

# Prostat kanserinde PSA dışı tümör belirteçleri

## NON-PSA biomarkers for prostate cancer

Dr. Yarkın Kamil Yakupoğlu, Dr. Yakup Bostancı, Dr. Ender Özden

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Samsun

### ÖZET

**Amaç:** Prostat kanserinin (PK) tanısında ve prognozunu belirlemede ön plana çıkan PSA dışı tümör belirteçleri hakkında çıkan son gelişmeleri gözden geçirmek.

**Bulgular:** Prostat spesifik antijenin (PSA) tümör belirteci olarak kullanılmaya başlaması, prostat kanserinin tedavi ve takibinde yeni bir çığır açmıştır. Ancak özgüllüğünün yetersiz olması ve tanı anında klinik önemli kanseri, klinik önemsiz kanserden ayırt edememesi en zayıf özellikleridir.

**Sonuç:** Günümüzde PSA'nın verimini arttırmak ve de yeni tümör belirteçleri bulabilmek için çalışmalar devam etmekte ve araştırılan PSA dışı belirteçler arasında en çok ilgiyi PK için özgül olan iki tümör belirtecinden PCA-3 ve TMPRSS2:ERG gen füzyonları çekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Prostat kanseri, tümör belirteci, PCA-3, TMPRSS2:ERG gen füzyonu

### ABSTRACT

**Purpose:** The purpose of this study is to review the major developments in non-PSA biomarkers for prostate cancer screening and prognostication.

**Findings:** The discovery of prostate specific antigen (PSA) as a biomarker revolutionized the early diagnosis and monitoring of prostate cancer. However, lack of specificity and an inability to differentiate indolent from life threatening disease reliably at the time of diagnosis are major drawbacks of its use.

**Results:** Many studies are conducted to improve the performance of PSA as well as identify additional biomarkers. The most appealing ones are PCA-3 and TMPRSS2:ERG gene fusions among those being investigated.

**Key words:** Prostate cancer, biomarker, PCA-3, TMPRSS2:ERG gene fusion

İletişim (✉): kamilyakupoglu@yahoo.com

**E**deki klinik veriye ek bilgi sağlayan moleküler testler tümör belirteci olarak tarif edilebilir. Prostat kanserinde (PK), kanser teşhisi ve evrelemeyi iyileştirmek, prostat kanserinin alt sınıflarını belirlemek, tedavi sonucunu kestirebilmek ve değişik tedavi alternatiflerine uygun hastaları seçebilmek gibi nedenlerden dolayı tümör belirteçlerine gereksinim vardır.

Günümüzde PK'nin tanısında ve takibinde prostat spesifik antijen (PSA) halen en önemli tümör belirtecidir. Test kolay uygulanabilir olmasının yanında, ucuz ve de standardize edilmiştir. Hekimler test sonuçlarına alışkın olup, bu sonuçları yorumlayarak kolaylıkla hastalığa sahip olma ya da tümör progresyon riskini belirleyebilmektedirler.

Yakın zamanda sonuçlanan çalışmalarda, serum PSA seviyeleri kullanılarak yapılan taramalar sonucunda hastalığa özgü mortalitenin azaldığı gösterilmiştir (1-3). Ancak bu önemli kazanım kullanılan kesitirim değerlerine bağlı olarak yapılan biyopsilerde %70-80'e ulaşan bir artışa neden olmuştur (1). Bütün bunların sonucunda gereğinden fazla "yaşamı tehdit etmeyen" hastalığın tespiti nedeniyle, gereğinden fazla tedavilerin uygulanması gündeme gelmiştir (4).

Özellikle hayatı tehdit eden ciddi PK fenotipini erken evrede tespit edebilen, böylelikle hastaları risk sınıfına göre ayırt etmemizi

sağlayacak, daha kesin sonuç veren yeni tümör belirteçlerine şiddetle gereksinim vardır. Araştırmacılar özellikle son 10 yıl içerisinde çeşitli serum, idrar ve dokuda PK için tümör belirteçleri arayışı üzerinde yoğunlaşmışlardır. Henüz ideal tümör belirteci bulunamamış olmasına rağmen gelecek için ümit veren PSA dışı tümör belirteçleri bu derlemenin konusunu oluşturmaktadır.

### Glutasyon S-Transferaz π (GSTP1)

Glutasyon S-transferaz ailesindeki enzimlerin hücre metabolizması üzerinde, potansiyel zararlı substratların detoksifikasyonunu da içeren birçok fonksiyonu vardır (5). Lee ve ark. prostat kanserli doku

*"GSTP1 hipermetilasyonunun kantitatif tayini küçük, sınırlı doku örneklerinde dahi PK'ini kesin olarak tespit edilmesini sağlamıştır."*

örneklerinin tamamında GSTP1 geninin düzenleyici dizilerinin hipermetilasyona uğradığını göstermişlerdir. Bunun yanında normal prostat epitelinde artmış GSTP1 ekspresyonuna karşılık, PK'li epitelde ise azalmış GSTP1 ekspresyonu izlenmiştir (6).

Harden ve ark. da prostat biyopsi örneklerinde hipermetilasyona uğramış GSTP1'i tespit etmek için metilasyona özgül kantitatif floresan gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon (PZR) testini kullanmışlardır. PK'li örneklerin tespitinde testin duyarlılığını %73, özgüllüğü ise %100 olarak bulmuşlardır. GSTP1 hipermetilasyonunun kantitatif tayini küçük, sınırlı doku örneklerinde dahi PK'ini kesin olarak tespit edilmesini sağlamıştır. Bu çalışmalar GSTP1'in metilasyonunun değerlendirilmesinin PK'inin taramasında faydalı bir tümör belirleyici olabileceğini düşündürmüştür (7).

