



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA "LA SAPIENZA"

DOTTORATO DI RICERCA IN CHIRURGIA

*XXVI Ciclo*

**Tesi di Dottorato**

***"PCA3: NUOVO TEST DI SCREENING NELLA DIAGNOSI  
PRECOCE DEL CANCRO DELLA PROSTATA"***

Tutor:  
Prof. Antonio Bolognese

Dottorando:  
Dott.ssa Daniela Giacobbi

A.A. 2013-2014

# INDICE

INTRODUZIONE	Pag. 3 - 14
1.1 Il cancro della prostata: cenni di epidemiologia, diagnosi, prognosi e terapia	3 - 9
1.2 PCA3 test: significato, metodica e studi clinici	10 - 14
SCOPO DELLA RICERCA	15 - 17
MATERIALI E METODO	18 - 19
RISULTATI	20 - 22
DISCUSSIONE	23 - 24
CONCLUSIONI	25 - 26
ICONOGRAFIA	27 - 40
BIBLIOGRAFIA	41 - 46

## **INTRODUZIONE**

### **1.1 Il cancro della prostata: cenni di epidemiologia, diagnosi, prognosi e terapia.**

Il cancro della prostata è divenuto nell'ultimo decennio il tumore più frequente nella popolazione maschile dei Paesi occidentali (Tab. 1): negli U.S.A. rappresenta quasi il 30% di tutti i tumori di nuova diagnosi nel sesso maschile, mentre in Italia si stima siano presenti circa 217.000 casi prevalenti (persone con pregressa diagnosi di carcinoma prostatico), pari a circa il 20% di tutti gli uomini affetti da tumore ed all'11% di tutti i pazienti oncologici (Fig. 1). E' la neoplasia che ha registrato negli ultimi decenni il maggior incremento assoluto nel sesso maschile (dal 3% dei primi anni '90 all'attuale 10%) (Tab. 2), da attribuire, soprattutto, all'effetto dello screening, che ha determinato la maggiore probabilità di diagnosticare tale patologia, altrimenti presente in forma latente nel 15-30% degli uomini con più di 50 anni ed in circa il 70-80% degli ultraottantenni (1-8).

La forma latente della malattia presenta un'incidenza fino a cento volte superiore rispetto a quella clinica e si ritiene che la gran parte dei tumori allo stato latente abbia un comportamento biologicamente poco aggressivo e che solo una ristretta porzione possa progredire a tumore clinicamente invasivo, dovendo trascorrere dai 10 ai 15 anni prima che la neoplasia si manifesti. Purtroppo le neoplasie dotate di comportamento aggressivo non sempre sono distinguibili, dal punto di vista morfologico e/o biologico, da quelle che possono permanere allo stato latente, per l'inadeguatezza dei mezzi di indagine a nostra disposizione impiegabili a tale scopo. L'incidenza del carcinoma prostatico ha mostrato negli ultimi anni una sostanziale stabilità, dopo la fase di notevole crescita iniziata nei primi anni '90, in concomitanza della maggiore diffusione del test del PSA, quale strumento per la diagnosi precoce di tale neoplasia (negli ultimi 25 anni il numero di casi diagnosticati è aumentato del 30% e si prevede che raddoppi nei prossimi 30 anni).

