

**PROFIL EKSPRESI PROTEIN CD14 PADA URINE PENDERITA
KANKER PROSTAT: STUDI PENDAHULUAN SEBAGAI KANDIDAT
PENGEMBANGAN BIOMARKER NON-INVASIF**

**PROFILE OF CD14 PROTEIN EXPRESSION IN URINE OF PROSTATE
CANCER PATIENTS: PRELIMINARY STUDY AS A NON-INVASIVE
BIOMARKERS CANDIDATE DEVELOPMENT**

Hajid Rahmadiano Mardihusodo¹, Viva Ratih Bening Ati², Afifah², Siti Munfiah³, Tirta Wardana^{4,5}

¹*SMF Urologi, Departemen Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia*

²*Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia*

³*Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia*

⁴*Departemen Biomedis, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia*

⁵*Laboratorium Riset Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia*

ABSTRAK

Pasien kanker prostat (Pca) merupakan keganasan dengan insidensi dan mortalitas yang tinggi disertai kondisi stadium lanjut di Indonesia. Keterlambatan diagnosis disebabkan karena belum adanya *biomarker specific* yang bersifat non-invasif dan dapat mendeteksi Pca pada stadium dini. Protein CD14 diketahui berperan besar terhadap terjadinya keganasan pada Pca. Namun, belum diketahui secara detail mengenai peran dan perubahan ekspresinya pada urine penderita Pca. Penelitian ini menggunakan studi observasional analitik dengan menggunakan sampel urine untuk mendeteksi ekspresi protein CD14 menggunakan Elisa. Dua belas sampel urin Pca dan BPH dikoleksi setelah mendapatkan *ethical clearance* dan *informed consent* untuk bersedia mengikuti penelitian ini. Analisis bioinformatika menggunakan database TCGA untuk mengetahui bagaimana perubahan ekspresi CD14 pada sampel jaringan serta perubahan sequence akibat mutase dan hubungannya dengan prognosis buruk terhadap pasien. Analisis *GO Functional Analysis* dilakukan untuk mengetahui mekanisme dan peran dari protein CD14. Analisis data dilakukan dengan menggunakan GraphPad PRISM versi 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) dan curve expert 1.4. karakteristik pasien menunjukkan median usia pasien Pca yaitu 63.5 tahun berbanding dengan pasien BPH 64 tahun. Pasien Pca di grup metastatik dominan pada ISUP grade 5 (25%). Secara rerata Pasien Pca mempunyai kadar CD14 yang lebih tinggi (0.208 ng/mL) dibandingkan BPH (0.114 ng/mL) ($p < 0.05$). Perubahan ekspresi dari CD14 diketahui memiliki

peran pada *response inflammatory* dan berhubungan erat pada prognosis buruk dengan *survival rate* pasien pada kenaikan ekspresi CD14 ($p < 0.5$). kesimpulan dari penelitian ini, terdapat kenaikan ekspresi dari protein CD14 pada urine Pca dan berhubungan erat terhadap perubahan fungsi serta prognosis buruk.

Kata kunci: Biomarker, Kuantifikasi, *non-invasif*, PCa, Protein CD14

ABSTRACT

Prostate cancer (Pca) is a malignancy with a high incidence and mortality accompanied by advanced stage conditions in Indonesia. The delay in diagnosis is due to the absence of specific non-invasive biomarkers that can detect Pca early. CD14 protein is known to play a major role in the occurrence of malignancy in Pca. However, the role and alterations expressions in the urine of Pca are unclear. This study uses an analytical observational study using urine samples to detect CD14 protein expression using Elisa. Twelve urine samples of Pca and BPH were collected after obtaining ethical clearance and informed consent to participate in this study. Bioinformatics analysis using the TCGA database determines how changes in CD14 expression in tissue samples and sequence changes due to mutations and their relationship with poor prognosis for patients. GO Functional Analysis was carried out to determine the mechanism and role of the CD14. Data analysis was performed using GraphPad PRISM version 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) dan curve expert 1.4. patient characteristics showed the median age of Pca patients was 63.5 years compared to 64 years of BPH patients. Pca patients in the metastatic group dominant at ISUP grade 5 (25%). On average, Pca patients have higher CD14 rates (0.208 ng/mL) compared to BPH (0.114 ng/mL) ($p < 0.05$). Alteration of CD14 expression is known to have a role in the inflammatory response and is closely related to poor prognosis with patient survival rates with increased CD14 expression ($p < 0.5$). The conclusion of this study shows an increase in CD14 protein expression in urine Pca and is related to changes in function and poor prognosis..

