



BIOMARCADOR URINARIO PARA DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE PRÓSTATA. SELECT MDX

Título del documento	BIOMARCADOR URINARIO PARA DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE PRÓSTATA. SELECT MDX
Fecha	Octubre 2019
Tipo de documento	Respuesta rápida
Autoría	Elvira Muslera Canclini. OESTPA
Revisión	Martín Caicoya Gómez-Morán. Experto en epidemiología clínica
Servicio/Organismo solicitante	Subdirección de Atención Sanitaria y Salud Pública, Servicios Médicos. Servicio de Urología del HUCA

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, el cáncer de próstata (CaP) se considera uno de los problemas médicos más importantes a los que se enfrenta la población masculina. En Europa, el CaP es la neoplasia sólida más frecuente, con una incidencia de 214 casos por 1.000 varones, superando en número a los cánceres de pulmón y colorrectal. Además, el CaP constituye actualmente la segunda causa más frecuente de mortalidad por cáncer en los varones. Desde 1985, se ha producido un ligero aumento del número de muertes por CaP en la mayoría de las naciones, incluso en países o regiones en los que el CaP no es frecuente.

El CaP afecta a los varones ancianos con mayor frecuencia que a los jóvenes. Por consiguiente, supone un mayor problema de salud en los países desarrollados, ya que cuentan con una mayor proporción de varones ancianos. Así, alrededor del 15 % de los cánceres en varones son CaP en los países desarrollados, en comparación con el 4 % en aquellos en vías de desarrollo. Conviene señalar que hay notables diferencias regionales en las tasas de incidencia.

En Asturias, para el período 2008-2010, la incidencia (tasa cruda) de CaP fue de 154,3 casos por 100.000 y la incidencia ajustada a población mundial fue de 72,1 por 100.000. De esta forma el CaP es el cáncer más frecuente -20% de todos los cánceres- entre la población masculina asturiana, superando al cáncer de pulmón, vejiga y colon.

1.1 Descripción del producto SelectMDx

SelectMDx es una prueba de orina no invasiva ("biopsia líquida"), que mide la expresión de dos biomarcadores relacionados con el cáncer de ARNm (HOXC6 y DLX1). La prueba proporciona resultados binarios que, cuando se combinan con los factores de riesgo clínicos del paciente, pueden ayudar al médico a decidir si:

- El paciente puede beneficiarse de una biopsia y de la detección precoz de cáncer de próstata, o
- El paciente puede evitar una biopsia y volver a la detección de rutina.

La utilidad clínica definida por la empresa proveedora es la siguiente:

- Los hombres identificados por la prueba como de alto riesgo de tener cáncer pueden, después de la biopsia, ser diagnosticados y tratados antes, mientras que los hombres identificados como de muy bajo riesgo pueden evitar la biopsia.
- El valor predictivo negativo (VPN) de la prueba es del 95%, lo que significa que si la prueba identifica un riesgo muy bajo, el médico y el paciente pueden estar seguros en un 95% de que el paciente no tiene la puntuación de Gleason ≥ 7 de cáncer de próstata y evitar una biopsia.
- La prueba tiene una precisión predictiva muy alta (AUC 0.85) para el cáncer de próstata de alto grado, que es significativamente mejor que la versión 2 de la calculadora de riesgo del Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT).

1.2 El proceso de detección precoz y diagnóstico del cáncer de próstata

Según la última actualización, 2019, de la Guía Europea de la Asociación Europea de Urología elaborada para el diagnóstico y tratamiento del CaP las intervenciones respecto al cribado y diagnóstico precoz se explican a continuación.

1.2.1 Cribado poblacional y oportunístico

El cribado poblacional se define como un examen sistemático a hombres asintomáticos – potencialmente en riesgo- y suele ser iniciado por la autoridad sanitaria, sus principales objetivos son la reducción de la mortalidad por PCa y un aumento en la calidad de vida expresada en años de vida ajustados por calidad (AVAC).

Actualmente, la detección del CaP es uno de los temas más controvertidos en la literatura urológica. En 2009, tres grandes ECA prospectivos publicaron datos sobre el cribado, lo que dio lugar a posiciones contradictorias y documentos estratégicos. Algunos autores sostienen que seguir las pautas actuales de la Asociación Urológica Americana (AUA) o las recomendaciones del Grupo de Trabajo de Servicios Preventivos de los EE.UU. (USPSTF) de 2012 para la detección precoz puede llevar a que se pase por alto un número considerable de hombres con enfermedades agresivas.

En 2017, el USPSTF emitió una declaración actualizada sugiriendo que los hombres entre 55 y 69 años debían ser informados acerca de los beneficios y daños del cribado basado en el PSA, ya que podría estar asociado con un pequeño beneficio de supervivencia. El USPSTF ha elevado esta recomendación a un grado C (anteriormente grado anterior D). La recomendación de grado D sigue en vigor para los hombres mayores de 70 años. Esto representa un cambio importante, ya que desalienta el cribado basado en PSA (grado D) para ofrecer un cribado oportunista, atendiendo a las circunstancias individuales.

Una comparación entre el cribado sistemático y el oportunista sugirió un sobre-diagnóstico y una reducción de la mortalidad en el grupo de cribado sistemático en comparación con un mayor sobre-diagnóstico con un beneficio marginal de supervivencia, en el mejor de los casos, en el cribado oportunista. El impacto potencial de este tema requiere del nivel más alto de evidencia a través de una búsqueda sistemática en la literatura de todos los ensayos publicados o cohortes resumidas en un metanálisis. Los análisis de subgrupos de cohortes que forman parte de ensayos grandes, o las proyecciones matemáticas solas, no pueden proporcionar la calidad de evidencia necesaria para abordar adecuadamente esta cuestión clínica.

Una revisión Cochrane publicada en 2013, presenta el resumen principal hasta la fecha. Los hallazgos de la publicación actualizada (basados en una búsqueda bibliográfica hasta el 3 de abril de 2013) son casi idénticos a los de la revisión de 2009:

- El cribado se asocia con un mayor diagnóstico de CaP (RR: 1,3; IC del 95%: 1,02 a 1,65).
- El cribado se asocia con la detección de una enfermedad más localizada (RR: 1,79; IC del 95%: 1,19-2,70) y CaP menos avanzado (T3-4, N1, M1) (RR: 0,80; IC del 95%: 0,73-0,87).

- De los resultados de cinco ECAs, que asignaron al azar a más de 341 000 hombres, no se observó ningún beneficio de supervivencia específico de CaP (RR: 1,00; IC del 95%: 0,86 a 1,17). Esta fue la variable principal evaluada en todos los ensayos.
- A partir de los resultados de cuatro ECAs disponibles, no se observó ningún beneficio de supervivencia global (RR: 1,00; IC del 95%: 0,96 a 1,03).

