

# Marcatori nel siero e nelle urine nel Ca della prostata

Dr.ssa Laura Conti  
UOSD Patologia Clinica

# EPIDEMIOLOGIA DELL'ADENOCARCINOMA DELLA PROSTATA

## Incidenza del cancro negli USA

Prostata	217,730	28%
Polmoni e bronchi	116,750	15%
Colon-retto	72,090	9%
Vescica	52,760	7%
Melanoma	38,870	5%
Linfoma non-Hodgkin	35,380	4%
Rene	35,370	4%
Cavità orale e faringe	25,420	3%
Leucemia	24,690	3%
Pancreas	21,370	3%
<b>Tutti i tumori</b>	<b>789,620</b>	<b>100%</b>

## Mortalità per cancro negli USA

Polmoni e bronchi	86,220	29%
Prostata	32,050	11%
Colon-retto	26,580	9%
Pancreas	18,770	6%
Fegato	12,720	4%
Leucemia	12,660	4%
Esofago	11,650	4%
Linfoma non-Hodgkin	10,710	4%
Vescica	10,410	3%
Rene	8,210	3%
<b>Tutti i tumori</b>	<b>299,200</b>	<b>100%</b>

# EPIDEMIOLOGIA DELL'ADENOCARCINOMA DELLA PROSTATA

**Incidenza e  
Mortalità per  
cancro in  
Europa**

\* x 1000  
%

	Incidenza*	Mortalità*
Cavità orale e faringe	78.5	33.7
	4.6	3.5
Esofago	34.3	29.3
	2.0	3.1
Stomaco	96.1	70.4
	5.6	7.4
Colon-retto	217.4	107.6
	12.8	11.3
Laringe	42.1	19.2
	2.5	2.0
Polmone	292.2	253.3
	17.2	26.6
<b>Prostata</b>	<b>345.9</b>	<b>87.4</b>
	<b>20.3</b>	<b>9.2</b>
Leucemia	44.8	29.3
	2.6	3.1
Tutti i tumori	1701.8	952.4
	100.0	100.0

# Carcinoma della prostata

In Italia ogni anno vengono diagnosticati 43.000 nuovi casi di cancro alla prostata, che rappresentano il 35% circa dei pazienti sottoposti a biopsia (per un sospetto alla visita o all'ecografia prostatica o più frequentemente per un valore alterato del PSA).

Il 65% dei pazienti che subisce il peso psicologico, economico e delle complicanze legate alla manovra invasiva della biopsia (circa 80.000) ha però un risultato negativo.

# Biomarcatori prostatici

Nasce così l'esigenza di ricercare marcatori tumorali più accurati

- Ridurre la mortalità cancro-specifica
- Limitare il numero di biopsie inutili perché negative (circa il 60-70% di tutte le biopsie eseguite)
- Identificare quelle forme neoplastiche che diventeranno clinicamente significative.
- Evitare la “sovradiagnosi” , il “sovrattamento”
- Ottimizzare il rapporto costi/ benefici

# Biomarcatori prostatici

Obiettivo primario l'identificazione precoce dei pazienti affetti da un tumore della prostata e la necessità di utilizzare dei marcatori tumorali più accurati e più specifici rispetto al PSA e al PSA libero

- PSA velocity
- proPSA
- PCA3

# EZIOPATOGENESI DELL'ADENOCARCINOMA DELLA PROSTATA (1)

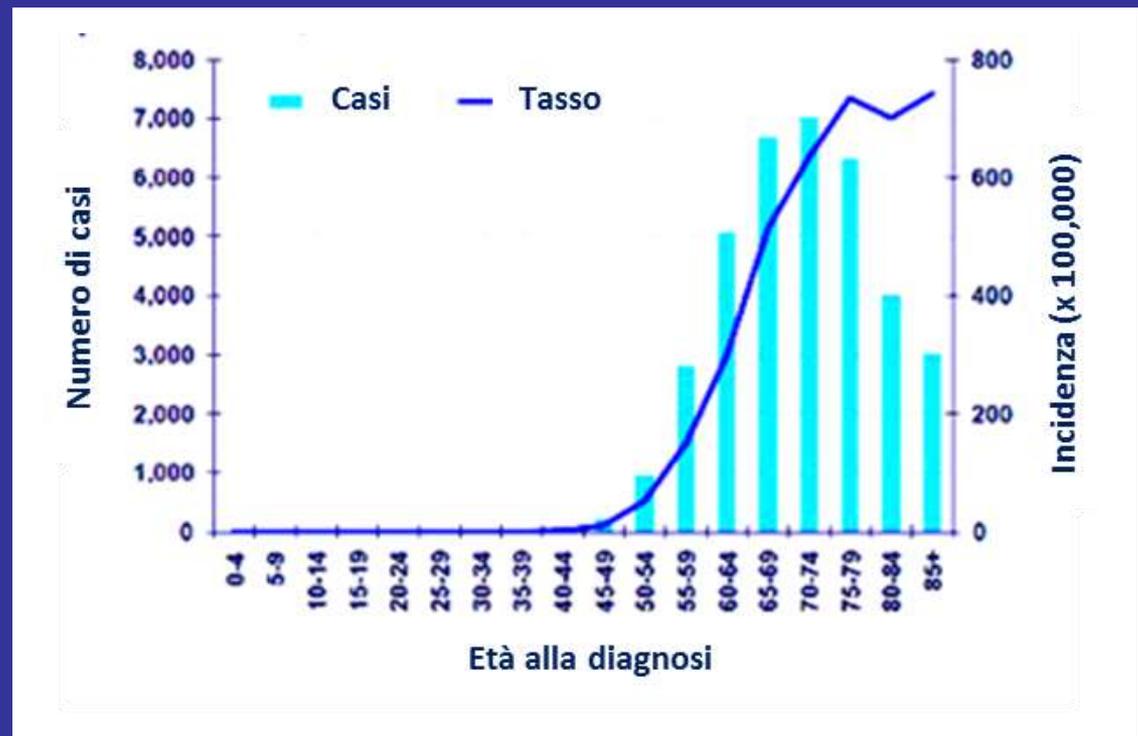
## FATTORI GENETICI

- Familiarità
- Etnia

## FATTORI AMBIENTALI

- Dieta
- Stile di vita

In relazione all'età



“Office for National Statistics”, UK 2010

# Diagnosi

- Esplorazione digito-rettale
- Dosaggio del PSA
- Agobiopsia prostatica

# PSA

## Aumento PSA

- Prostatiti
- BPH
- DRE
- Biopsia Prostatica
- Cistoscopia
- Attività fisica

## Diminuzione PSA

- Interventi chirurgici/medici
- Castrazione
- Finasteride (50%)
- Eiaculazione (?)

# Utilità Clinica del PSA sierico

## 1. Screening/Diagnosi precoce

## 2. Staging -

- T stage
- N stage
- M stage

## 3. Prognosi

- post intervento
- post radioterapia
- post terapia ormonale

# Dosaggio PSA

I **metodi immunometrici** sono quelli di elezione: la quantità di marcatore presente nel liquido biologico (nel sangue) viene misurata con un anticorpo specifico legato ad un sistema di rilevazione (enzimatico, a fluorescenza, ecc).

Il legame anticorpo-marcatore determina una reazione la cui intensità è direttamente proporzionale alla quantità del marcatore presente. L'intensità di reazione viene misurata e confrontata con una curva di calibrazione in cui le concentrazioni del marcatore sono note.

Per il dosaggio del PSA si utilizzano traccianti chemiluminescenti: molto sensibili, rapidi, ormai automatizzati, con reagenti a scadenza relativamente lunga.

**PSA totale = PSA libero + PSA legato all'antichimotripsina (cPSA 70-95%)**

# PSA libero/totale e derivati

- Utilità: migliorare la specificità del PSA (evitare biopsie inutili), si è dimostrato migliorare significativamente la discriminazione tra PCa e ipertrofia prostatica benigna ⇒ importanti solo per la diagnosi
- PSA F/T:
  - performance migliore nel range 4-10 ng/ml
  - valori più elevati correlano con un basso rischio di Pca, mentre valori di PSA F/T al di sotto del 10% sono altamente associati a Pca
  - non esiste cut off di riferimento (15% privilegia la sensibilità; 25% privilegia la specificità)
  - interpretato nel complesso con gli altri "derivati" del PSA
- Derivati: *"strumenti" che combinano la misurazione del marker con altre variabili*
  - Volume della prostata
  - Età del paziente
  - Evoluzione nel tempo

# L'ANTIGENE PROSTATICO SPECIFICO

- L'unico mezzo per influire sulla mortalità risulta essere la prevenzione secondaria ed il mezzo più utilizzato è quello relativo alla determinazione del PSA.
- Sebbene l'uso di routine della valutazione del PSA sierico abbia aumentato la diagnosi precoce dell'adenocarcinoma della prostata, uno dei principali svantaggi è la bassa sensibilità e specificità che si ottiene utilizzando un cutoff di 4 ng/ml.
- Ciò che si può fare è andare a modificare tale soglia ma laddove si guadagna in specificità si perde in sensibilità e viceversa.