Keywords: Biomarker, Quantification, Non-invasive, PCa, Protein CD14.

Penulis korespondensi:

Nama, Hajid Rahmadiano Mardihusodo
Departemen Urologi, Fakultas kedokteran
Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Gumbreg No.1 Purwokerto
Indonesia.
Email: hajidrahmadiano@unsoed.ac.id

PENDAHULUAN

Kanker prostat (Pca) merupakan merupakan salah satu dari tipe kanker yang spesifik menyerang pada lak-laki. Data Globocan pada tahun 2012 menyatakan bahwa kasus Pca pada tahun 2012 memiliki angka insidensi berjumlah 13.663 dan akan terus meningkat sebanyak 17.056 pada tahun 2020, dengan tingkat kematian sebesar 1.576 jiwa (World Health Organization, 2019).

Penanganan yang tepat, cepat dan spesifik sangat diperlukan untuk mengatasi kasus Pca di Indonesia. Hal ini disebabkan karena Pca merupakan tipe kanker yang sangat mudah untuk melakukan metastasis apabila terlambat dalam melakukan diagnosis sehingga berimplikasi dengan semakin tingginya tingkatan insidensi dan mortalitas akibat Pca (Akbay et al., 2017; Yuri et al., 2015). Pengembangan biomarker yang spesifik, tepat dan cepat merupakan hal yang urgent untuk dapat dilakukan sebagai salah satu upaya dalam mengurangi tingkatan insidensi, mortalitas dan meningkatkan tingkatan kesembuhan terhadap pasien.

Saat ini terdapat beberapa metode yang digunakan untuk mendiagnosis penderita Pca di Indonesia seperti pemeriksaan colok dubur, tes PSA (Prostat-spesifik antigen) pada darah dan biopsy (Andriole et al., 2012; Hayes & Barry, 2014; Pezaro et al., 2014; Saini, 2016). Namun, masih terdapat banyak permasalahan yang muncul terkait dengan metode yang sudah ada misalnya sering ditemukan kurang tepatnya hasil diagnosis, pemeriksaan yang lama, mahal dan tidak spesifik serta menyebabkan kesakitan terhadap pasien. Lebih lagi, kebutuhan penanganan yang tepat terutama pada tahapan stadium beberapa penderita PCa seperti CT-Scan, MRI dan pemeriksaan tulang (Andriole et al., 2012; Hayes & Barry, 2014; Pezaro et al., 2014; Saini, 2016).

Prostate specific antigen (PSA) saat ini merupakan alat diagnostik, skrining dan pemantauan untuk deteksi dini kanker prostat. Kelemahan utama pemeriksaan PSA yaitu dapat dideteksi pada pertumbuhan jinak dan ganas pada prostat, prostatitis dan trauma fisik prostat sehingga menunjukkan patologi kelenjar prostat yang belum tentu kanker. Lebih dari itu, PSA juga ditemukan ekspresinya pada kelenjar periurethral, jaringan payudara normal dan berbagai tipe tumor (de Bono et al., 2011; Grossman et al., 2018; Thompson et al., 2005).