Gonzalzo ve ark. da, prostat biyopsisi yapılan hastaların idrar örneklerinde PZR ile GSTP1 metilasyonunu değerlendirmişlerdir. GSTP1 metilasyonunun duyarlılığını %58 bulurken, negatif biyopsisi olan hastaların %33'de, atipi veya yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazili (PIN) hastaların örneklerinde ise %67 oranında anormal metile GSTP1'e rastlamışlardır. Araştırmacılar bu testin prostat biyopsisi yapılanlarda risk gruplarını belirlemek için faydalı olabileceğini belirtmişlerdir (8).

Bastian ve ark. kısıtlı endonükleaz kullanarak gerçekleştirdikleri kantitatif PZR tekniği ile negatif biyopsiye sahip hiçbir hastanın serumunda GSTP1 DNA'sına rastlamazken, bu oranı organa sınırlı PK'liklerde %12, metastatik PK'lerde %28 olarak bildirmişlerdir (9). Bu sonuçlar serum GSTP1 DNA'sının kantitatif tayininin PK'li hastaların tespitinde kullanılabileceğini düşündürmekle beraber, günümüzde henüz yeteri kadar değerlendirilmemiştir.

Yakın geçmişte Trock ve ark. ilk biyopsisi negatif olup, tekrar biyopsi yapılan 86 hastada GSTP1 ve adenomatoz polipozis koli (APK) gen hipermetilasyonlarını karşılaştırmışlardır. APK gen hipermetilasyonu daha yüksek negatif öngörü değerine ve duyarlılığa sahipken, GST1 hipermetilasyonun ise daha düşük bir performans gösterdiğini bildirmişlerdir (10).

### A-Metilasil Koenzim A Rasmaz (AMAKR)

Beşinci kromozom üzerinde yer alan AMAKR geni, PK'li dokularda artış göstermektedir

*“Klasik boyama metodlarının yetersiz olduğu durumlarda yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip AMAKR boyaması ümit vaat eden bir yöntemdir.”*

(11,12). Luo ve ark. tarafından tanımlanan gen, günlük diyetdeki et ve süt ürünlerinden elde edilen dallı zincirli yağ asidi moleküllerinin peroksizomal beta oksidasyonunda önemli bir role sahiptir (11). Ayrıca PK gelişimi için bir risk faktörü olarak tanımlanan dallı zincirli yağ asitleri nedeniyle, bu enzimle PK gelişimi arasındaki potansiyel ilişki ilgi çekicidir (13).

2001 yılında Jiang ve ark. AMAKR'ı PK için moleküler bir tümör belirteci olarak tanımlamıştır. Yazarlar, monoklonal bir antikor kullanarak 137 PK'li ve 70 benign prostat doku örneğini boyamışlardır. PK'li örneklerin tamamında AMAKR ekspresyonu izlenmiş ve testin duyarlılığını %100 ve özgüllüğünü ise %88 olarak bildirmişlerdir (14). Bir sonraki yıl Rubin ve ark. da PK'de AMAKR'ın aşırı ekspresyonunu göstermişlerdir. Bu çalışmada prostat biyopsilerinde AMAKR ekspresyonu PK'ini %97 duyarlılık ve %100 özgüllük ile tespit edebilmiştir (12). Luo ve ark. da AMAKR ekspresyonu ve p63 antikorlarını beraber kullanarak PK teşhisinde doğruluk payının arttırılabileceğini göstermişlerdir (11). Klasik boyama metodlarının yetersiz olduğu durumlarda yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip AMAKR boyaması ümit vaat eden bir yöntemdir (15).

*“Artmış total PSA seviyesine bağlı biyopsi yapılacak hastalarda, hK2 üç diğer kallikrein (serbest, total ve intakt PSA) ile beraber kullanıldığında prostat biyopsi sonucunu tahmin etmeye yardımcı olurken, öngörü kesinliğini %68–72 den %83'e çıkarmıştır.”*

### Human Kallikrein 2 (hK2)

Human kallikrein ile ilgili peptidaz 2, PSA ile aynı gen ailesinden olup sekrete edilen bir serin proteazdır. Dizilimleri %80 oranında benzerlik gösterir ve her ikisi de primer olarak prostat bezi tarafında eksprese edilir (16). Bu benzerliklere rağmen PSA ve hK2 enzimatik aktivite olarak birbirlerinden farklıdır. hK2 mRNA kopya ekspresyonu, total PSA'nın yarısı kadar olmasına karşın, prostat dokusu, plazma, semen ve serumdaki seviyeleri total PSA'nın %2'si kadardır. Total PSA'ya benzer biçimde serum hK2 kanda iki farklı formda bulunur: ilki değişik proteaz inhibitörlerine bağlı, diğeri ise baskın olan serbest formdur (17). PK'li hastaların kansersiz hastalardan ayrımında serum hK2 değerlerinin, serbest ve total PSA ile kombine edilerek kullanılmasının tanıya yardımcı olabileceğine dair çeşitli çalışmalar vardır (18-20). Bunun yanında hK2'nin radikal prostatektomi ile tedavi edilen hastalarda kötü diferansiyasyonu, kapsül dışı uzanımı ve biyokimyasal nüksü öngörebildiği öne sürülmektedir (21-23). Ancak bu bulgular başka yazarlar tarafından doğrulanmamıştır (24). hK2'nin organa sınırlı PK'inin evrelemesinde kullanımını halen tartışmalıdır. Artmış total PSA seviyesine bağlı biyopsi yapılacak hastalarda, hK2 üç diğer kallikrein (serbest, total ve intakt PSA) ile beraber kullanıldığında prostat biyopsi sonucunu tahmin etmeye yardımcı olduğu bildirilmiştir (öngörü kesinliği %68–72 den %83'e çıkmıştır). PK riskinin %20 olduğu düşünüldüğünde, yapılacak biyopsi sayılarını yarı yarıya azaltırken, 40 tane yüksek dereceli tümörün sadece 3 tanesini kaçıracağı belirtilmektedir (25).