Además, el cribado se asoció con daños menores y mayores como el sobre-diagnóstico y el sobre-tratamiento. Sorprendentemente, el diagnóstico mediante biopsia no se asoció con ninguna mortalidad en los trabajos seleccionados, lo que contrasta con otros datos conocidos.

El impacto sobre la calidad de vida general del paciente aún no está claro, aunque nunca se ha demostrado que el cribado poblacional sea perjudicial, estos hallazgos han llevado a que en todos los países, incluidos los de Europa, se emita un firme dictamen en contra del cribado poblacional sistemático.

Desde 2013, los datos del European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) se han actualizado con trece años de seguimiento. El mensaje clave es que con un seguimiento prolongado, la reducción de la mortalidad se mantiene sin cambios 21%, y 29% después del ajuste por incumplimiento.

1.2.2 Detección precoz

Se podría ofrecer una estrategia individualizada adaptada al riesgo para la detección precoz a un hombre bien informado con una esperanza de vida de al menos diez a quince años. Es importante identificar cuidadosamente al paciente teniendo en cuenta el equilibrio con los daños involucrados. Sin embargo, este enfoque puede estar asociado con un riesgo sustancial de sobre-diagnóstico. Es esencial recordar que romper el vínculo entre el diagnóstico y el tratamiento activo es la única manera de disminuir el exceso de tratamiento, al tiempo que se mantiene el beneficio potencial del diagnóstico temprano individual para los hombres que lo solicitan.

Los hombres en alto riesgo de tener CaP son aquellos > 50 años o a la edad > 45 años con antecedentes familiares de CaP, o afroamericanos. Además, los hombres con un PSA > 1 ng/mL a los 40 años y > 2 ng/mL a los 60 años también tienen un mayor riesgo de metástasis de CaP o muerte por CaP varias décadas después. La supervivencia a largo plazo y los beneficios en la calidad de vida de un enfoque de este tipo aún no han sido probados a nivel de población. En 2014, al igual que en el caso del cáncer de mama, se ha demostrado prospectivamente una anomalía genética asociada a un aumento del riesgo.

El uso de DRE solo en el ámbito de la atención primaria presentó una sensibilidad y especificidad inferior al 60%, posiblemente debido a la inexperiencia, y por lo tanto constituye una prueba suficiente para excluir CaP. A los hombres informados que solicitan un diagnóstico precoz se les debe realizar una prueba de PSA y someterse a un tacto rectal (DRE). Se desconocen los intervalos óptimos para las pruebas de PSA y el seguimiento del DRE, ya que hay discrepancias entre los ECAs prospectivos. Una sola prueba de PSA en hombres entre 50 y 69 años no mejoró la

supervivencia específica a diez años de CaP en comparación con la atención estándar en un ECA grande en un contexto de atención primaria.

Una estrategia adaptada al riesgo podría ser una consideración, basada en el nivel inicial de PSA. Esto podría ser cada dos años para aquellos que inicialmente están en riesgo, o pospuesto hasta ocho a diez años en aquellos que no están en riesgo con un PSA inicial < 1 ng/mL a los 40 años y un PSA < 2 ng/mL a los 60 años de edad y un historial familiar negativo. Los datos del brazo Goteborg del ensayo ERSPC sugieren que la edad en la que se debe suspender el diagnóstico precoz sigue siendo controvertida, pero la esperanza de vida de una persona debe tenerse en cuenta de manera definitiva. Es poco probable que los hombres que tienen una expectativa de vida de menos de quince años se beneficien, según los datos del Prostate Cancer Intervention Versus Observation Trial (PIVOT) y los ensayos del ERSPC. Además, aunque no existe una herramienta sencilla para evaluar la esperanza de vida individual, la comorbilidad es al menos tan importante como la edad.

Ahora se dispone de múltiples herramientas para determinar la necesidad de una biopsia para establecer el diagnóstico de un CaP, incluyendo imágenes por RMN. Se ha demostrado que los nuevos marcadores biológicos como la fusión TMRSS2-ERG, PCA3 o las calicreinas incorporadas en las pruebas Phi o 4Kscore añaden sensibilidad y especificidad además del PSA, lo que evita potencialmente la realización de biopsias innecesarias y reduce el sobre-diagnóstico. En este momento, los datos son demasiado limitados para aplicar estos marcadores en los programas de cribado de rutina.

Las calculadoras de riesgo pueden ser útiles para ayudar a determinar (de manera individual) cuál puede ser el riesgo potencial de cáncer, reduciendo así el número de biopsias innecesarias. Se dispone de varias herramientas desarrolladas a partir de estudios de cohorte, entre las que se incluyen:

- a cohorte PCPT: PCPTRC 2.0 <http://myprostatecancerrisk.com/>
- la cohorte del ERSPC: <http://www.prostatecancer-riskcalculator.com/seven-prostate-cancer-risk-calculators>
- En 2017 se presentó una versión actualizada que incluía la predicción del riesgo bajo y alto, basada ahora también en el sistema de clasificación de la RUI y la presencia de crecimiento cribiforme en histología.
- una cohorte canadiense local: <https://sunnybrook.ca/content/?page=asure-calc> (entre otros).
- Puesto que ninguna de estas calculadoras de riesgo ha demostrado claramente su superioridad, sigue siendo una decisión personal en cuanto a cuál utilizar.

Resumen de las recomendaciones en relación con el cribado poblacional y detección precoz.



Recommendations	LE	Strength rating
Do not subject men to prostate-specific antigen (PSA) testing without counselling them on the potential risks and benefits.	3	Strong
Offer an individualised risk-adapted strategy for early detection to a well-informed man with a good performance status (PS) and a life-expectancy of at least ten to fifteen years.	3	Strong
Offer early PSA testing in well-informed men at elevated risk of having PCa: <ul style="list-style-type: none"> men > 50 years of age; men > 45 years of age and a family history of PCa; African-Americans > 45 years of age. 	2b	Strong
Offer a risk-adapted strategy (based on initial PSA level), with follow-up intervals of two years for those initially at risk: <ul style="list-style-type: none"> men with a PSA level of > 1 ng/mL at 40 years of age; men with a PSA level of > 2 ng/mL at 60 years of age; Postpone follow-up to eight years in those not at risk.	3	Weak
Stop early diagnosis of PCa based on life expectancy and PS; men who have a life-expectancy of < fifteen years are unlikely to benefit.	3	Strong

EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Barcelona 2019. ISBN 978-94-92671-04-2.

1.3 Diagnóstico diferencial

Los principales instrumentos diagnósticos para obtener indicios de CaP son el tacto rectal, la concentración sérica de PSA y la ecografía transrectal (ETR). El diagnóstico definitivo depende de la verificación histopatológica del adenocarcinoma en núcleos de biopsia de próstata o de muestras de resección transuretral de la próstata (RTUP). El examen histopatológico también permite la gradación y determinación de la extensión del tumor.