Pencarian biomarker specific untuk deteksi dini kanker prostat berbasis urine sangat diperlukan sebagai pengganti PSA ataupun untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifitas biomarker dini menggunakan urine PCa. Salah satu protein yang diketahui berperan kunci dalam aktivasi system imun yang diinduksi oleh dendritik sel (DC) yaitu CD14. Protein CD14 diketahui juga mempengaruhi sel kanker dan mengatur distribusi sel melalui transkripsi nuclear. Hal ini menunjukkan bahwa CD14 berperan dalam karsinogenesis Pca (Mason et al., 2010; Vuk-Pavlović et al., 2010). Perubahan yang terjadi pada mekanisme seluler dalam pembentukan kanker terutama melalui jalur signaling pathway dan aktivasi mekanisme imunitas melalui CD14, sehingga perubahan kecil pada ekspresi dapat mempengaruhi pembentukan tumor. Penelitian ini merupakan studi pendahuluan yang bertujuan mengetahui kadar CD14 menggunakan metode non-invasif (urin) pada penderita Pca dibandingkan dengan pasien Benign Prostate Hyperplasia (BPH).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode observasional analitik dengan pendekatan studi potong-lintang. Kelompok sampel penelitian dibagi menjadi dua yaitu pasien BPH dan pasien kanker prostat. Pengambilan sampel dilakukan di RSUD Prof. Dr. Margono Soekarjo, Purwokerto. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu non probability sampling. Kriteria inklusi subjek penelitian ialah pasien rawat jalan atau rawat inap yang didiagnosis klinis kanker prostat (melalui pemeriksaan PSA dan atau pemeriksaan patologi anatomi jaringan prostat) dan pasien

yang didiagnosis BPH secara histopatologi. Kriteria eksklusi subjek penelitian yaitu pasien mempunyai riwayat trauma pada traktus urinarius, terdapat riwayat kanker traktus urinarius dan pasien dengan infeksi saluran kemih.

Jalannya Penelitian

Semua prosedur penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman (Ref: 161/KEPK/VII/2021). Kandidat subjek penelitian menandatangani informed consent terlebih dahulu sebelum berpartisipasi dalam proses penelitian. Sampel urin pagi dikumpulkan dari kelompok pasien kanker prostat dan BPH. Sampel urin didistribusikan menjadi 4 vial (1.5 mL), setiap vial mengandung 1 mL sampel urin. Kemudian urin tersebut disentrifugasi pada kecepatan 10000 g, suhu 4°C, selama 5 menit untuk mengeliminasi debris. Setelah sentrifugasi, supernatant diekstrak dan dipindahkan ke vial baru dan disimpan pada refrigerator suhu -80°C untuk penyimpanan lebih lama. Pemeriksaan ekspresi CD14 dengan menggunakan metode elisa dari sampel urine. Pengukuran ekspresi protein CD14 menggunakan Human Cluster of Differentiation 14 (CD14) ELISA Kit 96 wells (ABclonal Technology, Woburn, MA). Metode pemeriksaan yang dilakukan dengan menggunakan metode yang direkomendasikan oleh produsen.

Analisis bioinformatika dilakukan untuk memahami profile ekspresi protein CD14 pada jaringan Pca dengan menggunakan database cBioportal (Cerami et al., 2012, 2017; Gao et al., 2013). Analisis mutasi, ekspresi serta hubungannya dengan survival rate dilakukan menggunakan sampel jaringan pasien Pca sehingga diketahui secara comprehensive peran dan fungsi dari protein CD14 dengan menggunakan database cancer (<https://www.cbioportal.org/>). Pada penelitian ini kami menggunakan Prostate TCGA PanCancer Atlas dari 494 sampel (Hoadley et al., 2018). Analisis peran dan signaling pathway dianalisis menggunakan string (<https://string-db.org/>) dan uniprot (<https://www.uniprot.org/>) (Szklarczyk et al., 2021; Uniprot, 2019).