### Endoglin

Endoglin ya da CD 105, human vasküler endotelial hücreleri tarafından üretilen bir transmembran glikoproteindir. Transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) ve  $\beta$ 3 için bir hücre yüzey ko-reseptörü olup, endotelial hücre proliferasyonunun erken basamaklarında TGF- $\beta$ 'ya karşı gelişen hücresel yanıtları düzenler (26). Anjiyogenez üzerinde oynadığı önemli rol nedeniyle araştırmacılar Endoglinin kanser progresyonu ve metastaz gelişimine olan etkilerini araştırmaya odaklanmışlardır. PK'de, Endoglin özellikle yeni gelişen immatür kan damarları üzerinde bulunur. İmmünohistokimyasal analizler sonucunda, Endoglin yapımı ve hastalık progresyonu arasında bir ilişki ortaya konulmuştur (27). İdrarda Endoglin seviyelerinin tayini, PK'li hastaların tespitinde ve de hastalığın evrelendirilmesinde katkıda bulunabilir (28). Bunlara ek olarak, preoperatif

*“İdrarda Endoglin seviyelerinin tayini, PK’li hastaların tespitinde ve de hastalığın evrelendirilmesinde katkıda bulunabilir. Bunlara ek olarak, preoperatif plazma Endoglin seviyelerinin bölgesel lenf nodlarına metastazla ve biyolojik olarak saldırgan özellikler olan, yüksek Gleason derecesi ve radikal prostatektomi sonrası biyokimyasal nüks gibi özelliklerle de ilişkili olduğu gösterilmiştir”*

plazma Endoglin seviyelerinin bölgesel lenf nodlarına metastazla (29) ve biyolojik olarak saldırgan özellikler olan, yüksek Gleason derecesi ve radikal prostatektomi sonrası biyokimyasal nüks gibi özelliklerle de ilişkili olduğu gösterilmiştir (30). Preoperatif Endoglin seviyeleri kullanılarak lenf nodu diseksiyonunun ne genişlikte yapılacağına yanı sıra hastalık progresyonu açısından yüksek riskli hastaların belirlenmesinde de yardımcı olabileceği belirtilmektedir. Böylelikle neo-adjuvan ve/veya adjuvan tedavilere karar vermede ve klinik çalışmalara alınacak hastaların seçiminde de yol göstericidir. Dahası, organa sınırlı olduğu düşünülen hastalarda gizli kalmış metastatik hastalığın ortaya konulmasında önemli bir tümör belirleyici olarak rol oynayabilir. Bu olumlu bulgulara rağmen Endoglin’in PK’li hastalarda yol gösterici bir tümör belirteci olarak kullanılabilmesi ve PK’inin progresyonu üzerindeki mekanik etkilerinin daha net açıklanabilmesi için çalışmalara gereksinim vardır (17).

### **Erken Prostat Kanseri Antijeni (EPKA ve EPKA-2)**

EPKA bir nükleer matriks proteindir. İmmünohistokimyasal yöntemler kullanılarak yapılan boyamalarda PK’li hastalar ve kontrol grubu arasında belirgin fark ( $p < 0.001$ ) olup %84 duyarlılık ve %85 özgüllük bildirilmiştir. Bunun yanında patolojik olarak negatif olan ancak anti-EPKA ile boyanma gösterenlerde 5 yıl içerisinde ya da sonrasında PK tespit edileceği öne sürülmüştür (31). Kagawa

Üniversitesi’nden bir grup araştırmacı bu bulguları doğrulamıştır (32). Lokalize PK’li 50 hasta ve kontrol grubu olarak kullanılan mesane kanserli 10 hastaya yapılan EPKA boyanması sonucunda PK’li hastaların %94’de boyanma izlenirken, kontrol grubunda izlenmemiştir. EPKA ile boyanma yoğunluğunun Gleason derecesi ve tümör evresi ile ilişkiz olması ve PK odaklarına komşu normal izlenen alanların %86’da EPKA pozitifliğinin izlenmesi nedeniyle EPKA pozitifliğinin PK’inin ilerlemesinde izlenen erken bir olay olduğu hipotezini ortaya koymuşlardır (32).

Leman ve ark. da PK ile ilişkili nükleer yapısal bir protein olan EPKA-2 (orijinal EPKA’dan bağımsız) ile ilgili ilk sonuçlarını yayınlamışlardır. EPKA-2 ELISA ile PK’li hastalar %92 özgüllük ve %94 duyarlılıkla ayırt edilebilmişlerdir. Bu popülasyon için PSA’nın duyarlılığı sadece %65 olarak bildirilmiştir (33). Ancak yazarlar yakın zaman önce kendi istekleri ile bazı verilerin güvenilir olmayabileceği kuşku ile yazılarını geri çekmişlerdir (34).

### **Prostat Kanseri Antijeni-3 (PCA-3)**

PCA-3 ya da diğer adıyla DD3 kodlama yapmayan bir RNA olup, günümüzde klinik kullanımda PK için en özgün belirteçdir. PCA-3 RNA ekspresyonu yalnızca prostat dokusunda gerçekleşmekte olup, insanda başka hiçbir organ ya da tümörde bulunmamaktadır (35). PCA-3 RNA ekspresyonu ilk kez 1999 yılında Bussemakers ve ark. tarafından bildirilmiştir (35).

PCA-3 RNA’sı, tümörlerin %95’de normal prostat ve BPH dokularına göre aşırı miktarda üretilmektedir. Hessels ve ark. PK’li dokularda PCA-3’ün normal dokulara göre ortalama 66 kat daha fazla üretildiğini, bunun yanında %10’dan daha az kanserli hücre içeren prostatlarda dahi ortalama 11 kat artış olduğunu ortaya koymuşlardır (36). Bu gözlem sayesinde normal hücreler arasında gizlenmiş birkaç kanserli hücrenin bile, PZR tekniği sayesinde tespit edilebileceği fikrinden hareketle PCA-3’ün idrarda araştırılması gündeme gelmiştir (37). Parmakla rektal inceleme (PRİ) sonrasında yüksek PCA-3 seviyelerine sahip kanser hücreleri prostattan idrara dökülürler. Böylelikle PRİ sonrası PCA-3 mRNA’sı idrarda ve idrar sedimentinde ölçülebilir hale gelir. PRİ sonrası (her bir lobu 3 kez sıvazlamak gerekli) hastanın içemesi istenir ve ilk gelen idrardan 20-30 ml örnek alınır. Günümüzde ticari olarak mevcut olan tek test Progenesa™ PCA-3 testidir ve transkripsiyon aracılı amplifikasyon teknikleri kullanılarak idrar ve prostatik sekresyonlarda