Examen rectal digital (DRE):

La mayoría de los PCs se localizan en la zona periférica y pueden ser detectados por el DRE cuando el volumen es > 0.2 mL. En aproximadamente el 18% de todos los pacientes se detecta un CaP a partir de un DRE sospechoso aislado, con independencia de la concentración de PSA. Un DRE sospechoso en pacientes con un nivel de PSA < 2 ng/mL tiene un valor predictivo predictivo positivo (PPV) de 5-30%. Un DRE anormal está asociado con un mayor riesgo de grado ISUP superior y es una indicación para la biopsia.

Antígeno prostático específico (PSA):

El uso del PSA como marcador sérico ha revolucionado el diagnóstico de PCa. El PSA es una serina proteasa afín a la calicreína que producen casi exclusivamente las células epiteliales de la próstata. A efectos prácticos, tiene especificidad de órgano, pero no de cáncer. Por tanto, las concentraciones séricas pueden aumentar en presencia de hipertrofia benigna de próstata (HBP),

prostatitis y otras enfermedades no malignas. El valor de PSA como variable independiente es un mejor factor predictivo de cáncer que los hallazgos sospechosos en el TR o la ETR.

Hay muchos equipos diferentes de análisis comercial para determinar el PSA, pero no existen valores de referencia internacionales aceptados de forma generalizada. La concentración de PSA es un parámetro continuo: cuanto mayor es el valor, más probabilidades hay de que exista un CaP. Esto significa que no hay un valor umbral o límite superior aceptado de forma universal. El hallazgo de que muchos varones pueden tener un CaP, a pesar de presentar concentraciones bajas de PSA, ha sido subrayado por los resultados recientes de un estudio de prevención estadounidense. En la tabla se presenta la tasa de CaP en relación con el PSA sérico en 2.950 varones del grupo placebo y con valores normales de PSA.

Riesgo de CaP en relación con valores bajos de PSA		
PSA level (ng/mL)	Risk of PCa (%)	Risk of ISUP grade > 2 PCa (%)
0.0-0.5	6.6	0.8
0.6-1.0	10.1	1.0
1.1-2.0	17.0	2.0
2.1-3.0	23.9	4.6
3.1-4.0	26.9	6.7

EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Barcelona 2019. ISBN 978-94-92671-04-2.

Estos datos ponen de relieve una cuestión importante con respecto a la disminución del umbral de concentración de PSA, a saber, cómo evitar la detección de cánceres insignificantes cuya evolución natural tiene pocas probabilidades de ser potencialmente mortal. Hasta ahora, no se dispone de datos a largo plazo que ayuden a determinar el valor umbral óptimo de PSA para detectar un CaP no palpable, pero clínicamente significativo.

Ecografía transrectal (ETR):

No siempre se observa el cuadro clásico de un área hipoecoica en la zona periélica de la próstata. La ETR en escala de grises no detecta áreas de CaP con una fiabilidad adecuada. Por consiguiente, no resulta útil sustituir las biopsias sistemáticas por biopsias dirigidas de las áreas sospechosas. Sin embargo, las biopsias adicionales de las áreas sospechosas pueden ser útiles.

Test de orina:

PCA3 marker: El gen 3 del cáncer de próstata (PCA3) es un biomarcador de microARN (ARNm) no codificado específico de la próstata, que se detecta en los sedimentos urinarios obtenidos inmediatamente después del masaje prostático durante el DRE. La prueba de orina de ProgenSA para PCA3, disponible en el mercado, es superior al PSA total y libre para la detección de PCa en hombres con PSA elevado, ya que muestra aumentos significativos en el área bajo la curva característica receptor-operador para biopsias positivas.

La puntuación de PCA3 aumenta con el volumen de CaP, pero hay datos contradictorios respecto a si predice de forma independiente el grado de la ISUP, y su uso para el seguimiento en la vigilancia activa todavía no se ha confirmado. Actualmente, la principal indicación para la prueba de Progenza es determinar si es necesario repetir la biopsia después de una biopsia inicialmente negativa, pero su efectividad clínica para este propósito es incierta. Wei et al. mostraron una sensibilidad del 42%, con una alta especificidad (91%) y un VPP del 80%.

SelectMDX: es similar a la anterior, se basa en el aislamiento del biomarcador de ARNm en la orina. La presencia de HOXC6 y DLX1 se evalúa para proporcionar una estimación del riesgo de CaP en la biopsia como de cáncer de alto riesgo.

Fusión Tmprss2-ERG: una fusión de la proteasa trans-membrana serina 2 (TMprSS2) y el gen ERG puede detectarse en el 50% de las CaPs. Cuando la detección de TmprSS2-ERG en orina se añadió a la expresión de PCA3 y a la puntuación de PSA (Mi(chigan)Prostate Score[MiPS]) en suero, la predicción del cáncer mejoró. Los exosomas segregados por células cancerosas pueden contener diagnóstico de ARNm para CaP de alto grado. El uso del ensayo ExoDx Prostate IntelliScore en orina dio como resultado que se evitó el 27% de las biopsias innecesarias en comparación con el estándar de atención. Sin embargo, actualmente, tanto el puntaje MiPS como el ensayo ExoDx se consideran de investigación.

En seis estudios de comparación directa entre PCA3 y PHI, sólo Seisen et al. encontraron una diferencia significativa; PCA3 detectó más cánceres, pero para aquellas situaciones definidas como de grado ISUP > 2, más de tres núcleos positivos, o > 50% de participación del cáncer en cualquier núcleo, la PHI demostró ser superior. En la población de cribado del estudio ERSPC, el uso de las tablas PCA3 y 4K añadió valor al calculador de riesgo, pero las diferencias en las AUC fueron inferiores a 0,03. En base a la evidencia disponible, algunos biomarcadores podrían ayudar a discriminar entre tumores agresivos y no agresivos con un valor adicional en comparación con los parámetros pronósticos utilizados actualmente por los médicos. La mpMRI inicial puede probablemente afectar la utilidad de los biomarcadores antes mencionados.

Recomendación	Nivel Evidencia	Grado recomendación
Para evitar biopsias innecesarias, ofrezca una evaluación de riesgo adicional a los hombres asintomáticos con un examen rectal digital (EDR) normal y un nivel de antígeno prostático específico (PSA) entre 2-10 ng/mL antes de realizar una biopsia de próstata. Utilice una de las siguientes herramientas: Calculador de riesgo; Imagen; Una prueba adicional sérica o de orina.	3	fuerte

EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Barcelona 2019. ISBN 978-94-92671-04-2.