Analisis Data

Data yang didapatkan ditampilkan sebagai mean $\pm$ SD. Perbandingan antar kelompok dianalisis menggunakan uji bivariat dengan nilai signifikansi $p < 0.05$. Analisis ekspresi protein CD14 dilakukan dengan beberapa parameter untuk mengetahui kenaikan atau penurunan ekspresi dengan beberapa software yaitu GraphPad PRISM versi 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) dan curve expert 1.4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada studi ini sampel urin yang dianalisis terdapat 24 sampel, 12 sampel untuk pasien kanker prostat dan BPH. Pada pasien kanker prostat median usia pasien yaitu 63.5 tahun dan median kadar PSA 20 ng/mL. Sedangkan pada pasien BPH median usia yaitu 64 tahun (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik demografi pasien kanker prostat (Pca) dan BPH

	Pca	BPH
Jumlah Subjek	12	12
Umur (minimum-maksimum, median) [tahun]	53-78, 63.5	48-73, 64
PSA (minimum-maksimum, median) [ng/mL]	0.92-93.9, 20	-

Karakteristik pasien dengan kanker prostat berdasarkan ISUP grade group didominasi oleh kanker prostat yang non metastatic pada ISUP grade group 1 dan 4. Sedangkan pada grup metastatik didominasi oleh ISUP grade 5 (Tabel 2).

Tabel 2. Karakteristik pasien kanker prostat berdasarkan *International Society of Urological Pathology (ISUP) grade group*

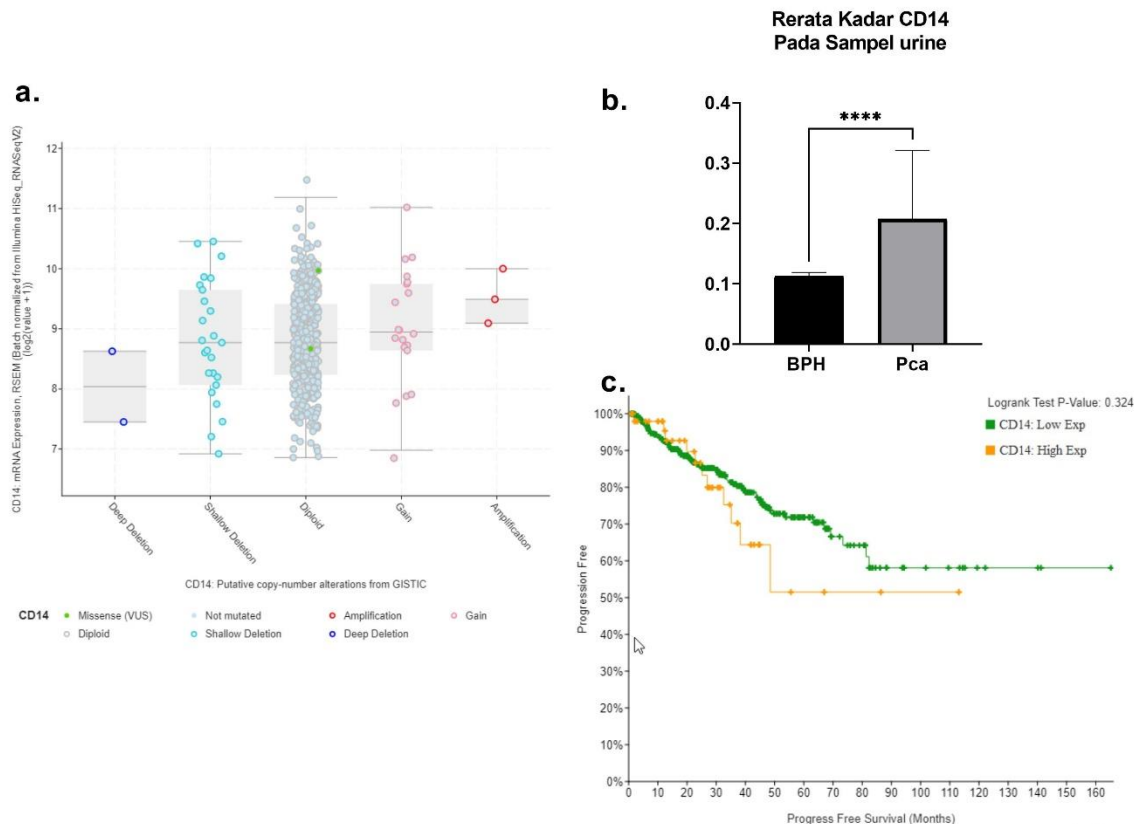
ISUP grade	Skor Gleason	Non Metastatic Pca n (%)	Metastatic Pca n (%)
1	≤6	2 (16.6)	1 (8.3)
2	7 (3+4)	1 (8.3)	-
3	7 (4+3)	1 (8.3)	-
4	8	2 (16.6)	1 (8.3)
5	9-10	1 (8.3)	3 (25)