25-30% di  
soggetti con  
carcinoma

«zona  
grigia»

Sensibilità e Specificità per carcinoma prostatico per diversi valori soglia di PSA

PSA, ng/ml	Sensibilità	Specificità
1,1	83,4	38,9
1,6	67,0	58,7
2,1	52,6	72,5
2,6	40,5	81,1
3,1	32,2	86,7
4,1	20,5	93,8
6,1	4,6	98,5
8,1	1,7	99,4
10,1	0,9	99,7

# Esiste un Cut off per il PSA?

- Per alcuni urologi **NO**
- In realtà il cut off 4 ng/ml è ancora un accettabile compromesso tra:
  - Sensibilità (mancata diagnosi di CaP)
  - Specificità (risparmio di biopsie inutili)
  - La sovradiagnosi e i sovratrattamenti cioè la diagnosi e il trattamento di neoplasie che non si sarebbero manifestate nel corso della vita ( clinicamente non significative)
- Il cut off 4 ng/ml non è applicabile nei pazienti con:
  - Familiarità per CaP
  - <60aa
  - PSA in rapido aumento

<b>Study</b>	<b>ERSPC</b>
Trial name or title	European Randomised study of Screening for Prostate Cancer
Participants	Male inhabitants across the eight participating study sites including; Belgium, Finland, France, Italy, Netherlands, Spain, Sweden and Switzerland aged 50-75. Screening group - 83,645 Control group - 99,393
Interventions	Screening group - DRE, PSA and/or TRUS biopsy Control group - usual care/no screening offered
Outcomes	Prostate cancer mortality, detection rates, stage of cancer, quality of life
Starting date	1991

<b>Study</b>	<b>PLCO</b>
Trial name or title	Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian cancer screening trial
Participants	For Prostate: Male inhabitants across 10 screening centres in the USA aged 55-74. Screening group - 37,000 Control group - 37,000
Interventions	Screening group - DRE, PSA (men are also screened for lung and colorectal cancer) Control group - usual care/no screening offered
Outcomes	Prostate cancer mortality, cancer detection rates, stage of cancer
Starting date	1993

# Conclusioni PSA

The 2 large trials have mixed results:

The PLCO showed:

- after 7 to 10 years of follow-up, the rate of death from prostate cancer was very low and did not differ significantly between the two study groups.

The ERSPC showed:

- the modest Absolute risk reduction for prostate cancer of 7.1 per 10,000 men.
- to over-diagnosis and overtreatment.
- therefore we need to uncouple diagnosis from treatment.

# Diagnosi precoce e screening

## 2001 American Cancer Society guidelines

DRE + Dosaggio del PSA  
annualmente in uomini con età maggiore di 50 anni ed una  
aspettativa di vita superiore ai 10 anni  
(eccetto pazienti con anamnesi familiare positiva)

2009 Studi prospettici controllati randomizzati condotti in Europa (ERSPC) e negli  
USA (PLCO) primi dati relativi all'impatto dello screening sulla mortalità



I benefici sono incerti e persiste un elevato rischio di sovradiagnosi

Allo stato attuale delle conoscenze NON è pertanto lecito sottoporre indiscriminatamente la popolazione maschile a test diagnostici quali il PSA, in soggetti asintomatici, basandosi unicamente sul maggiore rischio legato all'età

# ERSPC:European Randomized Study of Screening for Prostate cancer

Nell'analisi dei dati relativi ai sette centri europei l'effettuazione dello screening utilizzando il PSA è risultata associata ad una riduzione assoluta significativa dello 0.7% delle morti per PCa dopo un follow –up medio di 8.8 anni.

Il tasso di morte per PCa negli uomini con età compresa tra 55 e 69 anni all'ingresso nello studio corrisponde ad una riduzione relativa del 20%.

Per prevenire un decesso per PCa dovremmo sottoporre al test di screening 1410 uomini (in realtà 1068 tenendo conto del tasso di adesione al programma proposto) e di questi 48 dovrebbero essere sottoposti a trattamento.

Il tasso di sovradiagnosi , è stato stimato essere superiore al 50%, con il conseguente eccesso di trattamento.

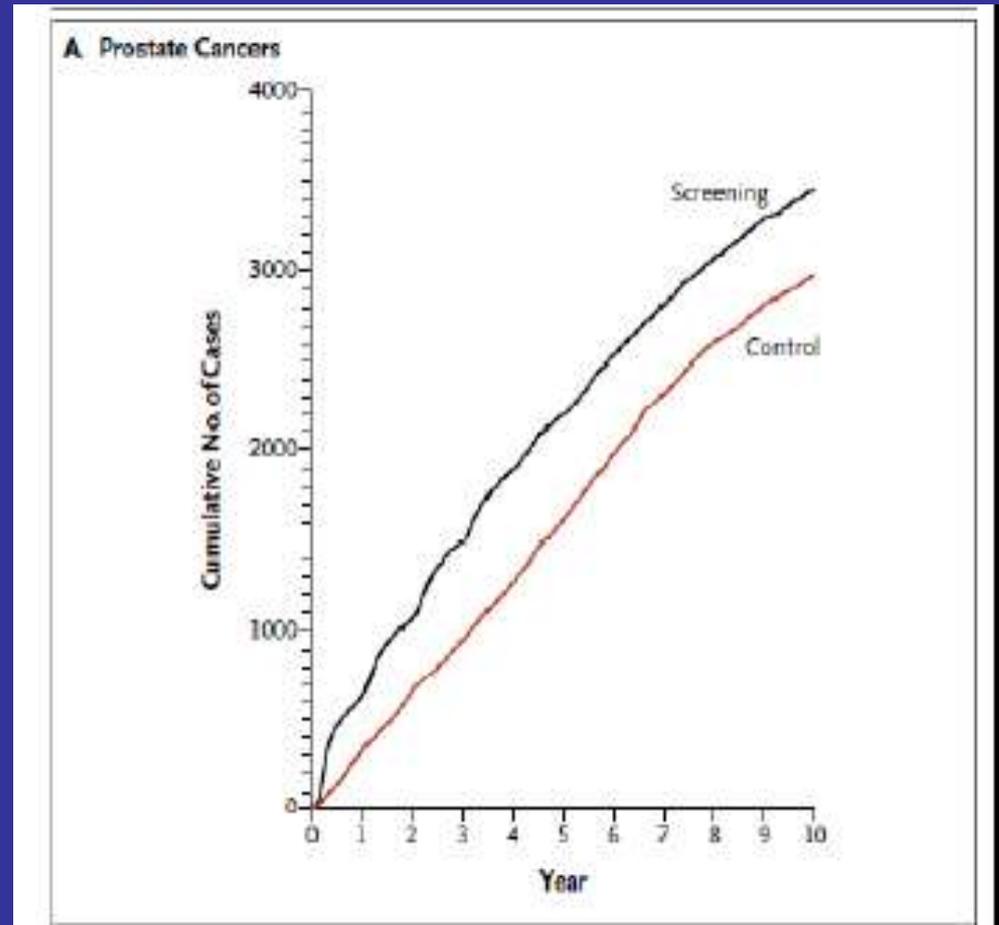
ORIGINAL ARTICLE

## Mortality Results from a Randomized Prostate-Cancer Screening Trial

After 7 years of follow up

- Incidence of prostate cancer per 10,000 person-years
- 116 (2820 cancers) in the screening group
- 95 (2322 cancers) in the control group

(rate ratio, 1.22; 95% confidence interval [CI], 1.16 to 1.29)



## ORIGINAL ARTICLE

Mortality Results from a Randomized  
Prostate-Cancer Screening Trial

The incidence of death per 10,000 person-years

- 2.0 (50 deaths) in the screening group
- 1.7 (44 deaths) in the control group (rate ratio, 1.13; 95% CI, 0.75 to 1.70).
- The data at 10 years were 67% complete and consistent with these overall findings (92 + 82)