1.4 Recomendaciones PCAI Asturias

En nuestra comunidad la actualización del PCAI de abril de 2017 estableció no recomendar la realización de programas de detección precoz de cáncer de próstata en población sana, salvo que tengan antecedentes familiares en cuyo caso debería realizarse entre los 40-50 años.

La población entre 40-50 años, con PSA basal, podría beneficiarse de una detección precoz y está bien informado de las ventajas e inconvenientes de la misma.

2. ¿ES UNA PRESTACIÓN DE LA CARTERA DE SERVICIOS DEL SISTEMA NACIONAL DE SALUD?

Actualmente no.

La demanda, objeto de este informe, se expresa de la siguiente manera: *se solicita la inclusión de la prueba SELECT MDX en la clínica con el fin de identificar (mediante biopsia líquida) a los pacientes con mayor riesgo de sufrir cáncer de próstata agresivo, en pacientes ya seleccionados por presentar factores clínicos que sugieren un mayor riesgo de cáncer de próstata clínicamente significativo.* Por tanto, descarta explorar la utilidad de esta tecnología en el escenario del seguimiento de casos de bajo riesgo.

3. ¿HAY INFORME DE EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS SANITARIAS REALIZADO POR UNA AGENCIA DE EVALUACIÓN DE TS O REVISIONES SISTEMÁTICAS DE LA LITERATURA?

Se realizaron tres búsquedas en la literatura científica siguiendo la metodología para búsquedas rápidas:

1. [NHS Centre for Reviews and Dissemination \(CRD\)](#) que incluye
 - a. [-DARE \(Database of Abstracts of Reviews of Effects\)](#): contiene resúmenes de artículos que valoran y sintetizan RS de efectividad.
 - b. [-NHS EED](#): contiene resúmenes de artículos sobre evaluaciones económicas de intervenciones en atención sanitaria.
 - c. [-HTA](#) (Health Technology Assessment): contiene informes de evaluación de tecnologías sanitarias e información de proyectos en curso realizados por las mismas agencias.
 - d. [-INAHTA](#): informes de otras agencias o unidades de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Incluye los informes de la Red Española de Agencias de EvTS.
 - e. [-EuroScan International Network](#): informes de tecnologías nuevas y emergentes.
2. [Biblioteca Cochrane Plus](#)
3. [Embase](#)

Palabras clave: SelectMDx; PCA3 ProgenSA Test; urine test and prostate cancer; biomarkers and prostate cancer.

Período de búsqueda 01/2014 a 08/2019.

4. RESULTADOS

En las búsquedas señaladas se localizaron 159 artículos, de ellos se seleccionaron 35 en relación con el tema que nos ocupa y posterior a su lectura, se recuperan 4 para elaborar este documento: una revisión sistemática, un estudio coste-efectividad, y dos estudios prospectivos. De ellos, solo los autores de la revisión sistemática declaran no tener ningún conflicto de intereses ni financiación de las empresas proveedoras de los tests estudiados.

Utilizando la revisión sistemática de, *Ghadeer Olleik, Wassim Kassouf, Armen Aprikian, Jason Hu, Marie Vanhuysse, Fabio Cury, Stuart Peacock, Elin Bonnevier, Ebba Palenius, and Alice Dragomir, Evaluation of New Tests and Interventions for Prostate Cancer Management: A Systematic Review. J Natl Compr Canc Netw 2018;16(11):1340–1351*, se expone a continuación el diagrama que explica el proceso de atención del diagnóstico y tratamiento del CaP, en el que se considera la posición en la asistencia de los nuevos biomarcadores.

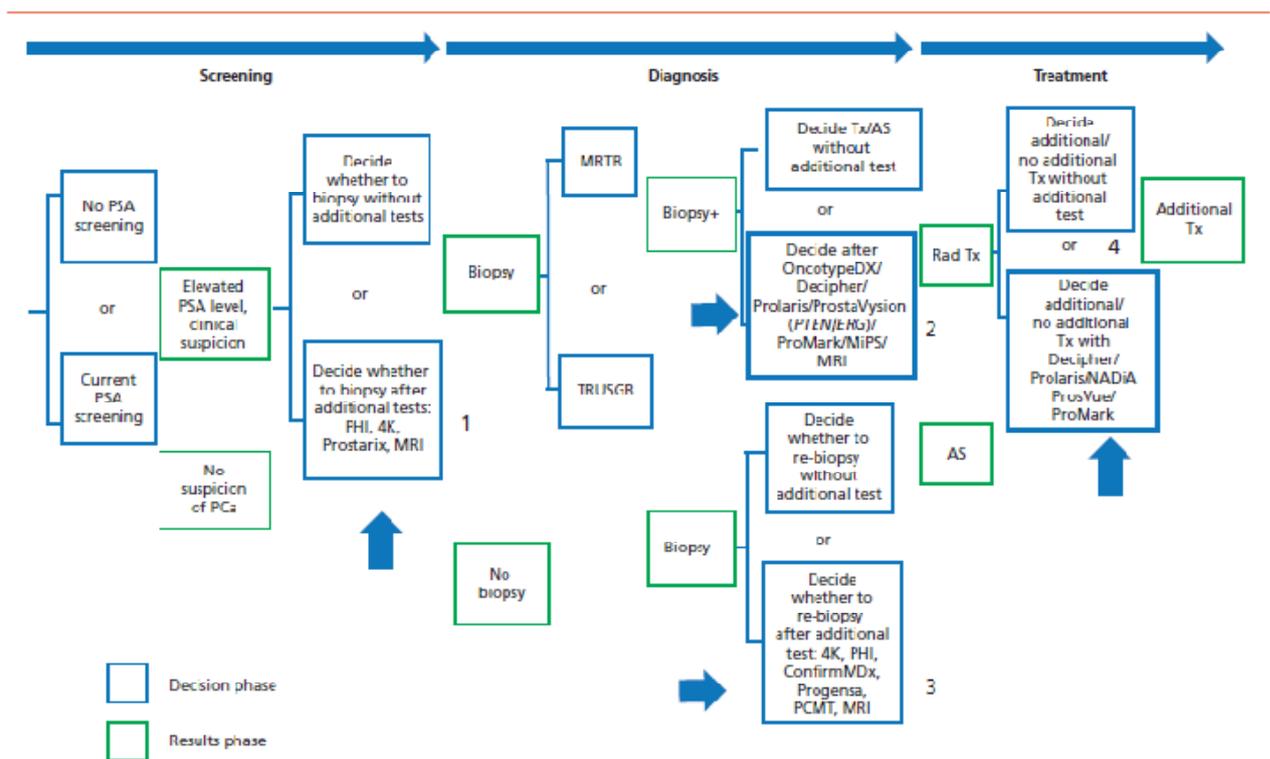


Figure 1. Diagram of interventions grouped according to different stages of PCa. 1 = tests before first biopsy; 2 = tests after a positive biopsy; 3 = tests after a negative biopsy; 4 = tests after Rad Tx. Abbreviations: 4K, 4Kscore; AS, active surveillance; MIPS, Mi-Prostate Score; MRTR, MRI-targeted biopsy; PCa, prostate cancer; PCMT, Prostate Core Mitomic Test; PHI, Prostate Health Index; PSA, prostate-specific antigen; Rad Tx, radical treatment; TRUSGB, transrectal ultrasound-guided biopsy; Tx, treatment.