*“EPKA-2 ELISA ile PK’li hastalar %92 özgüllük ve %94 duyarlılıkla ayırt edilebilmişlerdir. Bu popülasyon için PSA’nın duyarlılığı sadece %65 olarak bildirilmiştir. Ancak yazarlar yakın zaman önce kendi istekleri ile bazı verilerin güvenilir olmayabileceği kuşku ile yazılarını geri çekmişlerdir”*

nicel olarak PCA-3 mRNA ekspresyonunu ölçer (38).

Prostat biyopsilerinde PK yakalama riskini belirlemek için nicel PCA-3 skoru geliştirilmiştir. Bu skor [PCA-3 mRNA] / [PSA mRNA] x 1000 oranı olarak tanımlanır ve bu değer ne kadar yüksek ise, pozitif biyopsi olasılığı da o kadar yüksektir (39).

Deras ve ark. PCA-3 skoru 5’in altında olan hastalarda %14 pozitif biyopsi sonucuna karşın, PCA-3 skoru 100’ün üzerinde olanlarda yaklaşık %70 pozitif sonuç bildirmişlerdir (40). PCA-3 skoru için en kullanışlı tanısal değer, duyarlılık ve özgüllüğü en iyi dengeleyen 35 değeri, artık bir kestirim değeri olarak kabul edilmektedir. PCA-3 testi için duyarlılık ve özgüllük göreceli olarak daha yüksek olup, sırasıyla %66 ve %77 iken, PSA’nın özgüllüğü sadece %47 dir (41).

Haese ve ark. PCA-3 skoru 35’in üzerinde olan hastaların, tekrar biyopsilerinde kanser için pozitif olma riskini %39, 35’in altında skoru olanlarda ise bu riski %22 olarak hesaplamışlardır. Kullanılan kestirim değerine göre testin negatif öngörü değeri %90 gibi yüksek seviyelere çıkabilmektedir. Kestirim değeri olarak 20 alındığında tekrar

*“PCA-3 testi için duyarlılık ve özgüllük göreceli olarak daha yüksek olup, sırasıyla %66 ve %77 iken, PSA’nın özgüllüğü sadece %47 dir.”*

*“PCA-3 skoru, PSA gibi prostat hacmi, önceki biyopsiler ve yaştan etkilenmez. Daha da önemlisi test sonuçları benign prostat hiperplazisi (BPH) ya da prostatit gibi kanser dışı nedenlerden ve tip I ve tip II 5α redüktaz inhibitörlerinin kullanımından da etkilenmez.”*

biyopsilerinde %44 azalma sağlarken, klinik önemli kanserlerin sadece %9'unu kaçırmışlardır (42).

Biyopsi sonucunun öngörü kesinliğini arttırmak ve PK açısından risk altında olan kişileri belirleyebilmek için PCA-3'ü de içeren çeşitli nomogramlar geliştirilmiştir. Ortak görüş PCA-3'ün biyopsinin öngörü kesinliğini artırdığı ve ürologların biyopsi kararı vermele-ri aşamasında faydalanabilecekleri bir araç olabileceği yönündedir (43-46).

Hessels ve ark. yakın zamanda PCA-3 skoru ile PK'inin prognostik belirteçleri olan Gleason skoru, tümör hacmi ya da evresi arasında herhangi bir ilişki bulamamışlardır (47). Bu sonuçlar van Gils ve ark. ve Liss ve ark.'ının daha önceki sonuçları ile uyumludur (48,49).

Nakanishi ve ark. ise radikal prostatektomi (RP) örneklerinde tümör hacmi ile preoperatif PCA-3 skoru arasında bir ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir. Düşük hacimli (<0.5 cc) tümörler için ortalama PCA-3 skorunun düşükken, Gleason skoru arttıkça PCA-3 skorunun da arttığını bildirmişlerdir (50). Marks ve ark. ve Whitman ve ark. da bu çalışmayı destekler tarzda sonuçlar bildirmişlerdir (51, 52). Auprisch ve ark. da PCA-3'ün klinik evrelemeye olan katkılarını incelemiş ve PCA-3 skorlarının, düşük hacimli tümörü olanlarda ve klinik önemsiz PK'li hastalarda daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, PCA-3 skorunun düşük hacimli, klinik önemsiz kanseri öngörmede önemli bir araç olabileceği ve böylelikle aktif izlem protokolüne alınacak hastaların belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir (53).

Teşhis açısından bakıldığında PCA-3 skoru, PSA gibi prostat hacmi, önceki biyopsiler ve yaştan

etkilenmez. Daha da önemlisi test sonuçları benign prostat hiperplazisi (BPH) ya da prostatit gibi kanser dışı nedenlerden ve tip I ve tip II 5α redüktaz inhibitörlerinin kullanımından da etkilenmez. Serum PSA değerlerine göre daha özgül olması nedeniyle PCA-3 testi ile prostat inflamasyonu ya da hiperplazisi gibi alternatif PSA yüksekliği yaşayanlarda, PK'ini tespit etmek için çok kullanışlıdır. Buna karşın normal ya da düşük (<4ng/ml) PSA seviyelerinde, PCA-3 klinik önemi olan PK'lerinin tespitinde önemli rol oynayabilir (39).