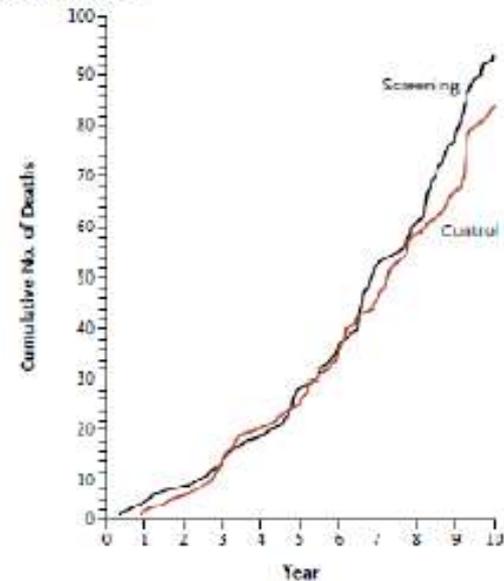
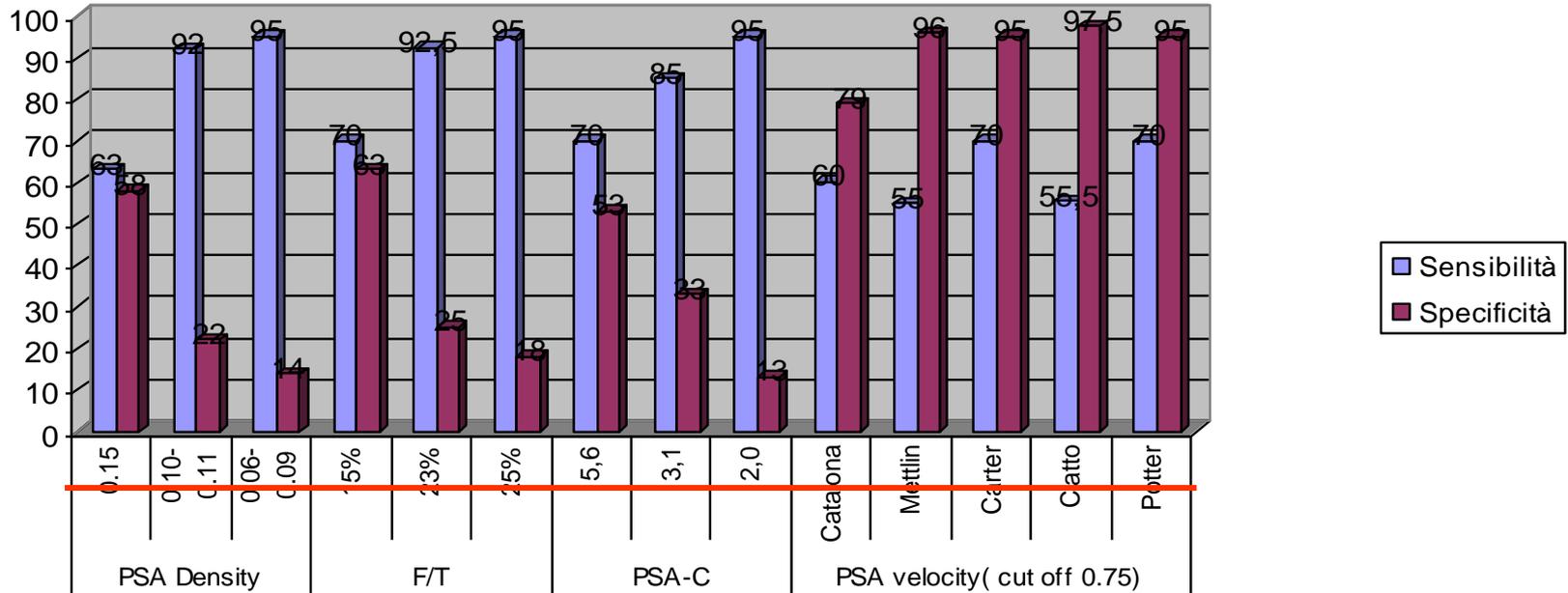
**B** Prostate-Cancer Deaths

Figure 1. Number of Diagnoses of All Prostate Cancers (Panel A) and Number of Prostate-Cancer Deaths (Panel B).

# PSA Velocity

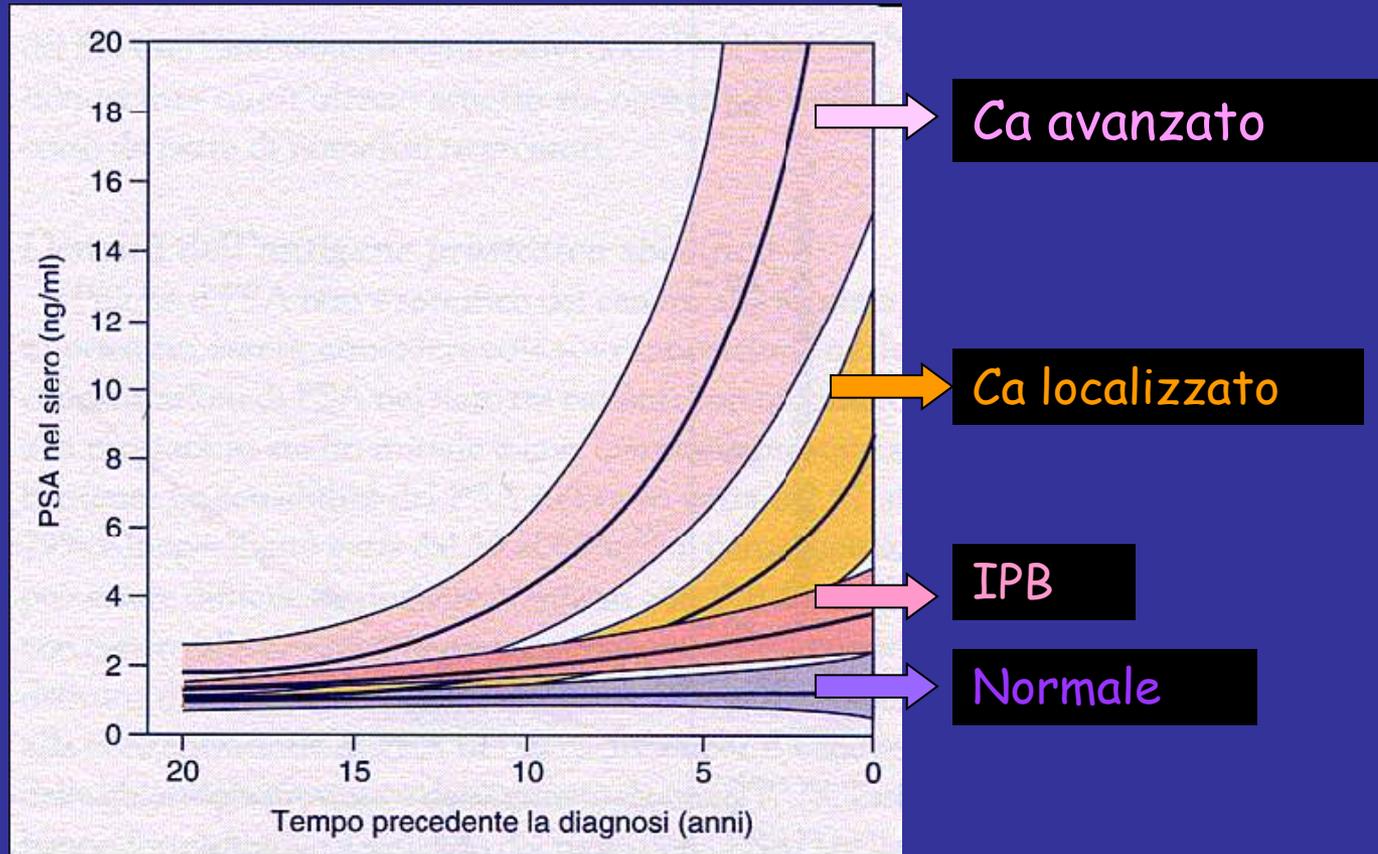


Un altro criterio diagnostico promettente è il tasso d'incremento di PSA nel tempo. Sembra infatti che la variazione quantitativa su base annuale tra prelievi seriati di uno stesso paziente sia più significativa del valore assoluto del PSA nella diagnosi differenziale tra cancro ed ipertrofia. Nel cancro della prostata, l'incremento del PSA suole superare 0,75 ng/ml per anno o subire incrementi annui del 20% rispetto ai valori iniziali. La PSA velocity è un'approccio diagnostico interessante che necessita peraltro di un'accurata standardizzazione prima del suo impiego routinario. Per adottare questo criterio, sono necessarie ripetute determinazioni del PSA, preferibilmente ad intervalli trimestrali, per un periodo minimo di un anno, ma preferibilmente per diversi anni. È ovvio che tale principio non consente conclusioni in tempi brevi.

La PSA velocity, a parità di sensibilità, ha la miglior specificità.