Kadar CD14 pada sampel urin pada pasien kanker prostat dibandingkan dengan BPH secara statistik berbeda signifikan ($p < 0.05$). Kanker prostat secara rerata mempunyai kadar CD14 yang lebih tinggi dibandingkan dengan BPH (Tabel 3 dan gambar 1b).

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan ELISA CD14

	Rerata (ng/mL)	Standar Deviation	Perbandingan
BPH	0.114	0.005	p= 0.009
Kanker Prostat	0.208	0.113	

Sel kanker prostat eksfoliasi dari prostat dan dilepaskan ke dalam urin selama proses tumorigenesis. Hal ini mendukung urin sebagai sumber yang tersedia untuk mendeteksi biomarker kanker prostat yang spesifik untuk diagnosis dan prognosis. Meskipun banyak biomarker urin telah diidentifikasi dan digunakan secara individual atau dalam kombinasi untuk diagnosis. Sebagian besar menggunakan urin yang dikumpulkan setelah pemeriksaan colok dubur, yang invasif dan tidak nyaman bagi pasien. Pada penelitian ini dicoba menggunakan sampel urin yang dikoleksi tanpa pemeriksaan colok dubur (Truong et al., 2013). Analisis ekspresi dari mRNA CD14 ditemukan terdapat beberapa tipe mutasi yang mempengaruhi fungsional struktur protein CD14. Ditambah lagi, kenaikan ekspresi dari protein CD14 berhubungan erat dengan prognosis buruk pasien kanker prostat dibandingkan dengan penurunan ekspresi. Hasil analisis dapat dilihat pada gambar 1.a-c.

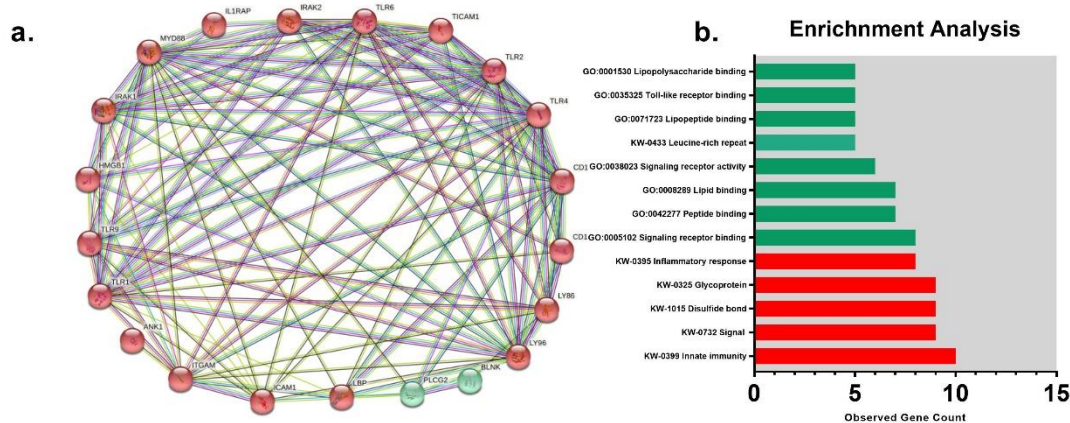


Gambar 1. Analisis mRNA dan protein CD14 dari sampel jaringan dan urine, a. mutasi CD14 dari RNA jaringan Pca, b. perubahan ekspresi protein CD14 pada urine, c. survival rate protein CD14.