El SelectMDx se consideraría de utilidad dentro del proceso de sospecha clínica, según lo explica el propio proveedor y se expuso al inicio del documento.

Decide whether
to biopsy after
additional tests:
PHI, 4K,
Prostarix, MRI 1

En el algoritmo del proceso se ubicaría , aunque la revisión sistemática no lo menciona, muy probablemente porque los estudios publicados hasta el momento son escasos, nueve en total, todos ellos financiados por el laboratorio o con autores vinculados al mismo. En la bibliografía se encuentran referenciados.

El resumen de la revisión se transcribe a continuación.

Background: Inaccurate risk classification and the burden of unnecessary biopsies are a challenge due to the limited ability of current risk assessment tools and modalities to diagnose prostate cancer (PCa) and distinguish indolent from aggressive disease. This systematic review assesses newly developed tests and interventions with high evidence of clinical utility that might be adopted in clinical practice during PCa management before initial and repeat biopsy, after positive biopsy, and after radical treatment.

Methods: The Cochrane, Embase, MEDLINE, and Web of Science databases were searched for studies pertaining to the clinical utility of PCa diagnostic tests. Outcomes of interest were (1) a measure of the percentage of altered decision-making, (2) decrease in number of unnecessary biopsies, (3) decrease or increase in treatment intensity, and (4) risk reclassification after test results.

Results: The search yielded 2,940 articles, of which 46 met the inclusion criteria. We found clinical utility evidence on the Prostate Health Index (PHI), 4Kscore test, MRI, OncotypeDX, Decipher test, Prolaris, ConfirmMDx, ProgenSA PCA3, NADiA Prosvue, and ProMark. No evidence was identified for Prostarix, ProstaVysion, Prostate Core Mitomic Test, and Mi-Prostate Score. The interventions demonstrated their clinical utility in terms of change in treatment recommendations, decrease/increase in interventional treatment, decrease in biopsy, and risk reclassification. At diagnosis after a positive biopsy, ProMark, OncotypeDX, Prolaris, and MRI guided the use of active surveillance. Use of NADiA Prosvue, Decipher, and Prolaris aided in the decision to add adjuvant therapy post-prostatectomy. PHI, 4Kscore, and MRI used prior initial and repeat biopsies, and ConfirmMDx and ProgenSA PCA3 used prior repeat biopsies to improve prediction of biopsy outcome, allowing a decrease in unnecessary biopsies.

Conclusions: This systematic review suggests that implementation of these tests in clinical practice could effectuate personalized treatment of PCa. Further clinical and economic evaluation studies of long-term PCa outcomes are warranted to provide further guidance.

La evaluación económica de, *Tim M. Govers, Daphne Hessels, Virginie Vlaeminck-Guillem, Bernd J. Schmitz-Dräger, Christian G. Stief, Claudio Martinez-Ballesteros, Matteo Ferro, Angel Borque-Fernando, Jose Rubio-Briones, J. P. Michiel Sedelaar, Wim van Criekinge, Jack A. Schalken* **Cost-effectiveness of SelectMDx for prostate cancer in four European countries: a comparative modeling study** *Prostate Cancer and Prostatic Diseases (2019) 22:101–109*, es una modelización que utiliza el modelo de Markov para simular el coste por año de vida ganados ajustado por calidad para cuatro países europeos.

El resumen de la evaluación económica se transcribe a continuación.

Background: Low specificity of prostate-specific antigen results in a considerable number of unnecessary prostate biopsies in current practice. SelectMDx® predicts significant prostate cancer upon biopsy and is used to reduce the number of unnecessary initial prostate biopsies. Furthermore, potential overtreatment of insignificant prostate cancer can be reduced. Besides the diagnostic accuracy of the test, also the context in a specific country determines the potential health benefit and costeffectiveness. Therefore, the health benefit and cost-effectiveness of SelectMDx were assessed in France, Germany, Italy, and Spain.

Subject and methods: A decision model was used to compare the current standard of care in which men undergo initial prostate biopsy in case of an elevated prostate-specific antigen, to a strategy in which SelectMDx was used to select men for biopsy. Model inputs most relevant to each of the four countries were obtained. With use of the model long-term qualityadjusted life years (QALYs) and healthcare costs were calculated for both strategies.

Results: In all four countries, the SelectMDx resulted in QALY gain and cost savings compared with the current standard of care. In France, SelectMDx resulted in 0.022 QALYs gained and cost savings of €1217 per patient. For Germany, the model showed a QALY gain of 0.016 and a cost saving of €442. In Italy, the QALY gain and cost savings were 0.031 and €762. In Spain 0.020 QALYs were gained and €250 costs were saved.

Conclusions: The results of the model showed that with SelectMDx, QALYs could be gained while saving healthcare costs in the initial diagnosis of prostate cancer. The significant presence of overtreatment in the current standard of care in all four countries was the main factor that resulted in the beneficial outcomes with SelectMDx.

Este ejercicio teórico requiere de un número importante de hipótesis de trabajo y estimaciones, por lo que los resultados de ahorro de costes no pueden tomarse como reales para ninguno de los países. Puede considerarse como una forma de comparación y análisis que debe trasladarse a la situación local.

Cabe señalar que según los costes reflejados para España son los más bajos de los cuatro países. La diferencia en años de vida ajustados por calidad es muy pequeña (0,02). El estudio supone una disminución del 41% en el riesgo de realizar biopsias innecesarias para diagnosticar CaP y un 8% en identificar CaP insignificantes. Esta hipótesis debería contrastarse en nuestro entorno, ya que la estrategia de diagnóstico en nuestra comunidad puede presentar diferencias con las suposiciones aquí consideradas.

El estudio retrospectivo de *Leander Van Neste, Rianne J. Hendriks, Siebren Dijkstra, Geert Trooskens, Erik B. Cornel, Sander A. Jannink, Hans de Jong, Daphne Hessels, Frank P. Smit, Willem J.G. Melchers, Gisèle H.J.M. Leyten, Theo M. de Reijke, Henk Vergunst, Paul Kil, Ben C. Knipscheer, Christina A. Hulsbergen-van de Kaaj, Peter F.A. Mulders, Inge M. van Oort, Wim Van Criekinge, Jack A. Schalken, Detection of High-grade Prostate Cancer Using a Urinary Molecular Biomarker-Based Risk Score. EUROPEAN UROLOGY 70 (2016) 740–748* <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.04.012>, desarrolla un modelo multimodal, que incorpora biomarcadores de ARN (ARNm) previamente identificados y factores de riesgo

tradicionales, que pueden identificar a pacientes con PCa de alto grado (puntuación de Gleason 7) en la biopsia de próstata.