# PSA VELOCITY vs DIAGNOSI

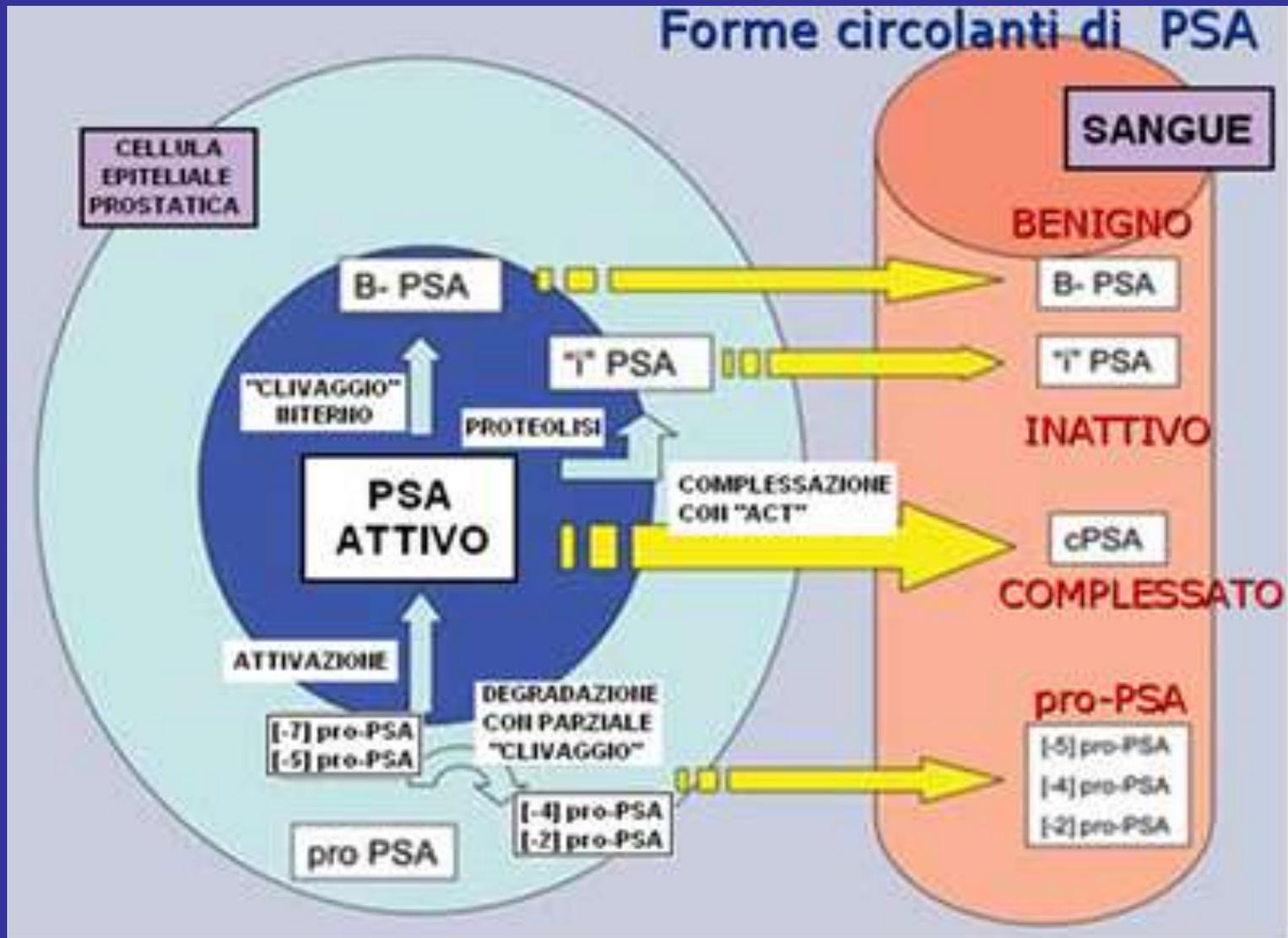
## PSA VELOCITY



# Nuovi markers...

- per ridurre il numero di biopsie non necessarie
- definire l'aggressività del tumore
- monitorare l'efficacia del trattamento

# Pro PSA: precursori del PSA



# proPSA

- l'isoforma della porzione libera del PSA più specifica per il carcinoma prostatico è la molecola [-2]proPSA.
- il [-2]proPSA è la più stabile tra le forme identificate.
- mostra la più intensa immunocolorazione istologica nel carcinoma prostatico rispetto al tessuto benigno, il che ne fa il marcatore più specifico.
- è possibile misurarne la concentrazione nel siero con il nuovo test diagnostico "Access Hybritech p2PSA" Beckman Coulter

# PSA, PRO-PSA e PROSTATE HEALTH INDEX (phi)

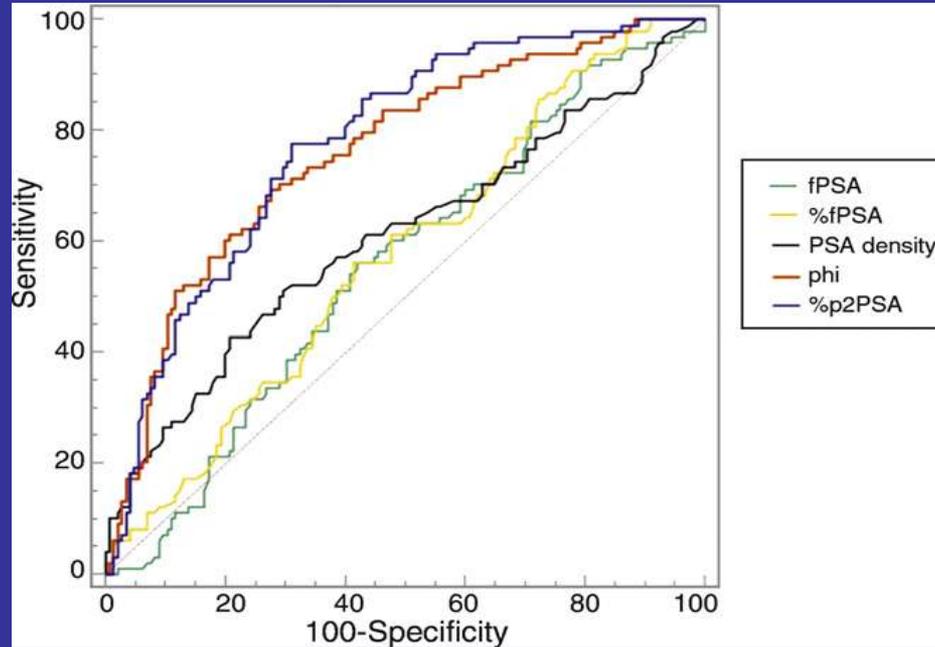
- Il nuovo saggio immunologico p2PSA viene utilizzato assieme alle determinazioni di PSA totale e PSA libero per generare un indice utile a valutare il rischio di carcinoma prostatico, conosciuto come “phi” (acronimo di “Prostate Health Index”).

L' **indice di salute prostatica** è ottenuto attraverso una semplice formula in cui compaiono i risultati delle concentrazioni di PSA, PSA libero e dell'isoforma [-2]proPSA:

$$\phi = \frac{\text{p2PSA}}{\text{fPSA}} * \sqrt{\text{tPSA}}$$

Il **phi** non sostituisce il test del PSA, bensì migliora la specificità clinica di rilevamento del carcinoma prostatico rispetto ai test attualmente in uso. Esso va inteso quindi come un ulteriore strumento utile a fornire una specificità di rilevamento del carcinoma prostatico migliore del solo test del PSA (tPSA) e della percentuale di PSA libero (fPSA%).

# Accuratezza diagnostica del %proPSA e del Prostate Health Index o phi



Nei pazienti con PSA totale compreso tra 2-10 ng/ml (range sospetto per il quale la percentuale di biopsie negative varia dal 60 al 70%), con esplorazione rettale non sospetta ed età superiore a 50 anni, la %p2PSA (p2PSA/PSA libero) e il phi o “Prostate Health Index “ sono significativamente più accurati del PSA del PSA libero nell’identificazione dei pazienti affetti da neoplasia prostatica.

p2PSA, %proPSA e l’indice phi sembrano correlare con i tumori che avranno uno sviluppo clinico e con l’aggressività del tumore.

# Prostate Cancer Gene 3 (PCA3) (DD3<sup>PCA3</sup> or PCA3<sup>DD3</sup>)

[CANCER RESEARCH 59, 5975-5979, December 1, 1999]

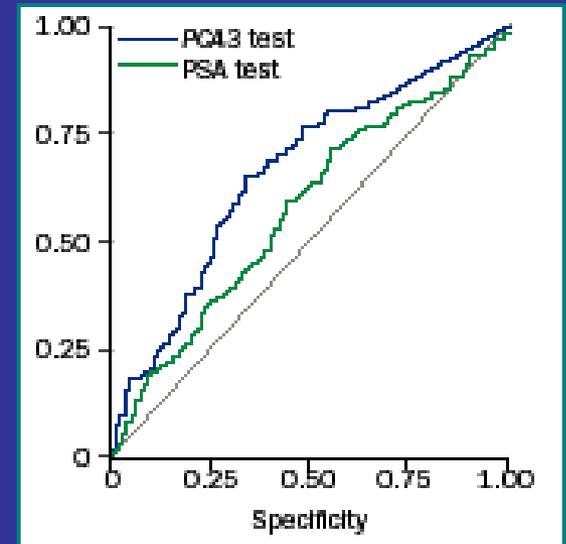
## ***DD3: A New Prostate-specific Gene, Highly Overexpressed in Prostate Cancer***<sup>1</sup>

**Marion J. G. Bussemakers,<sup>2</sup> Adrie van Bokhoven, Gerald W. Verhaegh, Frank P. Smit, Herbert F. M. Karthaus, Jack A. Schalken, Frans M. J. Debruyne, Ning Ru, and William B. Isaacs**

*Urology Research Laboratory, University Hospital Nijmegen, 6500 HB Nijmegen, the Netherlands [M. J. G. B., A. v. B., G. W. V., F. P. S., J. A. S., F. M. J. D.]; Department of Urology, Canisius Wilhelmina Hospital, 6500 GS Nijmegen, the Netherlands [H. F. M. K.]; and James Buchanan Brady Urological Institute, Johns Hopkins Hospital, Baltimore, Maryland 21287-2101 [N. R., W. B. I.]*

# ... il PCA3

- Il PCA3 (conosciuto anche come DD3) è un mRNA non codificante specifico della prostata
- Iperespresso in elevate quantità nelle cellule cancerose della prostata (livello mediano di >66 volte superiore al tessuto benigno adiacente)
- Il PCA3 non è influenzato dal volume o altre condizioni benigne della prostata
- Test dell'urina non invasivo