Klinik karar verme aşamasında aktif izleme alınacak hastaların belirlenmesine yardımcı olarak, hemen tedaviye verilecek hastaların ortaya çıkarılmasında faydalıdır. Ayrıca PK'inin öncü lezyonlarından yüksek dereceli intraprostatik neoplazilerin (YDPIN) de tanınmasında rol oynar. Popa ve ark. YDPIN dokularının %90'dan fazlasında PCA-3 ürettiğini göstermişlerdir (54). YDPIN olan hastaların PCA-3 skorlarının, olmayanlara göre %16 daha fazla olduğu bildirilmiştir (42). Buradan yola çıkarak YDPIN hastalarının takibinde artmış bir PCA-3 skoru biyopsi yapma kararını vermede etkili olabilir.

Günümüzde PK'inin tanısal yaklaşımı açısından en çok araştırılan ve kabul gören belirteçlerin başında PCA-3 gelmektedir. Gelecek yıllar içerisinde PCA-3, büyük olasılıkla diğer belirteçlerle beraber kullanılarak radikal tedavilere gereksinimi olan hastaların belirlenmesinde önemli bir rol oynamaya adaydır.

### **TMPRSS2: ERG Gen Füzyonu**

Onkogenin başlangıç aşamasında genomik yeniden düzenlemelerin önemli rolü olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır (55, 56). Son yıllarda sonuçlanan çalışmalarda, PK teşhis edilenlerde androjenler tarafından düzenlenen TMPRSS2 ve ETS transkripsiyon faktör genlerini de içeren gen değişiklikleri tespit edilmiştir. PK'li hastaların %40-70'de (ortalama:%50) TMPRSS2'nin, ETS ailesinin bir üyesi olan ERG ile yaptığı füzyon en baskın olan füzyon tipidir. ERG anahtar rolü oynayan bir PK onkogenidir. PK'nin yüksek prevalansı göz önüne alınacak olursa, TMPRSS2:ERG füzyonu insan solid tümörleri içerisinde en çok rastlanan genetik bozukluktur (57). Bu her iki gen de 21 nolu kromozom üzerinde yer alırlar ve aralarında 2,8 Mb genomik DNA kaybı sonucunda füzyon gerçekleşir (58).

TMPRSS2:ERG yeniden yapılanması, PCA-3'e benzer şekilde PRİ sonrası idrarda tespit edilebilir. İdrarda TMPRSS2:ERG füzyonunun bulunmasının, PK teşhisi için %90 özgüllük ve

*“İdrarda TMPRSS2:ERG füzyonunun bulunmasının, PK teşhisi için %90 özgüllük ve %94 pozitif öngörü değeri vardır.”*

%94 pozitif öngörü değeri vardır (59). Testin yüksek özgüllüğü sayesinde yakın zamanda PK olanları olmayanlardan ayırmak için bir tümör belirteci olarak kullanılabilir hale gelecektir. Ayrıca ERG durumunun belirlenmesi hormon tedavisine alınacak yanıtın öngörülmesinde de yardımcıdır. Karnes ve ark. ERG pozitif hastaların adjuvan hormonal tedaviye, ERG negatif olanlara göre yanıtının daha iyi olduğunu göstermişlerdir (60).

TMPRSS2:ERG füzyonunun prognoz üzerine etkileri konusunda çelişki raporlar mevcuttur. Bazı çalışmalarda TMPRSS2:ERG füzyonunun daha yüksek tümör evresi, Gleason skoru ve daha çok PK'ne özgü ölümlere yol açan saldırgan kanser fenotipinin gelişmesine neden olduğuna dair bulgular bildirilmiştir (61, 62).

Buna karşın Gopalan ve ark. ise RP ile tedavi edilen hastalarda TMPRSS2:ERG füzyonu ve prognoz arasında bir ilişki kuramamıştır (63).

Bu konuda yapılan son bir çalışmada gen füzyonunun durumu ve PK'inin klinikopatolojik karakterleri arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır(64). TMPRSS2:ERG translokasyonu ile biyokimyasal veya klinik prognoz arasında bir ilişki saptanamamasına rağmen, füzyonlu ve füzyonsuz hastalarda PK için farklı prognostik kriterler ortaya koymuşlardır (64).

*“Günümüzde TMPRSS2:ERG füzyonu pozitif olan hücrelerin yok edilmesi in vivo tümör büyümesini engellemiştir. Yakın gelecekte TMPRSS2:ERG pozitif PK'li hastaların tedavisinde gen füzyonunu hedefleyen tedavilerin ortaya çıkması olasıdır.”*

PK için yüksek özgüllüğe sahip olması nedeniyle, solid tümör tedavisinde, gendeki yeniden yapılanmanın hedeflenmesi ilgi çekmektedir. Kastrasyon dirençli PK'li hastaların %41'de ERG yeniden yapılanması mevcut olup, bu durum dolaşımdaki tümör hücrelerinde (DTH) tespit edilebilir. Abirateron kullanan 15 hastanın, ERG yeniden yapılanması gösteren 12 (%80)'sinde PSA'da %90'dan fazla düşüş olduğu gösterilmiştir (65, 66). Bu çalışma gen füzyonu olan hastaların halen antiandrojen tedaviye yanıt verebileceğini düşündürmektedir.

Günümüzde TMRSS2:ERG füzyonu pozitif olan hücrelerin yok edilmesi in vivo tümör büyümesini engellemiştir (67). Yakın gelecekte TMRSS2:ERG pozitif PK'li hastaların tedavisinde gen füzyonunu hedefleyen tedavilerin ortaya çıkması beklenilmektedir.