In Italia nel 2013 sono stati registrati circa 36.000 nuovi casi di cancro prostatico, il 20% dei quali già allo stadio metastatico, con circa 9000 decessi (35.000 morti/anno nella sola Comunità Europea). In considerazione della diversa aggressività delle differenti forme tumorali, il carcinoma prostatico, pur essendo al primo posto per incidenza, occupa il terzo posto per mortalità oncologica (prima causa di morte per tumori dell'apparato urogenitale), che nella quasi totalità dei casi riguarda uomini al di sopra dei 70 anni (Tab. 3). Si tratta, comunque, di una causa di morte in costante moderata diminuzione (-1,8% per anno) da oltre un ventennio, con livelli assestati sui 17-20 decessi ogni 100.000 abitanti/anno (Fig. 2) (9). La sopravvivenza dei pazienti con carcinoma prostatico è attualmente attestata al 91% a 5 anni dalla diagnosi, in costante e sensibile crescita (Tab. 4) (10). Il principale fattore correlato a questa tendenza temporale è rappresentato dall'anticipazione diagnostica e dalla progressiva diffusione dello screening "spontaneo", comportante, evidentemente, una quota di sovra-diagnosi (11). Data la biologia della malattia, tale neoplasia è tipica dell'età avanzata (5.900 casi ogni 100.000 ultrasessantacinquenni), ma calcoli statistici proiettivi stimano che un uomo su quattro dopo i 50 anni ne sia già portatore. E', infatti, eccezionale la comparsa del carcinoma prostatico prima dei 50 anni, mentre diventa frequente al di sopra dei 65 anni. L'incidenza aumenta con l'età a partire dai 45 anni e, anche se circa il 75% dei nuovi casi viene diagnosticato in uomini di età superiore ai 65 anni, l'età di insorgenza alla diagnosi è sempre più bassa: dal '90, infatti, l'incidenza è aumentata significativamente tra gli uomini nella fascia di età compresa tra i 50 ed i 59 anni, aumento attribuibile sempre all'effetto dello screening (Tab. 5-6). I fattori eziologici che determinano o contribuiscono a determinare l'insorgenza del cancro della prostata sono ancora in gran parte sconosciuti e, pertanto, non vi sono, attualmente, possibilità di prevenzione primaria, anche se alcuni studi hanno dimostrato la fattibilità di una chemio-prevenzione (12-13). Risulta, quindi, fondamentale la prevenzione secondaria, che ha per obiettivo la diagnosi precoce della malattia allo stadio pre-clinico, mediante lo screening della popolazione sana. La diagnosi precoce ha un'importante influenza sulla storia

naturale della malattia e sulla mortalità ad essa correlata. Inoltre, anche se con le moderne terapie è possibile prolungare la sopravvivenza dei pazienti con cancro della prostata in stadio avanzato, non esistono, a tutt'oggi, trattamenti che consentano di guarire tali stadi della malattia. La possibilità, quindi, più concreta di ridurre la mortalità da cancro della prostata è rappresentata dalla diagnosi precoce, ovvero dal riconoscimento della malattia in una fase in cui risulta ancora localizzata alla ghiandola prostatica e per cui esistono ancora trattamenti efficaci. La prevenzione secondaria di una malattia attraverso lo screening risulta, però, vantaggiosa solo nel caso in cui vengano soddisfatti alcuni requisiti: la storia naturale della malattia deve essere nota (malattia a lenta progressione); devono esistere cure in grado di migliorare la prognosi dei casi diagnosticati (ottime possibilità di cura se la diagnosi è precoce); le terapie devono possedere scarsi effetti collaterali; devono esistere metodiche diagnostiche facilmente accessibili, rapide, poco costose, ben accettate dai pazienti e dotate di sufficiente sensibilità e specificità; la convenienza dello screening in termini di rapporto costo/beneficio deve essere dimostrata. Nel caso del carcinoma prostatico tali requisiti sono solo in parte soddisfatti: il punto cruciale è rappresentato dall'esistenza di forme di cancro prostatico che, lasciate a sé, non arreherebbero alcun danno alla persona, sia in termini di morbidità che di mortalità. Nell'ultimo ventennio la diffusione dell'uso del PSA come test di screening nella diagnosi precoce del cancro della prostata ha, infatti, profondamente modificato l'epidemiologia di questo tumore, anche in termini qualitativi, con l'emergere, sempre più frequentemente, di forme clinicamente silenti e biologicamente non aggressive (cancro della prostata indolenti: di basso grado ed a lenta crescita). Per la sua lunga storia naturale e la sopravvivenza media, in assenza di trattamento, anche di 15-20 anni, molti pazienti moriranno con il cancro piuttosto che per il cancro, a discapito di un enorme dispiego di risorse economiche per screening e cure (14).

I risultati dell'ERSPC (European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer), il più importante studio randomizzato multicentrico sull'efficacia dello screening per cancro della prostata mediante dosaggio sierico del PSA, pubblicati nel

2009 sul New England Journal of Medicine (15-16), mettono in evidenza come, a fronte di una riduzione del 20% della mortalità da cancro della prostata per un follow-up medio di 9 anni [Rate Ratio (RR)=0,80, IC 95%, 0,67-0,95], con una riduzione del 31% del rischio di sviluppare una malattia metastatica ed un ritardo medio di 7 anni nella comparsa di metastasi, si registri una scarsa specificità del PSA per il cancro della prostata, con il 76% di falsi positivi (in presenza di un PSA “patologico” in più dei 2/3 dei casi la biopsia non ha rilevato un tumore), il 75% di biopsie prostatiche effettuate inutilmente e fino al 50% di “overdiagnosis” e “overtreatment” (eccesso diagnostico e terapeutico, ovvero diagnosi e trattamento attivo di tumori scarsamente aggressivi, tanto da non minacciare la vita del paziente anche se non trattati). E’ stato, inoltre, stimato che per prevenire un decesso da cancro della prostata sarebbe necessario sottoporre a screening 1.410 soggetti e sottoporre a trattamento 48 pazienti (15) (Tab. 7-8).