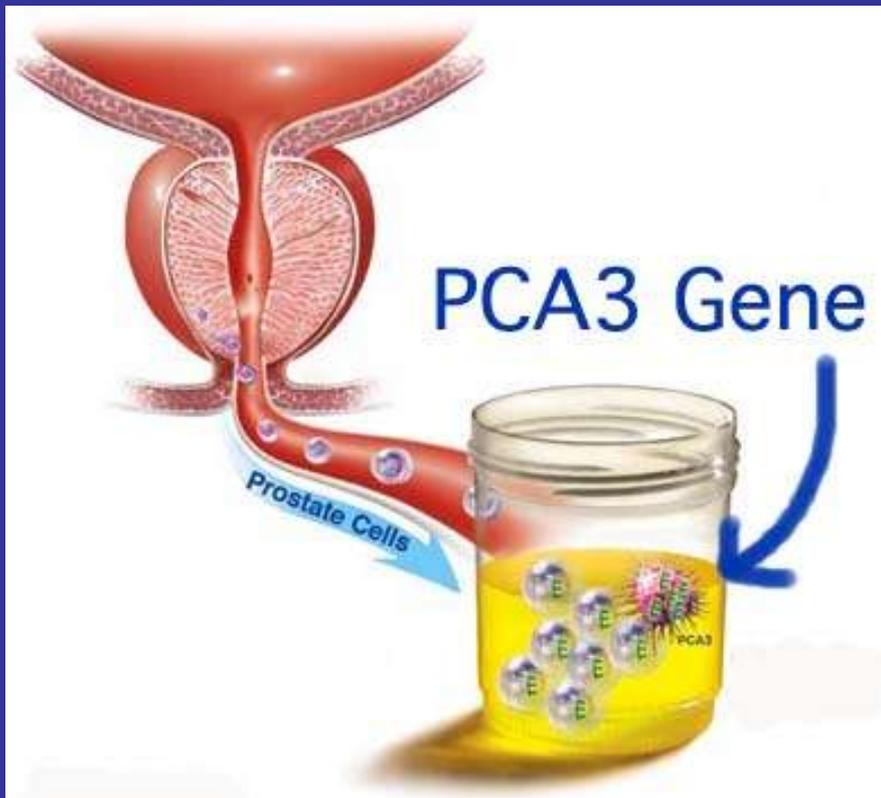
Hessels, D. & schalken, J. A. *Nat. Rev. Urol.* 2009

# Rivelazione di Cellule Cancerose

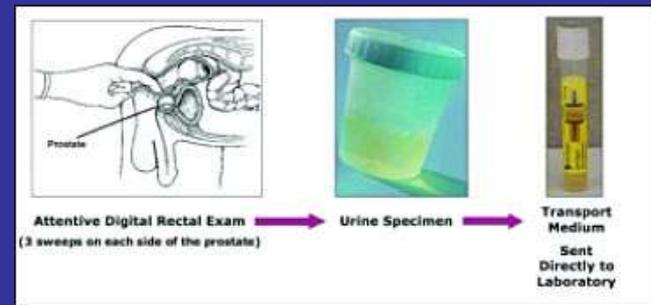
Il test prevede:

- 2 dosaggi indipendenti per PCA3 e PSA condotti in parallelo

- Misura la quantità di RNA messaggero (mRNA) trascritto dai geni PCA3 e PSA direttamente nelle urine dei pazienti raccolte dopo DRE



# PCA3 Urine Test



Il PROGENSA PCA3 test si avvale di una tecnologia innovativa:

- Utilizza urina intera raccolta a seguito di esame digito-rettale (DRE) consistente in tre pressioni per ciascun lobo
- Il DRE libera le cellule della prostata nel tratto urinario dove possono essere raccolte nell'urina di primo getto
- L'urina viene trattata mediante l'aggiunta del Mezzo di trasporto dell'urina (UTM), che provoca la lisi delle cellule e stabilizza l'RNA
- Gli mRNA di PCA3 e PSA sono quantificati utilizzando simili protocolli e reagenti
- Gli mRNA target vengono purificati attraverso la cattura con microparticelle magnetiche coattate con specifici oligonucleotidi target
- Amplificati attraverso la TMA (transcription- mediated amplification)
- I prodotti di amplificazione rilevati mediante sonde chemiluminescenti di DNA

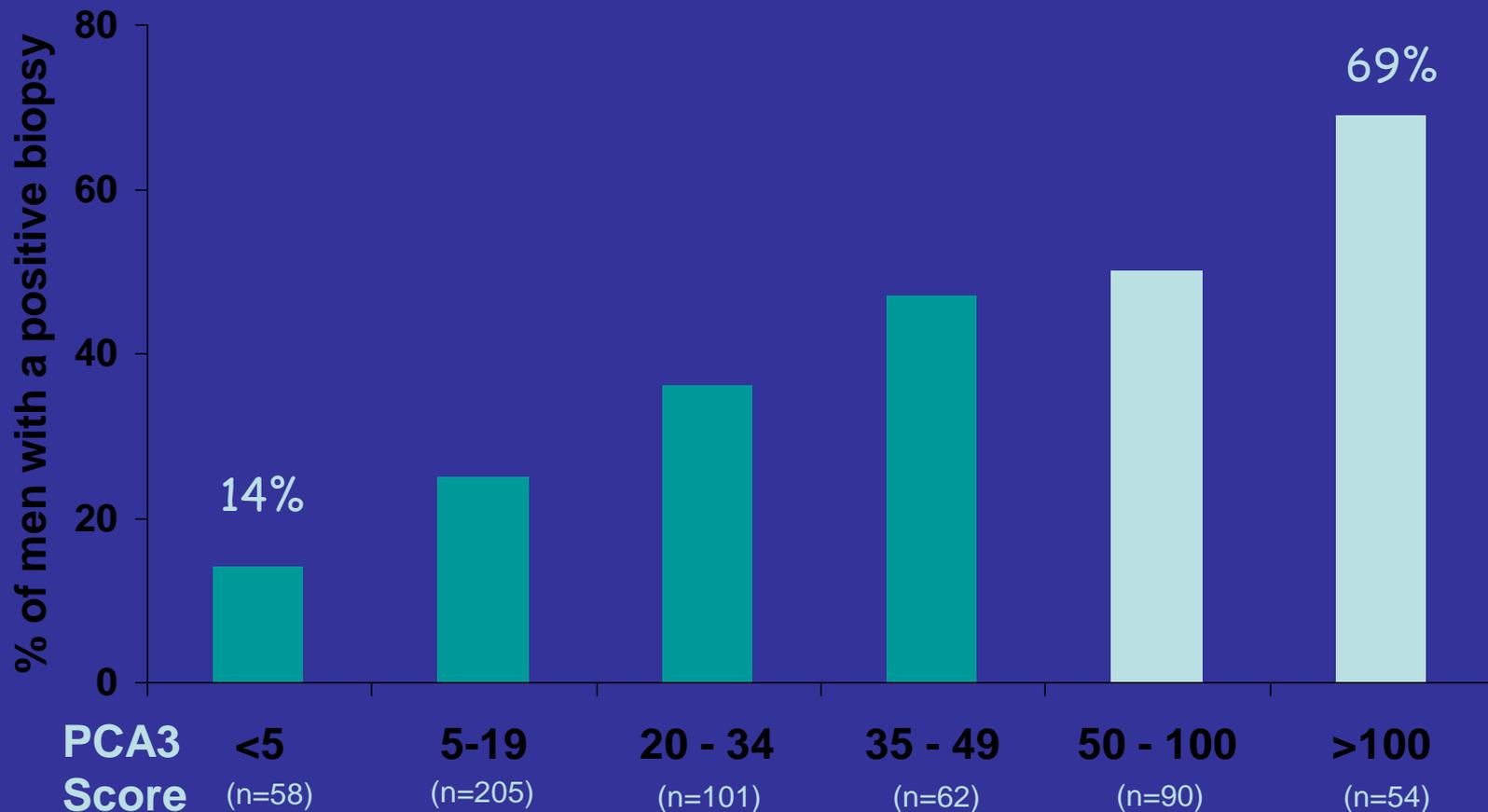
La misurazione dell'mRNA del PSA, oltre a standardizzare il segnale del PCA3 (l'espressione del gene PSA è simile nelle cellule cancerose e in quelle benigne), serve anche a confermare che il prodotto di RNA specifico della prostata è sufficiente a generare un risultato valido

$$\text{PCA3 Score} = \frac{\text{PCA3 mRNA}}{\text{PSA mRNA}} \times 1000$$

Con un cutoff=35 questo test ha dimostrato una **sensibilità** del 58% e una **specificità** del 74% per la rilevazione del carcinoma prostatico

# Il PCA3 e la probabilità di biopsia positiva

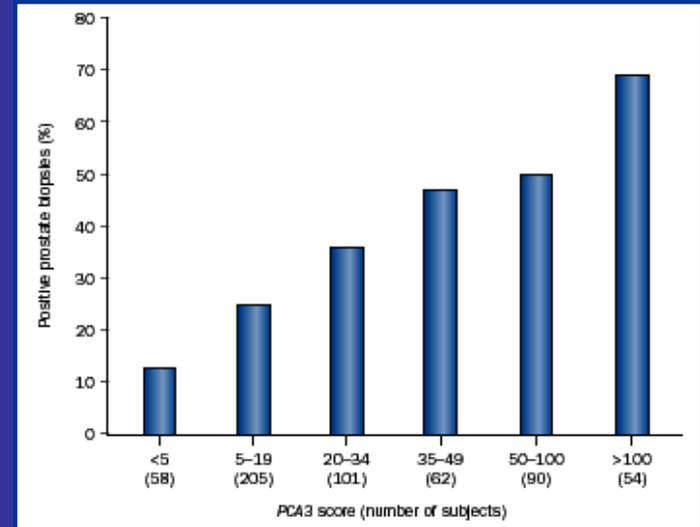
570 American men scheduled for initial or repeat biopsy;  
206 men (36%) had a positive biopsy