Terdapat beberapa studi yang meneliti tentang biomarker sebagai modalitas diagnostik kanker prostat menggunakan teknik proteomik dan genomik. Sampel yang digunakan bisa dari darah dan urin. Perubahan ekspresi dari CD14 berperan besar terhadap pembentukan kanker dan mempengaruhi mekansime sel (gambar 2). Studi ini menggunakan teknik proteomik dengan meneliti kadar CD14 pada sampel urin. Penelitian lain yang menggunakan urine-based biomarker teknik proteomik dan menggunakan metode ELISA yaitu survivin, Engrailed-2 (EN2), α -Methylacyl-CoA Racemase (AMACR) dan hepsin (McNally et al., 2020).

Protein CD14 merupakan acute phase protein (APP). Termasuk APP golongan 2 yang diinduksi oleh IL-6 dan dihambat oleh IL1- β . CD14 terdapat dalam 2 bentuk yaitu soluble sCD14 dan membrane mCD14 (Bas et al., 2004). Keduanya dapat mengirim LPS menjadi kompleks TLR4 dan MD-2 pada sel. Terdapat efek sinergis CD14 dan LPS pada proliferasi sel Pca yang kekurangan TLR4 (TLR4- DU145) (Rezania et al., 2014).

Pada studi ini terdapat kadar CD14 yang lebih tinggi pada kanker prostat dibandingkan BPH. Pada penelitian yang dilakukan oleh Rezania et al (2014) didapatkan hasil CD14 diekspresikan pada sel kanker prostat (PC3 dan DU145). Hal ini didukung studi yang dilakukan oleh Hua et.al menunjukkan bahwa ekspresi CD14 dan TLR4 ditemukan secara signifikan lebih tinggi pada sel kanker prostat yang sangat invasif (Hua et al., 2009). Sedangkan secara genotip terdapat varian pada gen CD14 yang berperan pada risiko yang lebih tinggi menderita kanker prostat (Mason et al., 2010).



Gambar 2. Analisis hubungan mekanisme dan fungsi dari CD14, a. signaling pathways CD14 dengan protein pada mekanisme response inflammatory (merah), b. biological proses yang terhambat akibat perubahan ekspresi CD14

Keterbatasan penelitian ini masih merupakan studi pendahuluan dan terkait dengan kanker prostat merupakan kanker dengan derajat heterogenitas yang tinggi. Banyak perubahan gen berkontribusi terhadap tumorigenesis kanker, perkembangan, kekambuhan, dan metastasis. Dengan demikian, perlu untuk menggabungkan beberapa biomarker yang terlibat dalam proses ini. Seperti pemeriksaan IL-6 TNF- α atau TGF- β pada sampel urin.

Pada studi pendahuluan ini terdapat perbedaan kadar CD14 yang signifikan pada sampel urin antara pasien Pca dan BPH. Hal ini menunjukkan pemeriksaan CD14 di urin potensial sekali dikembangkan sebagai biomarker kanker prostat walaupun hal ini harus dikonfirmasi kembali dengan jumlah sampel yang lebih banyak.