L'utilità clinica del PSA come marker nella diagnosi precoce del cancro prostatico si é affermata nei primi anni 1990 (16-17): Catalona et al. hanno mostrato che il PSA sierico con un cut-off di 4,0 ng/ml era utile per lo screening del cancro prostatico (16). Sei anni più tardi, lo stesso gruppo ha suggerito un PSA cut-off di 2,5 ng/ml, ampiamente accettato dopo aver dimostrato un tasso di rilevamento di cancro prostatico nel range di PSA 2,5-4,0 ng/ml del 22% (18).

I dati del Trial per la prevenzione del cancro della prostata (PCPT) hanno dimostrato che non vi è alcun cut-off di PSA al quale sensibilità e specificità siano ragionevolmente abbinati, ma piuttosto un continuum di rischio di cancro della prostata a tutti i valori di PSA (un cancro aggressivo può essere presente anche a valori molto bassi di PSA). Se si considera un Gleason score > 7 alla biopsia come parametro di aggressività, i valori di cut-off di 4 e 2 ng/ml potrebbero mancare il 59.6% ed il 24.4%, rispettivamente, di queste lesioni (19-20) (Tab. 9-10).

Lo screening mediante PSA può identificare tumori della prostata allo stadio iniziale anche anni prima che siano apprezzabili all’esplorazione digito-rettale o che si associno a sintomi, tuttavia, data la scarsa specificità del dosaggio del PSA,

nonostante la quale continua ad essere comunemente utilizzato come principale indicazione alla biopsia prostatica, valori elevati di tale marcatore possono essere ascrivibili a condizioni benigne e diverse dalla neoplasia (BPH, prostatiti...), così come può anche verificarsi, se pur in una percentuale minore dei casi, che pazienti affetti da carcinoma prostatico non presentino valori di PSA elevati (circa il 20-30% dei tumori della prostata non sono associati ad elevati livelli di PSA; il 10% degli uomini non affetti da tale patologia ha presentato un aumento del PSA, così come più dei 2/3 di quelli con iperplasia prostatica benigna). Inoltre, le lesioni precancerose (HG-PIN - High-Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia - e ASAP - Atypical Small Acinar Proliferation -), di notevole importanza clinica dato l'alto valore predittivo per adenocarcinoma prostatico, non si associano ad un innalzamento dei livelli sierici di PSA ed il solo metodo di rilevamento è rappresentato dalla biopsia (rischio del 25-79% di successiva diagnosi di cancro della prostata: in caso di prima biopsia negativa la percentuale di diagnosi di cancro della prostata alla re-biopsia è del 10-20% in presenza di HG-PIN (21) e del 21- 51% in caso di ASAP (22)).

L'efficacia di uno screening per malattia tumorale deve essere valutata principalmente in termini di riduzione della mortalità, ma la determinazione del rapporto costo/beneficio deve prendere in considerazione anche altri parametri, quali la qualità di vita, sia dei soggetti sottoposti alle indagini preventive che di quelli curati per la malattia, ed il costo economico dello screening, in sé e rispetto ai trattamenti, principalmente chirurgia e radioterapia, con le relative complicanze, richiesti per curare la malattia, soprattutto nei casi di tumore biologicamente poco aggressivo (15,23). Infatti, data la natura indolente ed il lento accrescimento nel corso della vita del paziente di molti tumori prostatici, una terapia specifica non sempre è indicata, di conseguenza esiste il pericolo di sovra-trattamento (10-30% dei cancri della prostata è sovra-stimato preoperatoriamente) e di esposizione al rischio degli effetti collaterali delle terapie stesse. I fattori prognostici legati alla neoplasia (stadio clinico, Gleason score, volume tumorale...), la comorbidità (ASA Index e Charlson Comorbidity Index) e l'aspettativa di vita (QUALYs: quality-of-life adjusted gain in