# PCA3 nella diagnosi

In uomini con PSA persistentemente elevato e una precedente biopsia negativa, il PCA3 predice la presenza di cancro

All'aumentare del PCA3 aumenta la possibilità di riscontrare una biopsia positiva



**Table 2: Operating Characteristics of PCA3 vs. PSA in 225 Men Undergoing Prostate Re-Biopsy**

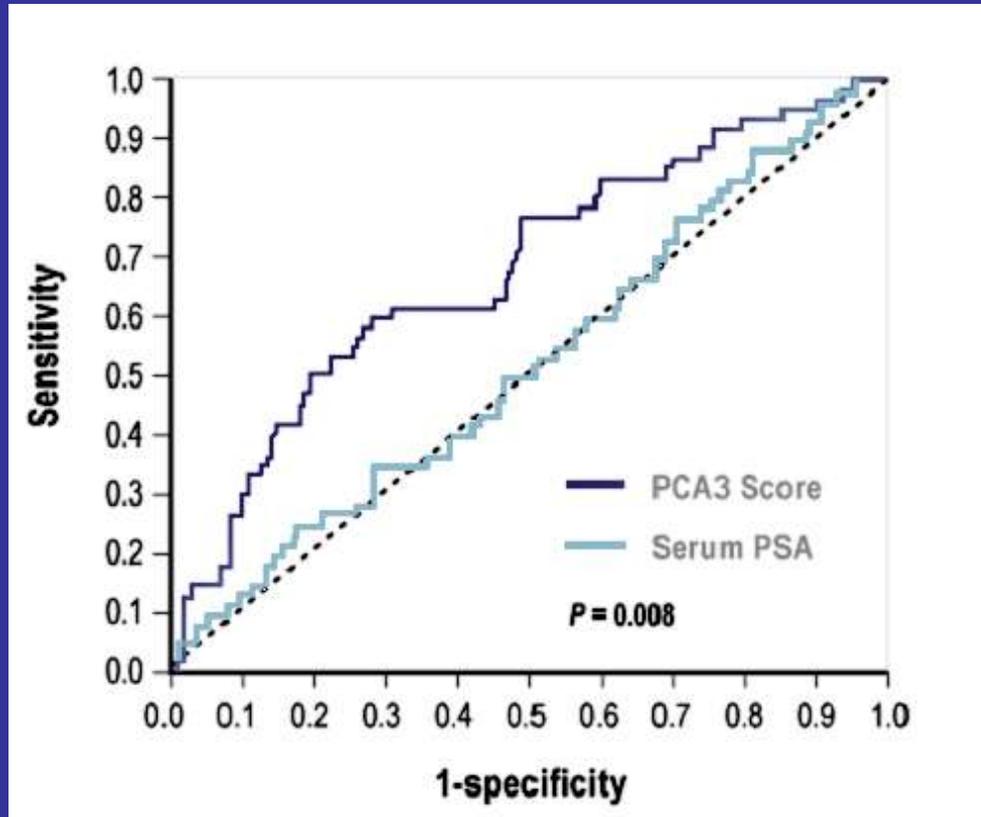
PCA3/PSA mRNA ratio vs. Serum PSA: Previous negative biopsy group

	PCA3 Assay	Serum PSA
Cutoff	PCA3/PSA = $35 \times 10^3$	4.0 ng/mL
Sensitivity	58%	83%
Specificity	74%	17%
*ROC AUC	0.680	0.506
Odds ratio	3.6	1.2

\*P = 0.002

Il valore del PCA3 ha un'accuratezza diagnostica più elevata del PSA e della percentuale di fPSA nel prevedere il risultato della ripetizione di biopsia della prostata, anche ad una sensibilità dell'80-90%

# PCA3 e il cut-off di 35



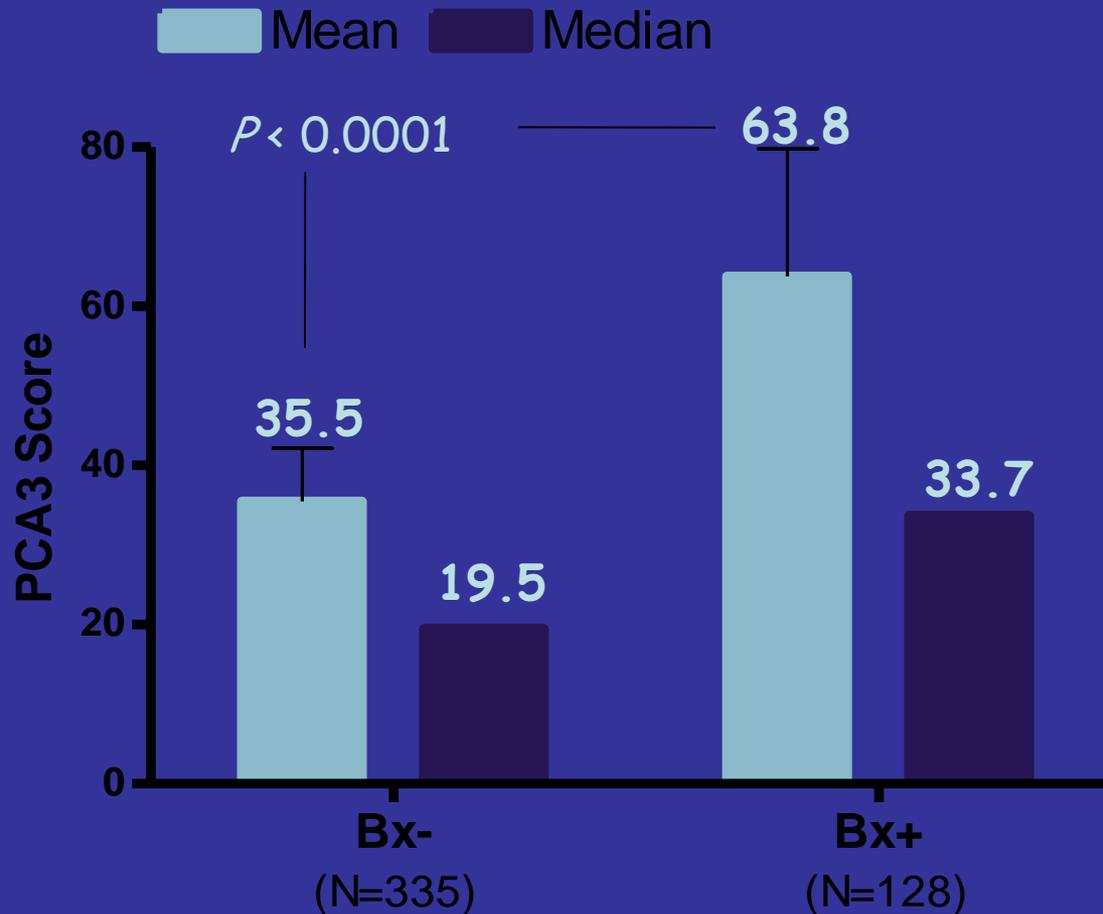
AUC ROC  
Serum PSA: 0.524  
PCA3 Score: 0.678