KESIMPULAN

Kenaikan ekspresi protein CD14 ditemukan pada urine PCa dibandingkan dengan BPH, perubahan ekspresi berkaitan erat dengan respon inflamotry dan berhubungan erat dengan prognosis buruk pada pasien PCa, sehingga sangat potensial untuk dikembangkan sebagai kandidat biomarker PCa berbasis urine. Namun, keterbatasan jumlah sampel menjadi keterbatasan penelitian ini sehingga perlu ditambahkan jumlah sampel untuk mendapatkan hasil yang lebih *reliable* dan *cut off value* untuk dapat dijadikan sebagai salah satu kandidat biomarker diagnosis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih terhadap LPPM Unsoed yang telah memberikan dukungan dana penelitian melalui skema RPK BLU Unsoed 2021. Ditambah lagi, peneliti juga mengucapkan terima kasih banyak kepada pimpinan dari Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman dan RSUD Prof. Dr. Margono yang telah mendukung terselesainya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbay, E., Bozlu, M., Çayan, S., Kara, P. Ö., Tek, M., & Aytekin, C. (2017). Prostate-specific antigen decline pattern in advanced prostate cancer receiving androgen deprivation therapy and relationship with prostate-specific antigen progression. *Aging Male*, 20(3), 175–183. <https://doi.org/10.1080/13685538.2017.1328675>
- Andriole, G. L., Crawford, E. D., Grubb, R. L., Buys, S. S., Chia, D., Church, T. R., Fouad, M. N., Isaacs, C., Kvale, P. A., Reding, D. J., Weissfeld, J. L., Yokochi, L. A., O'Brien, B., Ragard, L. R., Clapp, J. D., Rathmell, J. M., Riley, T. L., Hsing, A. W., Izmirlian, G., ... Prorok, P. C. (2012). Prostate cancer screening in the randomized prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial: Mortality results after 13 years of follow-up. *Journal of the National Cancer Institute*. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr500>
- Bas, S., Gauthier, B. R., Spenato, U., Stingelin, S., & Gabay, C. (2004). CD14 Is an Acute-Phase Protein. *The Journal of Immunology*, 172(7), 4470–4479. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.7.4470>
- Cerami, E., Gao, J., Dogrusoz, U., Gross, B. E., Sumer, S. O., Aksoy, B. A., Jacobsen, A., Byrne, C. J., Heuer, M. L., Larsson, E., Antipin, Y., Reva, B., Goldberg, A. P., Sander, C., & Schultz, N. (2012). The cBio Cancer Genomics Portal: An open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discovery*, 2(5), 401–404. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0095>
- Cerami et al. (2017). The CBio Cancer Genomics. *Cancer Discov.*, 32(7), 736–740.
- de Bono, J. S., Logothetis, C. J., Molina, A., Fizazi, K., North, S., Chu, L., Chi, K. N., Jones, R. J., Goodman, O. B., Saad, F., Staffurth, J. N., Mainwaring, P., Harland, S., Flaig, T. W., Hutson, T. E., Cheng, T., Patterson, H., Hainsworth, J. D., Ryan, C. J., ... Scher, H. I. (2011). Abiraterone and Increased Survival in Metastatic Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1014618>
- Gao, J., Aksoy, B. A., Dogrusoz, U., Dresdner, G., Gross, B., Sumer, S. O., Sun, Y., Jacobsen, A., Sinha, R., Larsson, E., Cerami, E., Sander, C., & Schultz, N. (2013). Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Science Signaling*, 6(269). <https://doi.org/10.1126/scisignal.2004088>
- Grossman, D. C., Curry, S. J., Owens, D. K., Bibbins-Domingo, K., Caughey, A. B., Davidson, K. W., Doubeni, C. A., Ebell, M., Epling, J. W., Kemper, A. R., Krist, A. H., Kubik, M., Seth Landefeld, C., Mangione, C. M., Silverstein, M., Simon, M. A., Siu, A. L., & Tseng, C. W. (2018). Screening for prostate cancer USPpreventive servicetaskforcerecommendation statement. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 319(18), 1901–1913. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.3710>
- Hayes, J. H., & Barry, M. J. (2014). Screening for prostate cancer with the prostate-specific antigen test: A review of current evidence. In *JAMA - Journal of the American Medical Association*. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.2085>
- Hoadley, K. A., Yau, C., Hinoue, T., Wolf, D. M., Lazar, A. J., Drill, E., Shen, R., Taylor, A. M., Cherniack, A. D., Thorsson, V., Akbani, R., Bowlby, R., Wong, C. K., Wiznerowicz, M., Sanchez-Vega, F., Robertson, A. G., Schneider, B. G., Lawrence, M. S., Noushmehr, H., ... Laird, P. W. (2018). Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Classification of 10,000 Tumors from 33 Types of Cancer. *Cell*, 173(2). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.022>
- Hua, D., Liu, M. yuan, Cheng, Z. de, Qin, X. jing, Zhang, H. mou, Chen, Y., Qin, G. jian, Liang, G., Li, J. nan, Han, X. feng, & Liu, D. xu. (2009). Small interfering RNA-directed targeting