El resumen se copia a continuación.

Background: To reduce over diagnosis and overtreatment, a test is urgently needed to detect clinically significant prostate cancer (PCa).

Objective: To develop a multimodal model, incorporating previously identified messenger RNA (mRNA) biomarkers and traditional risk factors that could be used to identify patients with high-grade PCa (Gleason score ≥ 7) on prostate biopsy.

Design, setting, and participants: In two prospective multicenter studies, urine was collected for mRNA profiling after digital rectal examination (DRE) and prior to prostate biopsy. The multimodal risk score was developed on a first cohort (n = 519) and subsequently validated clinically in an independent cohort (n = 386). Outcome measurements and statistical analysis: The mRNA levels were measured using reverse transcription quantitative polymerase chain reaction. Logistic regression was used to model patient risk and combine risk factors. Models were compared using the area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic, and clinical utility was evaluated with a decision curve analysis (DCA).

Results and limitations: HOXC6 and DLX1 mRNA levels were shown to be good predictors for the detection of high-grade PCa. The multimodal approach reached an overall AUC of 0.90 (95% confidence interval [CI], 0.85–0.95) in the validation cohort (AUC 0.86 in the training cohort), with the mRNA signature, prostate-specific antigen (PSA) density, and previous cancer-negative prostate biopsies as the strongest, most significant components, in addition to non significant model contributions of PSA, age, and family history. For another model, which included DRE as an additional risk factor, an AUC of 0.86 (95% CI, 0.80–0.92) was obtained (AUC 0.90 in the training cohort). Both models were successfully validated, with no significant change in AUC in the validation cohort, and DCA indicated a strong net benefit and the best reduction in unnecessary biopsies compared with other clinical decision-making tools, such as the Prostate Cancer Prevention Trial risk calculator and the PCA3 assay.

Conclusions: The risk score based on the mRNA liquid biopsy assay combined with traditional clinical risk factors identified men at risk of harboring high-grade PCa and resulted in a better patient risk stratification compared with current methods in clinical practice. Therefore, the risk score could reduce the number of unnecessary prostate biopsies.

Patient summary: This study evaluated a novel urine-based assay that could be used as a noninvasive diagnostic aid for high-grade prostate cancer (PCa). When results of this assay are combined with traditional clinical risk factors, risk stratification for high-grade PCa and biopsy decision making are improved.

El estudio de *Alexander Haese, Geert Trooskens, Sandra Steyaert, Daphne Hessels, Michael Brawer, Virginie Vlaeminck-Guillem, Alain Ruffion, Derya Tilki, Jack Schalken, Jack Groskopf and Wim Van Criekinge, Multicenter Optimization and Validation of a 2-Gene mRNA Urine Test for Detection of Clinically Significant Prostate Cancer before Initial Prostate Biopsy* The Journal of Urology Vol. 202, 256-263, August 2019, se realiza a partir de pacientes a los que se les hizo una biopsia.

El resumen se copia a continuación.

Purpose: A 2-gene, urine based molecular test that combines mRNA biomarkers with clinical factors can risk stratify patients for clinically significant prostate cancer. To ensure the generalizability of assay results we optimized and validated the clinical model for men with serum prostate specific antigen less than 10 ng/ml who were undergoing initial prostate biopsy.

Materials and Methods: Urine samples were collected from 1,955 men from The Netherlands, France and Germany prior to an initial prostate biopsy and study subjects were divided into training and validation cohorts. Urinary HOXC6 and DLX1 mRNA levels were quantified and RNA results were then combined with other risk factors in a clinical model optimized to detect ISUP (International Society of Urological Pathology) Grade Group 2 or greater prostate cancer in men with prostate specific antigen less than 10 ng/ml. Results in the validation cohort were compared with the PCPTRC (Prostate Cancer Prevention Trial Risk Calculator), version 2.0.

Results: The optimal clinical model included urinary HOXC6 and DLX1 mRNA levels, patient age, digital rectal examination and prostate specific antigen density (serum prostate specific antigen/prostate volume). In the 715 validation cohort subjects with prostate specific antigen less than 10 ng/ml the AUC was 0.82 with 89% sensitivity, 53% specificity and 95% negative predictive value. The PCPTRC AUC was 0.70. The full validation cohort of 916 men including all prostate specific antigen levels yielded an AUC of 0.85 with 93% sensitivity, 47% specificity and 95% negative predictive value. The PCPTRC AUC was 0.76.

Conclusions: The 2-gene based urine assay, which is optimized for biopsy naïve patients with serum prostate specific antigen less than 10 ng/ml, demonstrated high sensitivity and negative predictive value to detect clinically significant prostate cancer. These data support using the test to help guide initial prostate biopsy decisions.

5. PRINCIPALES CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES DE LA BIBLIOGRAFÍA SELECCIONADA

Según recoge la guía europea para diagnóstico diferencial y tratamiento del CaP, los principales instrumentos diagnósticos para obtener indicios de CaP son el tacto rectal, la concentración sérica de PSA y la ecografía transrectal (ETR). El diagnóstico definitivo depende de la verificación histopatológica del adenocarcinoma en núcleos de biopsia de próstata o de muestras de resección transuretral de la próstata (RTUP). El examen histopatológico también permite la gradación y determinación de la extensión del tumor.

Después de describir algunos de los biomarcadores que han salido al mercado, la guía europea recomienda que, para evitar biopsias innecesarias, se ofrezca una evaluación de riesgo adicional a los hombres asintomáticos con un examen rectal digital (DRE) normal y un nivel de antígeno prostático específico (PSA) entre 2-10 ng/mL antes de realizar una biopsia de próstata. Se recomienda utilizar una de las siguientes herramientas: Calculador de riesgo; Imagen o una prueba adicional sérica o de orina.

En nuestra comunidad, el PCAI también asume estas recomendaciones.

El SelectMDx se consideraría de utilidad dentro del proceso de diagnóstico temprano, según lo explica el propio proveedor, ayudaría a decidir si se remite el paciente a biopsia o se queda en un proceso de vigilancia activa.

Este marcador no es el único que hay en el mercado, en orina están además PCA3/Progensia; Prostarix, ExoDx Prostate IntelliScore y TMPRSS2: ERG y en sangre 4Kscore; CellSearch Circulation Tumor Cells y Prostate Health Index (PHI). Por lo que resultaría aconsejable comparar cuál de ellos resultaría más adecuado, en caso de considerarse su inclusión en el proceso asistencial.