### Dolaşımdaki Tümör Hücreleri (DTH)

Metastatik yayılım için, tümör hücrelerinin kan dolaşımına geçmeleri gerekmektedir. Yeni geliştirilen CellSearch™ sistemi DTH'ini sayarak, metastatik PK'li hastalarda tedavinin etkinliğini monitorize etmek amacıyla kullanım için Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi tarafından prognostik bir tümör belirteci olarak onaylanmıştır (68). Belli bir zaman aralığında DTH sayılarındaki değişiklikler

*“DTH'inin FISH yöntemi ile genetik profillendirmesi %87'inin üzerinde başarı oranına sahip olup, ilerleyici kastrasyon dirençli PK'inin rutin takibinde kullanılmasını desteklemektedir.”*

sağkalımı kestirmeye yardımcı olmasına karşın, bu hücrelerin moleküler profillerinin belirlenmesi tümörün biyolojik durumunu anlayabilmek için gereklidir. DTH'inin etkin bir şekilde moleküler profillerinin çıkarılması, göreceli olarak düşük sayıda elde edilen hücreler ve kullanılmakta olan zenginleştirme yöntemlerinin bulaşa yol açan lökositleri etkin biçimde uzaklaştıramaması nedeniyle zorlaşmaktadır. Ayrıca ilerlemiş hastalığı olanlarda birçok odaktan dolaşıma hücre dökülebileceği için, tespit edilen DTH farklı özellikler gösterebilirler. Böylelikle potansiyel moleküler belirteçlerin daha fazla seyrelmesine ve öngörü güçlerinin azalmasına neden olur (69). Shaffer ve ark. ilerleyici kastrasyon dirençli 63 PK'li hastada,

DTH'ini rutin klinik laboratuvar ortamında monitorize etmişler ve immünohistokimyasal yöntemlerle PK özelliği gösterdiği saplanan hücrelerin genetik profilini floresan in-situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile çıkartmışlardır (70). DTH'inin FISH yöntemi ile genetik profillendirmesi %87'inin üzerinde başarı oranına sahip olup, ilerleyici kastrasyon dirençli PK'inin rutin takibinde kullanılmasını desteklemektedir (71). DTH teknolojisi günümüzde halen çeşitli klinik çalışmalarla değerlendirilmekte ve tedaviye yanıtı değerlendirmek için hem bir öngörü aracı hem de sekonder hedef olarak kullanılmaktadır (69).

### Sonuç

PK'de yeni tümör belirteci arayışları bu konuda yapılan çalışmalarda büyük bir artışa yol açmıştır. Tümör belirteçlerinin başarılı bir şekilde klinik uygulamaya girmeleri ancak ölçülen belirteç nedeniyle hekimin belirteç yokluğunda vereceği kararı değiştirmesine ve bu kararın hastanın faydasına olduğunu gösteren kanıtların artmasına bağlıdır. Bu nedenle günümüzde araştırılan PSA dışı belirteçler arasında en çok ilgiyi PK için özgül olan iki tümör belirteci olan PCA-3 ve TMRSS2:ERG gen füzyonlarının çekmesi doğaldır.

### Kaynaklar

- Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, ve ark. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. N Engl J Med. 2009;360(13):1320-8.
- Roobol MJ, Kerkhof M, Schroder FH, Cuzick J, Sasieni P, Hakama M, ve ark. Prostate cancer mortality reduction by prostate-specific antigen-based screening adjusted for nonattendance and contamination in the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). Eur Urol. 2009;56(4):584-91.
- Hugosson J, Carlsson S, Aus G, Bergdahl S, Khatami A, Lodding P, ve ark. Mortality results from the Goteborg randomised population-based prostate-cancer screening trial. Lancet Oncol. 2010;11(8):725-32.
- Heijnsdijk EA, der Kinderen A, Wever EM, Draisma G, Roobol MJ, de Koning HJ. Overdetection, overtreatment and costs in prostate-specific antigen screening for prostate cancer. Br J Cancer. 2009;101(11):1833-8. PMID: 2788248.
- Jakoby WB. The glutathione S-transferases: a group of multifunctional detoxification proteins. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol. 1978;46:383-414.
- Lee WH, Morton RA, Epstein JI, Brooks JD, Campbell PA, Bova GS, ve ark. Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi-class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91(24):11733-7. PMID: 45306.
- Harden SV, Guo Z, Epstein JI, Sidransky D. Quantitative GSTP1 methylation clearly distinguishes benign prostatic tissue and limited prostate adenocarcinoma. J Urol. 2003;169(3):1138-42.
- Gonzalgo ML, Pavlovich CP, Lee SM, Nelson WG. Prostate cancer detection by GSTP1 methylation analysis of postbiopsy urine specimens. Clin Cancer Res. 2003;9(7):2673-7.
- Bastian PJ, Palapattu GS, Lin X, Yegnasubramanian S, Mangold LA, Trock B, ve ark. Preoperative serum DNA GSTP1 CpG island hypermethylation and the risk of early prostate-specific antigen recurrence following radical prostatectomy. Clin Cancer Res. 2005;11(11):4037-43.
- Trock BJ, Brozman MJ, Mangold LA, Bigley JW, Epstein JI, McLeod D, ve ark. Evaluation of GSTP1 and APC methylation as indicators for repeat biopsy in a high-risk cohort of men with negative initial prostate biopsies. BJU Int. 2011.
- Luo J, Zha S, Gage WR, Dunn TA, Hicks JL, Bennett CJ, ve ark. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a new molecular marker for prostate cancer. Cancer Res. 2002;62(8):2220-6.
- Rubin MA, Zhou M, Dhanasekaran SM, Varambally S, Barrette TR, Sanda MG, ve ark. alpha-Methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer. JAMA. 2002;287(13):1662-70.
- Chan JM, Stampfer MJ, Ma J, Gann PH, Gaziano JM, Giovannucci EL. Dairy products, calcium, and prostate cancer risk in the Physicians' Health Study. Am J Clin Nutr. 2001;74(4):549-54.
- Jiang Z, Woda BA, Rock KL, Xu Y, Savas L, Khan A, ve ark. P504S: a new molecular marker for the detection of prostate carcinoma. Am J Surg Pathol. 2001;25(11):1397-404.
- Evans AJ. Alpha-methylacyl CoA racemase (P504S): overview and potential uses in diagnostic pathology as applied to prostate needle biopsies. J Clin Pathol. 2003;56(12):892-7. PMID: 1770134.
- Yousef GM, Diamandis EP. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. Endocr Rev. 2001;22(2):184-204.