PCA3 Score 10  
Specificity: 28%  
Sensitivity: 87%  
Odds ratio: 2.5

PCA3 Score 35:  
Specificity: 72%  
Sensitivity: 58%  
Odds ratio: 3.6

PCA3 Score 50:  
Specificity: 81%  
Sensitivity: 47%  
Odds ratio: 3.7

# The higher the PCA3 Score, the greater the probability of a positive repeat biopsy



# Avoiding biopsies vs. missing significant PCa: choice of PCA3 Score cut-off

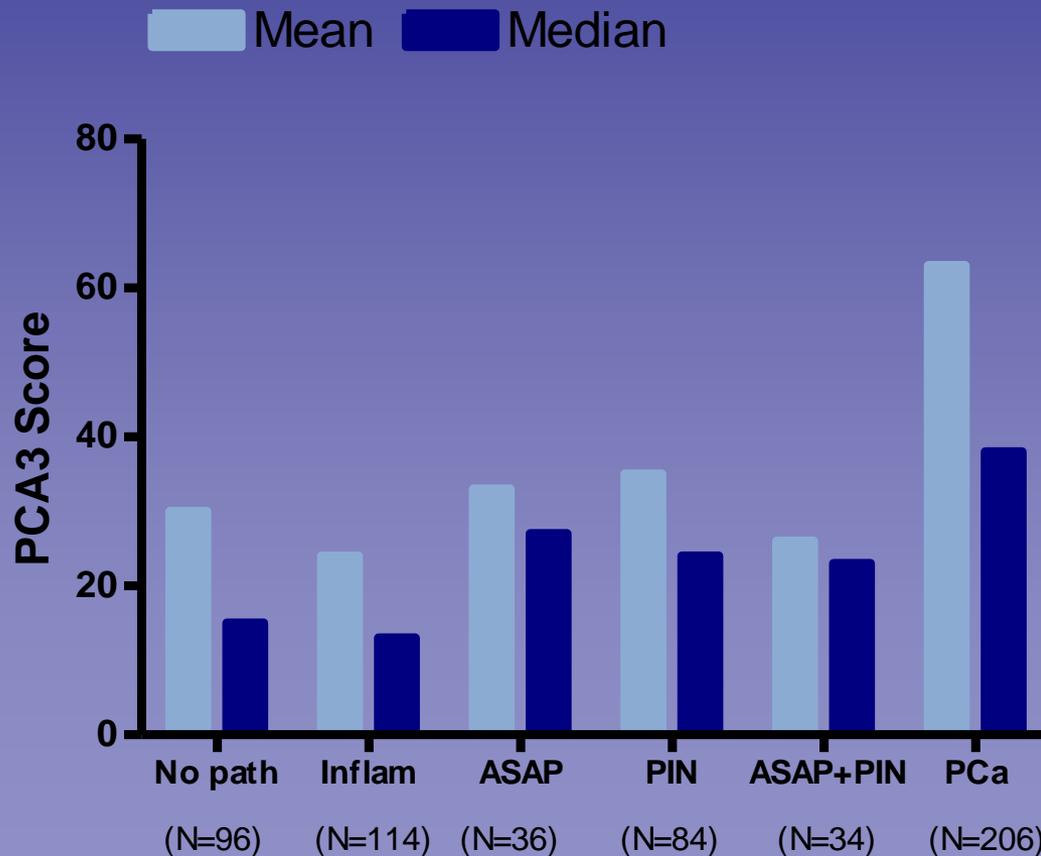
- In clinical practice urologists want to avoid unnecessary biopsies while minimising the risk of missing significant PCa
- Lowering the PCA3 cut-off reduces the risk of missing significant PCa, but increases the risk of unnecessary biopsies

	% avoided repeat biopsies	% missed significant PCa*
PCA3 cut-off 35	67%	21%
PCA3 cut-off 20	44%	9%

\* Gleason score biopsy  $\geq 7$

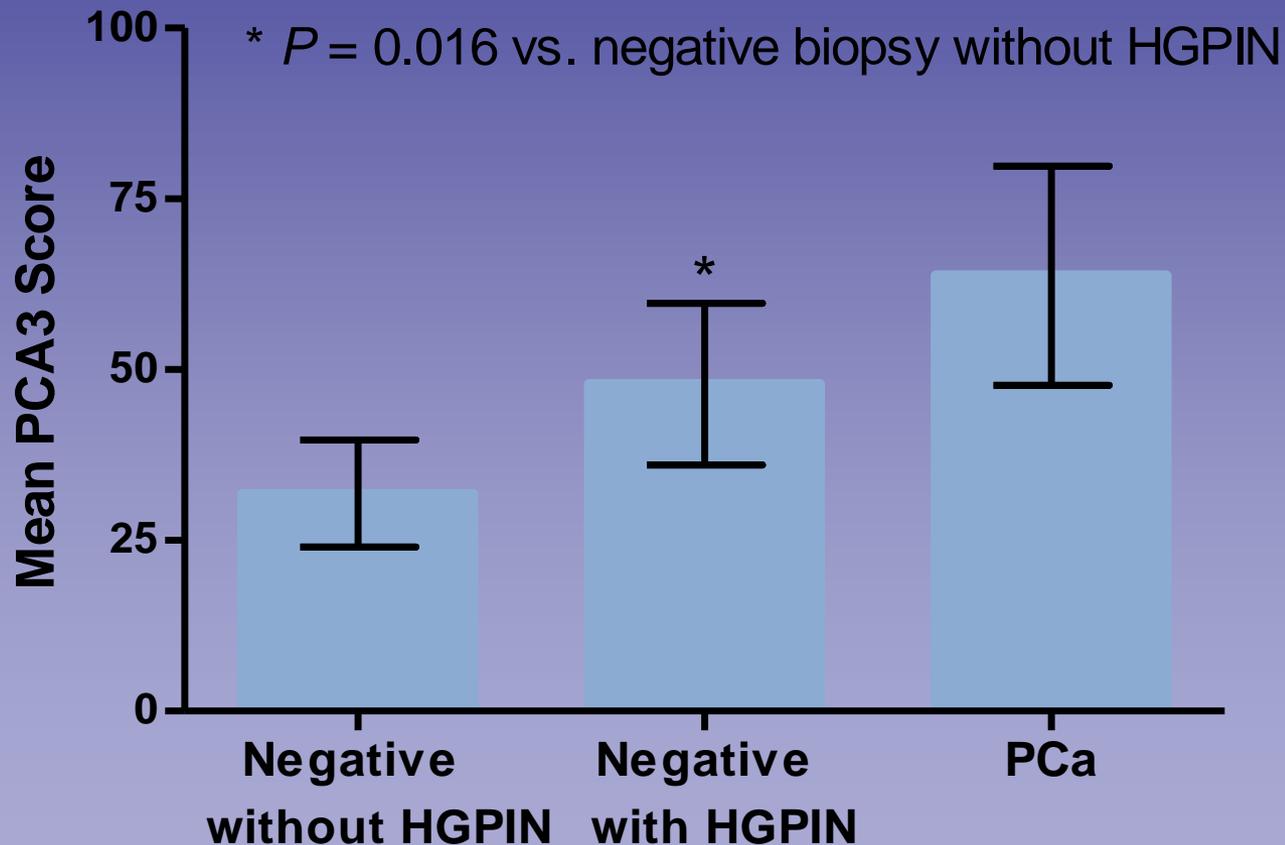
# The PCA3 Score in normal tissue inflammation, suspicious tissue and in PCa

570 American men scheduled for (initial or repeat) biopsy



# The PCA3 Score in normal vs. suspicious vs. malignant tissue

463 European men scheduled for repeat biopsy

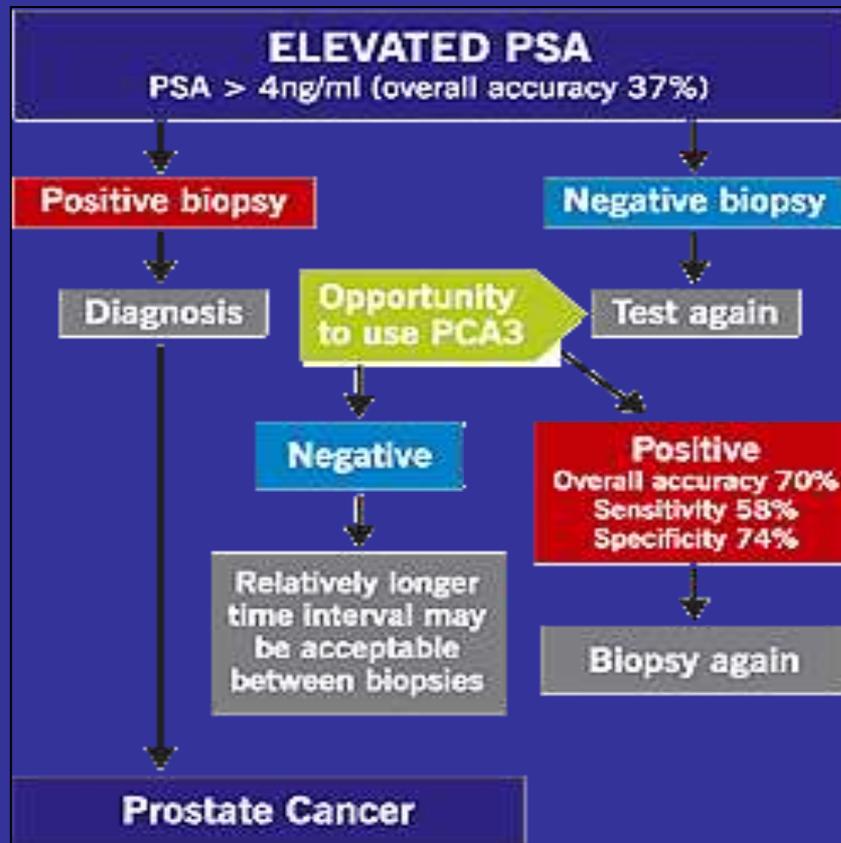


# The PCA3 Score combined with other risk factors to improve predictive accuracy (2)

	Uni-variable analysis			Multi-variable analysis			
	OR	P value	PA (%)	Base model		Base model + PCA3	
	OR	P value	PA (%)	OR	P value	OR	P value
Age	1.051	0.004	0.578	1.042	0.035	1.024	0.243
Serum total PSA	1.063	0.001	0.600	1.07	0.003	1.064	0.007
%free PSA	0.974	0.063	0.578	0.992	0.637	0.988	0.477
DRE	2.610	< 0.001	0.577	2.473	0.001	2.263	0.006
Prostate volume	0.990	0.024	0.563	0.982	0.002	0.985	0.015
PCA3 Score		< 0.001	0.663				0.006
PA (%)				66.8		71.0	
Increment in PA						+4.2	

# PCA3 nella diagnosi

Il Test PCA3 non si sostituisce al PSA ma può essere un valido strumento per aiutare a stratificare i pazienti a rischio