Los nueve artículos recogidos de la literatura científica, que estudian el SelectMDx, presentan algún conflicto de interés, ya sea porque algunos de sus autores trabajan en la empresa proveedora o porque han recibido financiación de la misma. No se encontró ningún ensayo clínico, son estudios retrospectivos y modelizaciones. Por tanto, el nivel de calidad de la evidencia para el Select MDx sería de nivel III.

La principal variable de resultados de la introducción del SelectMDx es la reducción de las biopsias en hombres con factor de riesgo, pero no se ha medido en escenarios prospectivos.

6. CONSIDERACIONES PARA NUESTRA COMUNIDAD

Es importante señalar el papel de las pruebas diagnósticas en función de su validez. Las variadas estrategias diagnósticas dependerán de la velocidad y consecuencias de la enfermedad, de los costes de la prueba, en salud y recursos, de su sensibilidad y especificidad y de las opciones de sus alternativas. Cuando hay urgencia, se pueden emplear varias pruebas a la vez con lo que el rendimiento de cada una se eleva. No es el caso de la sospecha de cáncer, enfermedad de progresión lenta, donde es preferible emplear pruebas de manera secuencial en las que se comienza con aquellas de alta sensibilidad, aunque sea a expensas de la especificidad. Como consecuencia se obtiene un relativamente alto número de falsos positivos, lo que obliga a emplear pruebas de confirmación más específicas.

El reto más importante que presenta el tratamiento del cáncer de próstata es el manejo del cáncer temprano. Para ello se han diseñado diferentes herramientas, como se señalaron en la introducción, con el fin de caracterizarlo y decidir entre las opciones existentes. En este ámbito, cualquier herramienta que ayude a definir mejor el pronóstico y evite efectos secundarios o adversos por maniobras diagnósticas o tratamientos innecesarios puede ser de gran ayuda.

Se recuerda que, la demanda, objeto de este informe, se expresa de la siguiente manera: *se solicita la inclusión de la prueba SELECT MDX en la clínica con el fin de identificar (mediante biopsia líquida) a los pacientes con mayor riesgo de sufrir cáncer de próstata agresivo, en pacientes ya seleccionados por presentar factores clínicos que sugieren un mayor riesgo de cáncer de próstata clínicamente significativo.* Por tanto, descarta explorar la utilidad de esta tecnología en el escenario del seguimiento de casos de bajo riesgo.

La biopsia líquida podría ser una herramienta de gran utilidad en estos casos si puede evitar la biopsia de tejido prostático y sirviera para el seguimiento de los casos caracterizados de buen pronóstico.

Para facilitar estas conclusiones, las presentaremos en cinco subapartados.

Población objeto de aplicación potencial de la prueba según la solicitud recibida:

Pacientes con sospecha de cáncer de próstata basada en un PSA elevado (aunque no se especifica en la demanda, se asume que no se incluyen aquellos pacientes cuya cifra es superior a 10 ng/ml) que además tengan un tacto rectal positivo y una historia familiar de cáncer de próstata (no se aclara en qué grado). Este grupo sería el beneficiario de la TS biopsia líquida con 2-Gene MRA (Select MDx).

Se descarta la población sana, ya que hay claro consenso en no realizar cribado poblacional.

Incluir la subpoblación de cáncer de próstata de bajo riesgo para su vigilancia, requeriría una evaluación de esta tecnología específicamente para este fin. Por tanto, en esta respuesta no se discuten ni su papel en los cánceres de bajo riesgo clínico ni otras opciones de mercado de biopsia líquida que pueden tener diferentes grados de validez.

El diagnóstico de cáncer de próstata en pacientes con alta sospecha

Este es el escenario en el que se estudia el valor que aporta la biopsia líquida. Se parte de la realización de unas pruebas en batería de baja validez. En primer lugar el PSA, que dependiendo del nivel de corte, puede tener una buena sensibilidad sacrificando su especificidad, es decir, habrá pocos falsos negativos pero muchos falsos positivos. Ésta se aplica conjuntamente con el DRE que es de baja sensibilidad y especificidad y la historia familiar, aún con menos validez. Pero la positividad de estas dos últimas, unidas al elevado PSA, conforman una subpoblación con una alta probabilidad, a priori, de enfermedad que suele ser sometida a estudios confirmatorios cruentos.

Lo que se pretende con la biopsia líquida es evitar la biopsia de tejido en lo posible. Pero en casos de alta sospecha sería difícil aceptar un falso negativo, un caso de cáncer de próstata que se etiquete como no cáncer.

Validez de la biopsia líquida

Se utilizarán los dos estudios poblacionales antes citados para determinar la validez de la prueba: Van Neste L et al, 2016 y Haese A et al, 2019.

La sensibilidad de la biopsia líquida depende de la tecnología empleada y posiblemente de las características clínicas de la población, así es que un PSA más elevado probablemente eleve la sensibilidad. En el estudio de Van Neste et al 2016, la población examinada (cohorte B), con un valor mediana del PSA de 7,3, un 31,3% DRE positivo y 19,1% de historia familiar, la sensibilidad se sitúa alrededor del 90% mientras la especificidad es de 36% (HOXC6 y DLX1) para cualquier grado Gleason de cáncer de próstata.

El 46,9% de los sujetos con PSA elevado tenían cáncer y de ellos el 50% tenía un Gleason ≥ 7 .

En el estudio de Haese et al 2019, la población examinada (validación), con un valor mediana del PSA de 5,4, un 17% DRE positivo y 15% de historia familiar, la sensibilidad se sitúa alrededor del 93% (el 7% de los resultados del test serán falsos negativos), mientras la especificidad es de 52% (HOXC6 y DLX1).

El 43,5% de los sujetos con PSA elevado tenían cáncer y de ellos el 46,5% tenía un Gleason ≥ 7 .

Siguiendo a Haese et al 2019, el 21,3% de los sujetos con sospecha de cáncer de próstata tendrían un Gleason de 7 o más, pacientes con un riesgo alto de progresión según pronostica ese grado. Estos son los que pretende detectar la prueba que se propone. Según la propuesta, en el caso de que la biopsia líquida, caracterizada para detectar específicamente los cánceres con un Gleason de 7 o más, fuera negativa no se procedería a una biopsia de tejido ya que en caso de que tuviera cáncer sería de bajo grado. Se supone que pasarían a un programa de vigilancia, con PSA, DRE o con biopsia líquida, como se propone en la petición no suficientemente argumentado.

Los falsos negativos y sus consecuencias

De acuerdo con el estudio de validación de Haese et al 2019, el 7% de los pacientes con Gleason 7 o más (demostrado en la biopsia de tejido) tendrán un resultado del test negativo, siendo pacientes que se suponen de alto riesgo de progresión por sus características clínicas.