17. Shariat SF, Semjonow A, Lilja H, Savage C, Vickers AJ, Bjartell A. Tumor markers in prostate cancer I: blood-based markers. *Acta Oncol.* 2011;50 Suppl 1:61-75.
18. Nam RK, Diamandis EP, Toi A, Trachtenberg J, Magklara A, Scorilas A, ve ark. Serum human glandular kallikrein-2 protease levels predict the presence of prostate cancer among men with elevated prostate-specific antigen. *J Clin Oncol.* 2000;18(5):1036-42.
19. Becker C, Piironen T, Pettersson K, Bjork T, Wojno KJ, Oesterling JE, ve ark. Discrimination of men with prostate cancer from those with benign disease by measurements of human glandular kallikrein 2 (HK2) in serum. *J Urol.* 2000;163(1):311-6.
20. Becker C, Piironen T, Pettersson K, Hugosson J, Lilja H. Clinical value of human glandular kallikrein 2 and free and total prostate-specific antigen in serum from a population of men with prostate-specific antigen levels 3.0 ng/mL or greater. *Urology.* 2000;55(5):694-9.
21. Haese A, Graefen M, Steuber T, Becker C, Pettersson K, Piironen T, ve ark. Human glandular kallikrein 2 levels in serum for discrimination of pathologically organ-confined from locally-advanced prostate cancer in total PSA-levels below 10 ng/ml. *Prostate.* 2001;49(2):101-9.
22. Kwiatkowski MK, Recker F, Piironen T, Pettersson K, Otto T, Wernli M, ve ark. 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(3):360-5.
23. Recker F, Kwiatkowski MK, Piironen T, Pettersson K, Lummen G, Wernli M, ve ark. The importance of human glandular kallikrein and its correlation with different prostate specific antigen serum forms in the detection of prostate carcinoma. *Cancer.* 1998;83(12):2540-7.
24. Kurek R, Nunez G, Tselis N, Konrad L, Martin T, Roeddiger S, ve ark. Prognostic value of combined "triple"-reverse transcription-PCR analysis for prostate-specific antigen, human kallikrein 2, and prostate-specific membrane antigen mRNA in peripheral blood and lymph nodes of prostate cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2004;10(17):5808-14.
25. Vickers AJ, Cronin AM, Aus G, Pihl CG, Becker C, Pettersson K, ve ark. 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. PMID: 2474851.
26. Cheifetz S, Bellon T, Cales C, Vera S, Bernabeu C, Massague J, ve ark. Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem.* 1992;267(27):19027-30.
27. Wikstrom P, Lissbrant IF, Stattin P, Egevad L, Bergh A. Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer. *Prostate.* 2002;51(4):268-75.
28. Fujita K, Ewing CM, Chan DY, Mangold LA, Partin AW, Isaacs WB, ve ark. Endoglin (CD105) as a urinary and serum marker of prostate cancer. *Int J Cancer.* 2009;124(3):664-9. PMID: 2666305.
29. Karam JA, Svatek RS, Karakiewicz PI, Gallina A, Roehrborn CG, Slawin KM, ve ark. Use of preoperative plasma endoglin for prediction of lymph node metastasis in patients with clinically localized prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(5):1418-22.
30. Svatek RS, Karam JA, Roehrborn CG, Karakiewicz PI, Slawin KM, Shariat SF. Preoperative plasma endoglin levels predict biochemical progression after radical prostatectomy. *Clin Cancer Res.* 2008;14(11):3362-6.
31. Dhir R, Vietmeier B, Arlotti J, Acquafondata M, Landsittel D, Masterson R, ve ark. Early identification of individuals with prostate cancer in negative biopsies. *J Urol.* 2004;171(4):1419-23.
32. Uetsuki H, Tsunemori H, Taoka R, Haba R, Ishikawa M, Kakehi Y. Expression of a novel biomarker, EPCA, in adenocarcinomas and precancerous lesions in the prostate. *J Urol.* 2005;174(2):514-8.
33. Leman ES, Cannon GW, Trock BJ, Sokoll LJ, Chan DW, Mangold L, ve ark. EPCA-2: a highly specific serum marker for prostate cancer. *Urology.* 2007;69(4):714-20.
34. Walsh PC. Re: EPCA-2: A Highly Specific Serum Marker for Prostate Cancer. *J Urol.* 2012;187(5):1639.
35. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, Smit FP, Karthaus HF, Schalken JA, ve ark. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res.* 1999;59(23):5975-9.
36. Hessels D, Klein Gunnewiek JM, van Oort I, Karthaus HF, van Leenders GJ, van Balken B, ve ark. DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol.* 2003;44(1):8-15; discussion -6.
37. Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, Blase A, Bodrug S, Clark C, ve ark. APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem.* 2006;52(6):1089-95.
38. Schalken JA, Hessels D, Verhaegh G. New targets for therapy in prostate cancer: differential display code 3 (DD3(PCA3)), a highly prostate cancer-specific gene. *Urology.* 2003;62(5 Suppl 1):34-43.
39. Salagierski M, Schalken JA. Molecular diagnosis of prostate cancer: PCA3 and TMPRSS2:ERG gene fusion. *J Urol.* 2012;187(3):795-801.
40. Deras IL, Aubin SM, Blase A, Day JR, Koo S, Partin AW, ve ark. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol.* 2008;179(4):1587-92.
41. van Gils MP, Hessels D, van Hooij O, Jannink SA, Peelen WP, Hanssen SL, ve ark. The time-resolved fluorescence-based PCA3 test on urinary sediments after digital rectal examination; a Dutch multicenter validation of the diagnostic performance. *Clin Cancer Res.* 2007;13(3):939-43.
42. Haese A, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, ve ark. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol.* 2008;54(5):1081-8.
43. Chun FK, de la Taille A, van Poppel H, Marberger M, Stenzl A, Mulders PF, ve ark. Prostate cancer gene 3 (PCA3): development and internal validation of a novel biopsy nomogram. *Eur Urol.* 2009;56(4):659-67.
44. Aufrich M, Haese A, Walz J, Pummer K, de la Taille A, Graefen M, ve ark. External validation of urinary PCA3-based nomograms to individually predict prostate biopsy outcome. *Eur Urol.* 2010;58(5):727-32.
45. Ankerst DP, Groskopf J, Day JR, Blase A, Rittenhouse H, Pollock BH, ve ark. Predicting prostate cancer risk through incorporation of prostate cancer gene 3. *J Urol.* 2008;180(4):1303-8; discussion 8.
46. Perdona S, Cavadas V, Di Lorenzo G, Damiano R, Chiappetta G, Del Prete P, ve ark. Prostate cancer detection in the "grey area" of prostate-specific antigen below 10 ng/ml: head-to-head comparison of the updated PCPT calculator and Chun's nomogram, two risk estimators incorporating prostate cancer antigen 3. *Eur Urol.* 2011;59(1):81-7.
47. Hessels D, van Gils MP, van Hooij O, Jannink SA, Witjes JA, Verhaegh GW, ve ark. Predictive value of PCA3 in urinary sediments in determining clinico-pathological characteristics of prostate cancer. *Prostate.* 2010;70(1):10-6.
48. van Gils MP, Hessels D, Hulsbergen-van de Kaa CA, Witjes JA, Jansen CF, Mulders PF, ve ark. Detailed analysis of histopathological parameters in radical prostatectomy specimens and PCA3 urine test results. *Prostate.* 2008;68(11):1215-22.
49. Liss MA, Santos R, Osann K, Lau A, Ahlering TE, Ornstein DK. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer: association with pathologic features and impact of collection protocols. *World J Urol.* 2011;29(5):683-8. PMID: 3189407.
50. Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, Bhadkamkar V, Blase A, Kumar SV, ve ark. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol.* 2008;179(5):1804-9; discussion 9-10.
51. Marks LS, Fradet Y, Deras IL, Blase A, Mathis J, Aubin SM, ve ark. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology.* 2007;69(3):532-5.
52. Whitman EJ, Groskopf J, Ali A, Chen Y, Blase A, Furusato B, ve ark. PCA3 score before radical prostatectomy predicts extracapsular extension and tumor volume. *J Urol.* 2008;180(5):1975-8; discussion 8-9.
53. Aufrich M, Chun FK, Ward JF, Pummer K, Babaian R, Augustin H, ve ark. Critical assessment of preoperative urinary prostate cancer antigen 3 on the accuracy of prostate cancer staging. *Eur Urol.* 2011;59(1):96-105.
54. Popa I, Fradet Y, Beaudry G, Hovington H, Tetu B. Identification of PCA3 (DD3) in prostatic carcinoma by in situ hybridization. *Mod Pathol.* 2007;20(11):1121-7.
55. Mitelman F, Johansson B, Mertens F. The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(4):233-45.
56. Chinnaiyan AM, Palanisamy N. Chromosomal aberrations in solid tumors. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2010;95:55-94.
57. Perner S, Mosquera JM, Demichelis F, Hofer MD, Paris PL, Simko J, ve ark. TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer: an early molecular event associated with invasion. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(6):882-8.
58. Perner S, Demichelis F, Beroukhi R, Schmidt FH, Mosquera JM, Setlur S, ve ark. TMPRSS2:ERG fusion-associated deletions provide insight into the heterogeneity of prostate cancer. *Cancer Res.* 2006;66(17):8337-41.
59. Hessels D, Smit FP, Verhaegh GW, Witjes JA, Cornel EB, Schalken JA. 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(17):5103-8.

