? – A morphometric computer animated analysis. J Urol [Suppl] 2009; 181: 655
- 102 Varambally S, Laxman B, Mehra R et al. Golgi protein GOLM1 is a tissue and urine biomarker of prostate cancer. Neoplasia 2008; 10: 1285–1294
- 103 Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. Nature 2009; 457: 910–914
- 104 Jung K. Re: The Metabolites Citrate, Myo-Inositol, and Spermine Are Potential Age-Independent Markers of Prostate Cancer in Human Expressed Prostatic Secretions. European Urology 2008; 54: 1198–1199
- 105 Chun FK, Karakiewicz PI, Briganti A et al. A critical appraisal of logistic regression-based nomograms, artificial neural networks, classification and regression-tree models, look-up tables and risk-group stratification models for prostate cancer. BJU Int 2007; 99: 794–800
- 106 Hernandez DJ, Han M, Humphreys EB et al. Predicting the outcome of prostate biopsy: comparison of a novel logistic regression-based model, the prostate cancer risk calculator, and prostate-specific antigen level alone. BJU Int 2008; online available
- 107 Shariat SF, Capitanio U, Jeldres C et al. Can nomograms be superior to other prediction tools? BJU Int 2008; online available
- 108 Chun FK, Graefen M, Briganti A et al. Initial biopsy outcome prediction–head-to-head comparison of a logistic regression-based nomogram versus artificial neural network. Eur Urol 2007; 51: 1236–1240
- 109 Finne P, Finne R, Bangma C et al. Algorithms based on prostate-specific antigen (PSA), free PSA, digital rectal examination and prostate volume reduce false-positive PSA results in prostate cancer screening. Int J Cancer 2004; 111: 310–315
- 110 Kawakami S, Numao N, Okubo Y et al. Development, validation, and head-to-head comparison of logistic regression-based nomograms and artificial neural network models predicting prostate cancer on initial extended biopsy. Eur Urol 2008; 54: 601–611
- 111 Djavan B, Remzi M, Zlotta A et al. Novel artificial neural network for early detection of prostate cancer. J Clin Oncol 2002; 20: 921–929
- 112 Finne P, Finne R, Auvinen A et al. Predicting the outcome of prostate biopsy in screen-positive men by a multilayer perceptron network. Urology 2000; 56: 418–422
- 113 Kalra P, Togami J, Bansal BSG et al. A neurocomputational model for prostate carcinoma detection. Cancer 2003; 98: 1849–1854
- 114 Dreiseitl S, Ohno-Machado L. Logistic regression and artificial neural network classification models: a methodology review. J Biomed Inform 2002; 35: 352–359
- 115 Sargent DJ. Comparison of artificial neural networks with other statistical approaches. Cancer 2001; 91: 1636–1642
- 116 Chun FKH, Karakiewicz PI, Briganti A et al. Significance of PSA inter-assay variability on clinical prostate cancer detection-aids [Abstract]. J Urol [Suppl] 2008; 179: 722
- 117 Stephan C, Meyer HA, Cammann H et al. Re: Chun FK-H, Graefen M, Briganti A, Gallina A, Hopp J, Kattan MW, Huland H, Karakiewicz PI. Initial biopsy outcome prediction – head-to-head comparison of a logistic regression-based nomogram versus artificial neural network. Eur Urol 2007; 51: 1236–1243: 1446–1447
- 118 Snow PB, Smith DS, Catalona WJ. Artificial neural networks in the diagnosis and prognosis of prostate cancer: a pilot study. J Urol 1994; 152: 1923–1926
- 119 Babaian RJ, Fritsche H, Ayala A et al. Performance of a neural network in detecting prostate cancer in the prostate-specific antigen reflex range of 2.5 to 4.0 ng/mL. Urology 2000; 56: 1000–1006
- 120 Stephan C, Jung K, Cammann H et al. An artificial neural network considerably improves the diagnostic power of percent free prostate-specific antigen in prostate cancer diagnosis: Results of a 5-year investigation. Int J Cancer 2002; 99: 466–473
- 121 Stephan C, Cammann H, Meyer HA et al. PSA and new biomarkers within multivariate models to improve early detection of prostate cancer. Cancer Lett 2007; 249: 18–29
- 122 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: 274–290
- 123 Stephan C, Cammann H, Meyer HA et al. An artificial neural network for five different assay systems of prostate-specific antigen in prostate cancer diagnostics. BJU Int 2008; 102: 799–805
- 124 Stephan C, Xu C, Cammann H et al. Assay-specific artificial neural networks for five different PSA assays and populations with PSA 2–10 ng/ml in 4480 men. World J Urol 2007; 25: 95–103
- 125 Stephan C, Xu C, Finne P et al. Comparison of two different artificial neural networks for prostate biopsy indication in two different patient populations. Urology 2007; 70: 596–601
- 126 Keller T, Butz H, Lein M et al. Discordance analysis characteristics as a new method to compare the diagnostic accuracy of tests: example of complexed versus total prostate-specific antigen. Clin Chem 2005; 51: 532–539
- 127 Stephan C, Meyer HA, Kwiatkowski M et al. A (–5, –7) ProPSA based artificial neural network to detect prostate cancer. Eur Urol 2006; 50: 1014–1020
- 128 Stephan C, Kahrs AM, Cammann H et al. A [–2]proPSA-based artificial neural network significantly improves differentiation between prostate cancer and benign prostatic diseases. Prostate 2009; 69: 198–207
- 129 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
- 130 Emami N, Diamandis EP. Utility of kallikrein-related peptidases (KLKs) as cancer biomarkers. Clin Chem 2008; 54: 1600–1607
- 131 Parekh DJ, Ankerst DP, Troyer D et al. Biomarkers for prostate cancer detection. J Urol 2007; 178: 2252–2259
- 132 Stephan C, Jung K, Soosaipillai A et al. Clinical utility of human glandular kallikrein 2 within a neural network for prostate cancer detection. BJU Int 2005; 96: 521–527
- 133 Stephan C, Meyer HA, Cammann H et al. Improved prostate cancer detection with a human kallikrein 11 and percentage free PSA-based artificial neural network. Biol Chem 2006; 387: 801–805
- 134 Scorilas A, Plebani M, Mazza S et al. Serum human glandular kallikrein (hK2) and insulin-like growth factor 1 (IGF-1) improve the discrimination between prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in combination with total and %free PSA. Prostate 2003; 54: 220–229
- 135 Zhigang Z, Jiemi L, Su L et al. Serum insulin-like growth factor I/free prostate specific antigen (IGF-I/fPSA) ratio enhances prostate cancer detection in men with total PSA 4.0–10.0 ng/mL. J Surg Oncol 2007; 96: 54–61
- 136 Aubin SM, Miick S, Williamsen S et al. Improved prediction of prostate biopsy outcome using PCA3, TMPRSS2:ERG gene fusion and serum PSA. J Urol [Suppl] 2008; 179: 725
- 137 Hessels D, Smit FP, Verhaegh GW et al. Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer. Clin Cancer Res 2007; 13: 5103–5108