- of Toll-like receptor 4 inhibits human prostate cancer cell invasion, survival, and tumorigenicity. In *Molecular Immunology* (Vol. 46, Issue 15, pp. 2876–2884). <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2009.06.016>
- Mason, T. E., Ricks-Santi, L., Chen, W., Apprey, V., Joykuty, J., Ahaghotu, C., Kittles, R., Bonney, G., & Dunston, G. M. (2010). Association of CD14 variant with prostate cancer in African American men. *Prostate*. <https://doi.org/10.1002/pros.21060>
- McNally, C. J., Ruddock, M. W., Moore, T., & McKenna, D. J. (2020). Biomarkers that differentiate benign prostatic hyperplasia from prostate cancer: A literature review. In *Cancer Management and Research* (Vol. 12, pp. 5225–5241). <https://doi.org/10.2147/CMAR.S250829>
- Pezaro, C., Woo, H. H., & Davis, I. D. (2014). Prostate cancer: Measuring PSA. *Internal Medicine Journal*. <https://doi.org/10.1111/imj.12407>
- Rezania, S., Amirmozaffari, N., Rashidi, N., Mirzadegan, E., Zarei, S., Ghasemi, J., Zarei, O., Katouzian, L., & Zarnani, A. H. (2014). The same and not the same: Heterogeneous functional activation of prostate tumor cells by TLR ligation. *Cancer Cell International*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/1475-2867-14-54>
- Saini, S. (2016). PSA and beyond: alternative prostate cancer biomarkers. In *Cellular Oncology* (Vol. 39, Issue 2, pp. 97–106). <https://doi.org/10.1007/s13402-016-0268-6>
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Nastou, K. C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., Doncheva, N. T., Legeay, M., Fang, T., Bork, P., Jensen, L. J., & von Mering, C. (2021). The STRING database in 2021: Customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Research*, 49(D1). <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074>
- Thompson, I. M., Ankerst, D. P., Chi, C., Lucia, M. S., Goodman, P. J., Crowley, J. J., Parnes, H. L., & Coltman, C. A. (2005). Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/mL or lower. *Journal of the American Medical Association*. <https://doi.org/10.1001/jama.294.1.66>
- Truong, M., Yang, B., & Jarrard, D. F. (2013). Toward the detection of prostate cancer in urine: A critical analysis. In *Journal of Urology* (Vol. 189, Issue 2, pp. 422–429). <https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.04.143>
- Uniprot. (2019). *Uniprot.org.br*. 2019.
- Vuk-Pavlović, S., Bulur, P. A., Lin, Y., Qin, R., Szumlanski, C. L., Zhao, X., & Dietz, A. B. (2010). Immunosuppressive CD14+HLA-DR^{low}/− monocytes in prostate cancer. *Prostate*, 70(4), 443–455. <https://doi.org/10.1002/pros.21078>
- World Health Organization. (2019). Indonesia Source GLOBOCAN 2018. *International Agency for Research on Cancer*.
- Yuri, P., Wangge, G., Abshari, F., Satjakoesoemah, A. I. T. W. H., Perdana, N. R., Wijaya, C. D. K., Tansol, C., Tigor, A., Safriadi, F., Kadar, D. D., Warli, S. M., Rochadi, S., Danarto, Hakim, L., Djatisoesanto, W., Hardjowijoto, S., Mochtar, C. A., Umbas, R., & Hamid, A. R. iza. A. H. (2015). Indonesian prostate cancer risk calculator (IPCRC): an application for predicting prostate cancer risk (a multicenter study). *Acta Medica Indonesiana*.