60. Karnes RJ, Cheville JC, Ida CM, Sebo TJ, Nair AA, Tang H, ve ark. The ability of biomarkers to predict systemic progression in men with high-risk prostate cancer treated surgically is dependent on ERG status. *Cancer Res.* 2010;70(22):8994-9002.
61. Demichelis F, Fall K, Perner S, Andren O, Schmidt F, Setlur SR, ve ark. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene.* 2007;26(31):4596-9.
62. Attard G, Clark J, Ambroisine L, Fisher G, Kovacs G, Flohr P, ve ark. Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer. *Oncogene.* 2008;27(3):253-63. PMID: 2646890.
63. Gopalan A, Leversha MA, Satagopan JM, Zhou Q, Al-Ahmadie HA, Fine SW, ve ark. TMPRSS2-ERG gene fusion is not associated with outcome in patients treated by prostatectomy. *Cancer Res.* 2009;69(4):1400-6.
64. Rubio-Briones J, Fernandez-Serra A, Calatrava A, Garcia-Casado Z, Rubio L, Bonillo MA, ve ark. Clinical implications of TMPRSS2-ERG gene fusion expression in patients with prostate cancer treated with radical prostatectomy. *J Urol.* 2010;183(5):2054-61.
65. Attard G, Reid AH, Yap TA, Raynaud F, Dowsett M, Settatre S, ve ark. Phase I clinical trial of a selective inhibitor of CYP17, abiraterone acetate, confirms that castration-resistant prostate cancer commonly remains hormone driven. *J Clin Oncol.* 2008;26(28):4563-71.
66. Attard G, Swennenhuis JF, Olmos D, Reid AH, Vickers E, A'Hern R, ve ark. Characterization of ERG, AR and PTEN gene status in circulating tumor cells from patients with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res.* 2009;69(7):2912-8.
67. Wang J, Cai Y, Yu W, Ren C, Spencer DM, Ittmann M. Pleiotropic biological activities of alternatively spliced TMPRSS2/ERG fusion gene transcripts. *Cancer Res.* 2008;68(20):8516-24. PMID: 2597580.
68. de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, ve ark. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(19):6302-9.
69. Bjartell A, Montironi R, Berney DM, Egevad L. Tumour markers in prostate cancer II: diagnostic and prognostic cellular biomarkers. *Acta Oncol.* 2011;50 Suppl 1:76-84.
70. Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, ve ark. Circulating tumor cell analysis in patients with progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2007;13(7):2023-9.
71. Leversha MA, Han J, Asgari Z, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, ve ark. Fluorescence in situ hybridization analysis of circulating tumor cells in metastatic prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(6):2091-7. PMID: 2875199.