life years) rappresentano fattori fondamentali nella scelta del miglior trattamento per il carcinoma prostatico. Nei pazienti con tumore della prostata localizzato esistono diverse opzioni terapeutiche (24): sorveglianza attiva, chirurgia o radioterapia. La sorveglianza attiva comporta il semplice monitoraggio del decorso della malattia, con la possibilità di intervenire in caso di progressione tumorale. Si tratta di un approccio che può essere proposto a pazienti che hanno una malattia a basso rischio ed una aspettativa di vita breve (Epstein Criteria for Very Low Risk Disease) (25,26-30) (Tab. 11). Con 8 milioni di dollari, il cancro della prostata rappresenta l'11% dei costi per il trattamento di tutti i tipi di tumore negli Stati Uniti con una spesa per paziente affetto da cancro della prostata, dalla diagnosi alla morte, pari a \$81.658 (31-32). La scelta del trattamento iniziale del cancro della prostata localizzato impatta notevolmente sulla spesa economica a breve e lungo termine (33). In Italia, sulla base di stime dei costi dei trattamenti riprese dal NICE (National Institute for Health and Care Excellence), ente inglese che detta linee guida in Gran Bretagna, e considerati validi anche nel contesto italiano, è stata calcolata, senza prendere in considerazione i costi dell'incontinenza urinaria e della disfunzione erettile tra le complicanze dei trattamenti, una spesa di 1.550.300 euro per vita salvata, pari a 77.515 euro per anno di vita salvato (ipotizzando il caso di un uomo di 55 anni che si sottoponga al test del PSA e che grazie ad esso non muoia per tumore della prostata, vivendo in media 75 anni); considerando che un intervento di screening è considerato costo-efficace se ha un costo massimo di 50.000 euro per anno di vita salvato, lo screening basato sul PSA non risulta costo efficace (Fig. 3). Uno dei modi per valutare se si sta facendo un buon uso delle risorse economiche (good value for money) è quello di rapportare i benefici clinici agli aspetti economici. Gli economisti chiamano questo tipo di analisi "valutazione economica", che esprime il rapporto fra le differenze dei costi e le differenze dell'efficacia di un nuovo intervento rispetto a quello standard. I due studi economici esistenti sullo screening con PSA sono concordi nel definire questo intervento non costo efficace, cosa che, in sintesi, significa che sull'intera popolazione i costi legati al processo che si avvia una volta eseguito il PSA di

screening (dovuti a biopsie, trattamenti ed eventuali complicanze) superano i benefici, quantificati economicamente (34-35).

Allo stato attuale delle conoscenze non vi sono, pertanto, indicazioni tali da raccomandare uno screening di massa per la diagnosi precoce del cancro della prostata, che, sebbene possa ridurre la mortalità cancro-associata, utilizzando gli strumenti al momento disponibili, principalmente il test del PSA, comporta un rischio di effetti collaterali indesiderati, quali la sovra-diagnosi ed il conseguente sovra-trattamento, considerevolmente alto (25, 36-38) (Tab. 12).

Si è, pertanto, più propensi verso una strategia di screening opportunistico, basata sulla valutazione del rischio individuale di sviluppare il cancro della prostata, per applicare la quale, però, bisognerebbe prima identificare i fattori di rischio predittivi della presenza di cancro prostatico. Vi è, pertanto, la necessità di uno sviluppo della ricerca per identificare biomarkers più specifici per il cancro della prostata, sia dal punto di vista diagnostico che, soprattutto, prognostico, che contribuiscano a realizzare un “algoritmo ottimale” di screening, che mantenendo la capacità di ridurre la mortalità cancro-specifica, non comportino sovra-diagnosi e sovra-trattamento ed abbiano il miglior rapporto costo/beneficio.

Molti markers PSA-derivati [PSA density, PSA density of the transition zone, PSA Velocity, PSA age-specific reference ranges, PSA doubling time, Pro-PSA (precursor isoforms of PSA) ed altre PSA-isoforme (c-isoforms: complex PSA)...] sono stati studiati per migliorare la specificità del PSA nella rilevazione del cancro della prostata (38-40), specialmente nel range 4-10 ng/ml [il PSA ratio (=PSA libero/totale) è ampiamente usato nella pratica clinica per differenziare il cancro della prostata dall'ipertrofia prostatica benigna negli uomini con livelli di PSA nella “zona grigia”, ma questo non ha dimostrato sufficiente specificità per ridurre il numero di biopsie inutili], ma nessuno di essi può, attualmente, essere preso in considerazione per un uso di routine nella pratica clinica.

In quest'ottica il PCA3 test ha mostrato recentemente promettenti risultati nella diagnosi e nella prognosi del cancro della prostata.