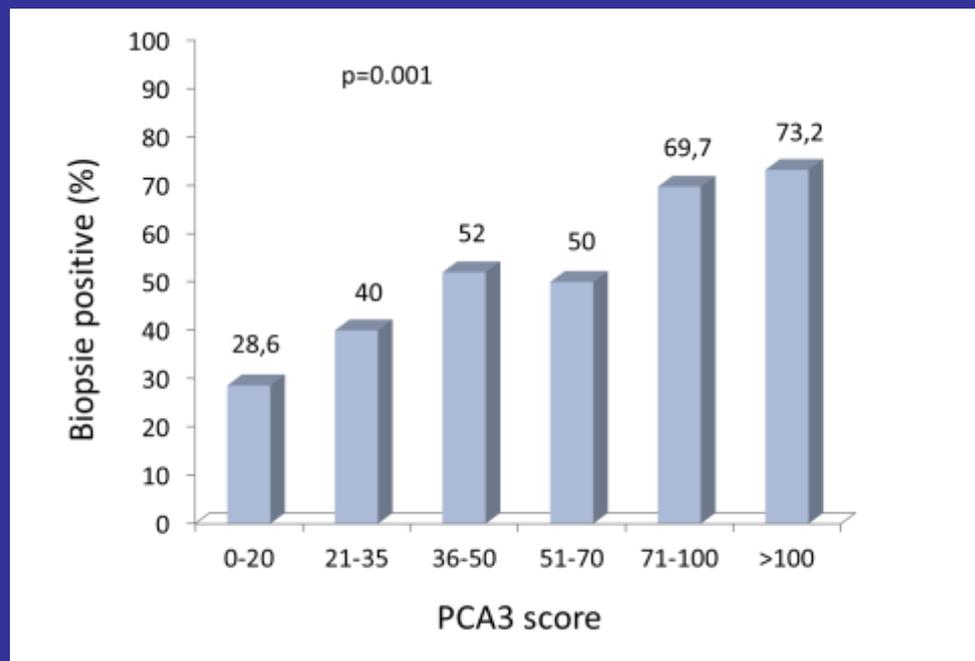
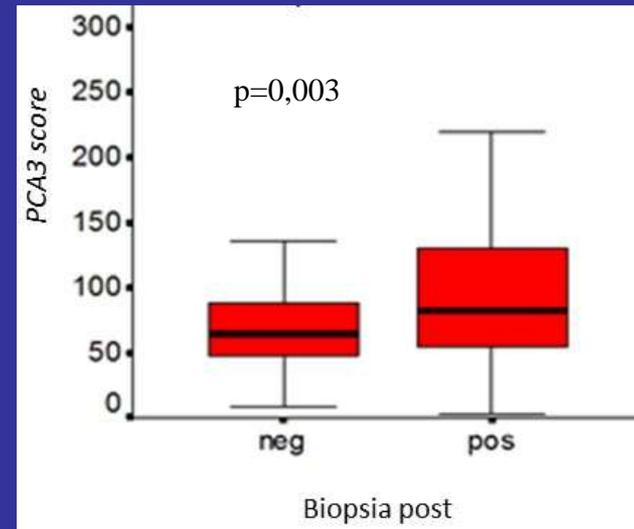
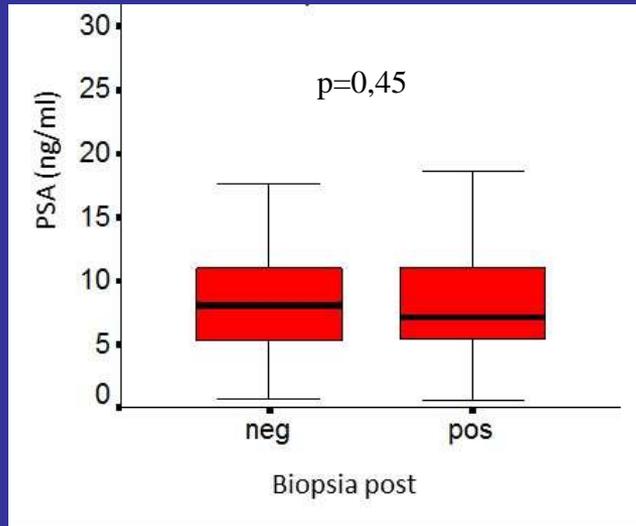
# Casistica IRE

Popolazione studiata (n=1.500)		
	Mediana (intervallo)	Media±DS
Età (anni)	65 (41-89)	65±7,8
tPSA (ng/ml)	7,1 (1,06-97,3)	8,8±7,5
PCA3 score	29 (1-563)	46±50,4

←  
Sorveglianza  
attiva

→  
Biopsia  
(169)

# PSA E PCA3



# VALORE PREDITTIVO E ACCURATEZZA

	Cut-off = 20	Cut-off = 35	Cut-off = 70	Cut-off = 80
Sensibilità = $VP/(VP+FN)$	98,0	95,1	62,7	52,9
Specificità = $VN/(VN+FP)$	7,5	13,4	62,7	71,6
Accuratezza = $(VP+VN)/(VP+FP+FN+VN)$	62,1	62,7	62,7	60,4
Valore Predittivo Positivo = $VP/(VP+FP)$	61,7	62,6	71,9	74,0
Valore Predittivo Negativo = $VN/(VN+FN)$	71,4	64,3	52,5	50,0

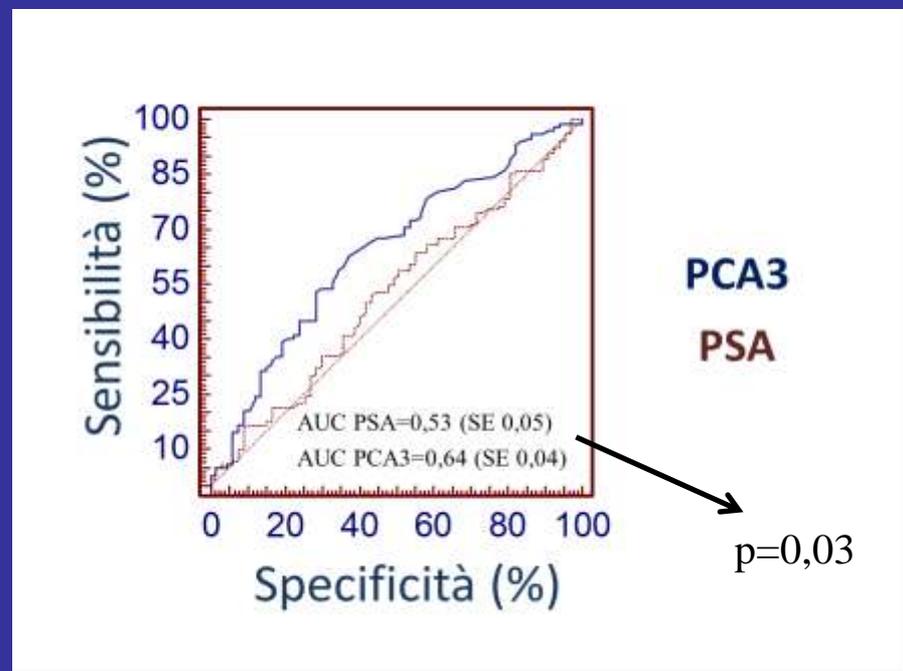
$p < 0,0001$

VP = veri positivi      VN = veri negativi

FP = falsi positivi      FN = falsi negativi

AUC = area sotto la curva

SE = errore standard



## RELAZIONE *PCA3 score* / *GLEASON score*

<b>Gleason score</b>	<b>PCA3 &lt; 70</b>	<b>PCA3 &gt; 70</b>
G ≤ 6	12 (38,7%)	19 (61,3%)
G7 (3+4)	12 (34,3%)	23 (65,7%)
G7 (4+3)	4 (20,0%)	16 (80,0%)
G >7	2 (28,6%)	5 (71,4%)

**p=0,23**

# CONCLUSIONI PCA3

- La determinazione del livello urinario del PCA3 sembra essere in grado di selezionare la popolazione di individui a rischio di sviluppare l'adenocarcinoma della prostata
- Un aumento del valore del parametro PCA3 corrisponde un'aumentata probabilità di reperire una agobiopsia ripetuta positiva e il *PCA3 score* risulta avere una maggiore accuratezza diagnostica rispetto a quella del PSA totale
- L'aumento del numero di soggetti che presentano bassi valori del parametro PCA3 score ripetutamente sottoposti all'agobiopsia permetterà di determinare più efficacemente quale sia il *cut-off* ottimale che consenta di migliorare l'accuratezza del test, nonché di approfondire la relazione fra *PCA3 score* e *Gleason score*

# Conclusioni

Questi studi necessitano comunque di conferme su casistiche più ampie.

In conclusione, p2PSA e gli indici derivati %p2PSA e il phi sembrano rispondere alla necessità di marcatori più accurati e specifici, con elevato valore predittivo per l'individuazione precoce di pazienti affetti o a rischio di sviluppare un carcinoma prostatico clinicamente significativo e/o aggressivo.

Il trasferimento di queste conoscenze nella pratica clinica quotidiana potrebbe consentire di ridurre considerevolmente il numero delle biopsie prostatiche inutili, dei trattamenti non necessari e la frequenza dei controlli, con indubbi vantaggi in termini fisici, psicologici ed economici.