Es difícil con los medios actuales calcular el número de pacientes anuales que se encontrarán en esta situación. Haciendo una estimación, en Asturias se diagnostican unos 750 casos de cáncer de próstata al año (154,3 casos por 100000 varones). Casi el 50% serán GC2 o más, unos 375 hombres. Si la biopsia líquida se aplicara a todos los sospechosos, nos encontraríamos con unos 26 casos anuales que son falsos negativos (resultado de multiplicar 375 casos por tasa de falso negativos, 0,07). Pero si se aplica a los que tienen un DRE positivo, el 35% aproximadamente, el número sería 9 casos al año.

Por tanto, este sería el coste social de emplear la prueba para seleccionar mejor los casos. El beneficio sería evitar biopsias en sujetos que son sospechosos de cáncer de próstata pero no padecen esta enfermedad. Aplicando el escenario expuesto por Haese et al 2019, en el que la especificidad es del 53%, para esta subpoblación de alto riesgo de Asturias, se evitarían unas 140 biopsias ($750 * 53% * 35%$). El coste social serían unos 9 casos al año que podrán progresar y requerir un tratamiento más cruento y menos eficaz.

Como reflexión final, quizá cabría realizar algunas preguntas, como por ejemplo:

- 1-¿Es posible que la prueba de la biopsia líquida se positivice cuando el cáncer progrese, empleando los mismos niveles de corte propuestos?
- 2-Si esto es así ¿se tiene definido un protocolo de seguimiento de los pacientes negativos de este subgrupo de sospechosos de alto riesgo? En ese caso ¿con qué periodicidad y con qué métodos?

3-En caso de recomendarse la incorporación de esta prueba ¿se restringirá su uso solo para esta indicación y subgrupo?

4- Como consecuencia de lo anterior ¿Existe un protocolo de vigilancia activa? ¿Cómo se caracterizan los pacientes que se someten a este protocolo? ¿Se incluiría la biopsia líquida en ese protocolo?

En resumen, es difícil hacer una recomendación. Parece que la incorporación de la biopsia líquida evitaría la realización de un número importante de biopsias de tejido, que habría que contrastar con el coste de retrasar el tratamiento a algunos pacientes que en el momento de la prueba tenían un cáncer de grado GC2 o más.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Heidenreich, M. Bolla, S. Joniau, M.D. Mason, V. Matveev, N. Mottet, H-P. Schmid, T.H. Van der Kwast, T. Wiegel, F. Zattoni. Guía clínica sobre el cáncer de próstata. © European Association of Urology, ACTUALIZACIÓN EN ABRIL DE 2010.

2. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Barcelona 2019. ISBN 978-94-92671-04-2. EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands.
<http://uroweb.org/guidelines/compilations-of-all-guidelines/>

3. Ghadeer Olleik, Wassim Kassouf, Armen Aprikian, Jason Hu, Marie Vanhuyse, Fabio Cury, Stuart Peacock, Elin Bonnevier, Ebba Palenius, and Alice Dragomir, *Evaluation of New Tests and Interventions for Prostate Cancer Management: A Systematic Review*. *J Natl Compr Canc Netw* 2018;16(11):1340–1351

4. Tim M. Govers, Daphne Hessels, Virginie Vlaeminck-Guillem, Bernd J. Schmitz-Dräger, Christian G. Stief, Claudio Martinez-Ballesteros, Matteo Ferro, Angel Borque-Fernando, Jose Rubio-Briones, J. P. Michiel Sedelaar, Wim van Criekinge, Jack A. Schalken *Cost-effectiveness of SelectMDx for prostate cancer in four European countries: a comparative modeling study* *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* (2019) 22:101–109

5. Leander Van Neste, Rianne J. Hendriks, Siebren Dijkstra, Geert Trooskens, Erik B. Cornel, Sander A. Jannink, Hans de Jong, Daphne Hessels, Frank P. Smit, Willem J.G. Melchers, Gisèle H.J.M. Leyten, Theo M. de Reijke, Henk Vergunst, Paul Kil, Ben C. Knipscheer, Christina A. Hulsbergen-van de Kaaj, Peter F.A. Mulders, Inge M. van Oort, Wim Van Criekinge, Jack A. Schalken, *Detection of High-grade Prostate Cancer Using a Urinary Molecular Biomarker-Based Risk Score* <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.04.012>

6. Alexander Haese, Geert Trooskens, Sandra Steyaert, Daphne Hessels, Michael Brawer, Virginie Vlaeminck-Guillem, Alain Ruffion, Derya Tilki, Jack Schalken, Jack Groskopf and Wim Van Criekinge, *Multicenter Optimization and Validation of a 2-Gene mRNA Urine Test for Detection of Clinically Significant Prostate Cancer before Initial Prostate Biopsy* *The Journal of Urology* Vol. 202, 256-263, August 2019

7. Neal Shore, Jason Hafron, Timothy Langford, Marshall Stein, Jessica DeHart, Michael Brawer, Daphne Hessels, Jack Schalken, Wim Van Criekinge, Jack Groskopf y and Kirk Wojno Urinary Molecular Biomarker Test Impacts Prostate Biopsy Decision Making in Clinical Practice Urology Practice Vol. 6, 256-261, July 2019 <https://doi.org/10.1016/j.urpr.2018.09.002>
8. Govers TM, et al. (2018) Cost-Effectiveness of Urinary Biomarker Panel in Prostate Cancer Risk Assessment. J Urol. doi: 10.1016/j.juro.2018.07.034
9. Hessels D, et al. (2017) Analytical validation of an mRNA-based urine test to predict the presence of high-grade prostate cancer. Translational Medicine Communications, 2:5. doi: 10.1186/s41231-017-0014-8.
10. Dijkstra S, et al. (2017) Cost-effectiveness of a new urinary biomarker-based risk score compared to standard of care in prostate cancer diagnostics - a decision analytical model. BJU Int, 120(5):659-665. doi: 10.1111/bju.13861.
11. Alinezhad S, et al. (2016) Validation of Novel Biomarkers for Prostate Cancer Progression by the Combination of Bioinformatics, Clinical and Functional Studies. PLoS ONE, 11 (5): e0155901. doi: 10.1371/journal.pone.0155901.
12. Leyten GH, et al. (2015) Identification of a Candidate Gene Panel for the Early Diagnosis of Prostate Cancer. Clin Cancer Res, 21 (13):3061-70.
13. Vikram M Narayan, Badrinath R Konety and Christopher Warlick Novel biomarkers for prostate cancer: An evidence-based review for use in clinical practice International Journal of Urology (2017) 24, 352--360 doi: 10.1111/iju.13326