## **1.2 PCA3 test: significato, metodica e studi clinici.**

Il PCA3 test è il primo test genetico, effettuato sulle urine, specifico per il tumore della prostata. Il test è basato su un marker molecolare, il PCA3 (Prostate Cancer Antigene 3), identificato per la prima volta come DD3 (Differenzial Display code 3), utilizzando un metodo di analisi differenziale per comparare i livelli di espressione dell'mRNA tra tessuti benigni e maligni, nel 1999 da Bussmaker e dai suoi collaboratori, grazie allo sforzo congiunto dei ricercatori della Radboud University di Nijmegen nei Paesi Bassi e del Johns Hopkins University negli Stati Uniti. Il PCA3 è un mRNA non codificante, presente sul cromosoma 9 e sovra-espresso nelle cellule del cancro prostatico (60-100 volte più espresso in oltre il 95% delle cellule tumorali prostatiche, con un livello mediano di 66 volte superiore alla norma rispetto alle cellule della prostata sana o affetta da patologia benigna) (41-44) (Fig. 4-5).

L'espressione del gene del PSA è, invece, simile nelle cellule cancerose e in quelle benigne e, pertanto, i livelli di PSA-mRNA possono essere utilizzati per standardizzare la quantità di mRNA specifico della prostata nei campioni per analisi molecolari. L'attuabilità di analisi molecolari quantitative basate sul PCA3 è stata dimostrata utilizzando sia sedimenti di urina (42) che urina intera (45).

Da quando è stato introdotto, sono state sviluppate tre generazioni di PCA3 test, di cui l'ultima, disponibile in commercio, con il nome di ProgenSA PCA3 (46), della Gen Probe Inc. (San Diego, CA, USA), da quando nel novembre 2006 ha ricevuto l'approvazione CE (Conformité Européenne), è quella attualmente utilizzata in quanto presenta, rispetto alle precedenti versioni, la maggior informativa rate (94-100%). Il ProgenSA PCA3 test viene effettuato, utilizzando un apposito kit, sulle urine intere (20-30 ml del primo getto di urina; almeno 2-3 ml sono richiesti per eseguire il test) raccolte dopo esplorazione digito-rettale, eseguita secondo il metodo descritto da Groskopf nel 2006 (3 "spremiture" per ciascun lobo, andando dalla base all'apice e dalla superficie laterale verso la linea mediana della prostata ed esercitando una pressione tale da determinare una depressione di circa 1 cm del parenchima

prostatico) (45). Il contenitore in cui sono state raccolte le urine, privo di qualunque conservante, viene chiuso e capovolto 5-10 volte per mettere le cellule in sospensione. Nella provetta di trasporto viene trasferito, mediante una pipetta monouso, un campione di 2.5 ml dell'urina raccolta. Il giusto volume di urina sarà stato aggiunto quando il livello del liquido si troverà fra le righe di riempimento nere stampate sull'etichetta della provetta di trasporto. La provetta di trasporto, dopo esser stata ben richiusa, va capovolta 5-10 volte per miscelare bene il contenuto. Il tubo di trasferimento va inserito nell'apposito spazio del contenitore allegato al kit. Il contenitore prevede due spazi, ma uno solo è utilizzato, nel caso si tratti di un solo paziente. Nella provetta di trasporto, il campione d'urina è stabile a temperatura ambiente (massimo 30°C) e deve arrivare al laboratorio entro 5 giorni dalla raccolta. Se l'urina deve essere conservata prima del trasferimento nella provetta di trasporto, bisogna conservare l'urina non trattata ad una temperatura compresa tra 2 e 8°C. Il trasferimento dell'urina non trattata nella provetta di trasporto deve avvenire entro 4 ore dalla raccolta. I campioni di urina non trattati non vanno congelati. La provetta di trasporto va etichettata con cognome e nome del paziente e messa nell'astuccio di protezione; il tutto va poi inviato al laboratorio Gene Predictis® via corriere (Fig. 6). Il PCA3 test misura la concentrazione di PCA3-mRNA e PSA-mRNA e dà come risultato un punteggio definito PCA3 score, che viene calcolato utilizzando la formula:  $[(\text{PCA3mRNA})/(\text{PSAmRNA}) \times 1000]$  (i livelli di PSA-mRNA, misura indiretta del materiale nucleare delle cellule epiteliali prostatiche presenti nel campione urinario, sono usati per standardizzare il segnale del PCA3, ovvero normalizzare i livelli di PCA3-mRNA alla quantità totale di RNA prostatico presente nel campione, garantendo che la resa di RNA sia sufficiente per l'analisi, generando un risultato valido). Il ProgenSA PCA3 test è composto da due prove quantitative di amplificazione degli acidi nucleici. L'urina viene trattata mediante l'aggiunta del mezzo di trasporto dell'urina (UTM), che provoca la lisi delle cellule e stabilizza l'RNA. Il dosaggio degli acidi nucleici combina le tecnologie del target capture, dell'amplificazione mediata dalla trascrizione (TMA) e del dosaggio con protezione

dell'ibridizzazione (HPA) per, rispettivamente, sveltire l'analisi dei campioni di urina, amplificare l'mRNA target e rilevare l'amplicon. In laboratorio, le molecole di mRNA target vengono isolate dai campioni di urina mediante target capture. Gli oligonucleotidi ("oligonucleotidi di cattura"), che sono complementari alle regioni specifiche della sequenza dei target, vengono ibridizzati ai target presenti nel campione di urina. Per ciascun target viene usato un oligonucleotide di cattura separato. Il target ibridizzato viene, quindi, catturato su microparticelle magnetiche che vengono separate dal campione di urina in un campo magnetico. Processi di lavaggio vengono utilizzati per rimuovere i componenti estranei dal tubo di reazione. I procedimenti di separazione magnetica e lavaggio vengono eseguiti con un sistema di target capture. L'amplificazione del target si verifica mediante TMA, che è un metodo di amplificazione degli acidi nucleici basato su trascrizione che utilizza due enzimi, la trascrittasi inversa del virus della leucemia murina di Moloney (MMLV) e la polimerasi dell'RNA T7. Per ciascun target viene usata una serie univoca di primer. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia di DNA della sequenza target, contenente una sequenza promotrice per la polimerasi dell'RNA T7. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple di amplicon di RNA dal modello della copia di DNA. Il rilevamento viene ottenuto mediante HPA, usando sonde di acido nucleico con filamento unico e marcatura chemiluminescente, che sono complementari all'amplicon. Per ciascun amplicon di target vengono usate sonde separate. Le sonde di acido nucleico marcate si ibridizzano specificamente con l'amplicon. Il reagente selection si differenzia fra sonde ibridizzate e non ibridizzate, inattivando la marcatura sulle sonde non ibridizzate. Durante il processo di rilevamento, il segnale chemiluminescente prodotto dalla sonda ibridizzata viene misurato in un luminometro e viene refertato come unità relativa di luce (Relative Light Unit o RLU). Gli mRNA di PCA3 e PSA vengono quantificati in tubi di reazione separati e viene determinato il PCA3 Score. I calibratori contenenti quantità note di trascrizione di RNA di PCA3 o PSA vengono inclusi in ogni seduta di dosaggio e usati per generare una curva standard. I controlli di PCA3 e PSA vengono

anch'essi inclusi per verificare l'accuratezza dei risultati interpolati in base alla curva standard.

Il PCA3 è un marcatore tumorale specifico per il cancro della prostata, a differenza del PSA che è solo un marcatore organo-specifico. I dati della letteratura hanno evidenziato che il PCA3 score non è influenzato né dal volume prostatico né dal PSA e correla con la probabilità di biopsia positiva [un PCA3 test positivo (PCA3 score  $\geq$  valore soglia) indica una maggiore probabilità di biopsia positiva, un risultato negativo (PCA3 score  $<$  valore soglia) indica, invece, una probabilità ridotta di biopsia positiva] (43,47-49). Molti studi hanno dimostrato che il PCA3 test è superiore al PSA ed ai vari markers PSA-derivati nel predire la presenza di cancro prostatico alla biopsia, potendo essere utilizzato come test diagnostico per selezionare i pazienti da candidare alla biopsia (43,45,47-48)

Quando analizzato in parallelo al PSA ha dimostrato, infatti, sensibilità e specificità superiori con massima accuratezza diagnostica ad un cut-off di 35 [specificità 85%, range 66-89%; sensibilità 68%, range 54-82%; VVP 68%; VPN 81% (VPN 63% per PSA cut-off  $\geq 4$  ng/ml); falsi negativi 10-26%] (50-51).

Questi risultati hanno suggerito che il PCA3 score potrebbe essere usato per migliorare l'identificazione degli uomini a rischio di sviluppare un cancro della prostata e ridurre il numero di biopsie non necessarie (52), trovando la sua principale indicazione negli uomini con una o più biopsie prostatiche negative e persistenti elevati livelli di PSA, per fornire informazioni utili a prendere una decisione appropriata in merito all'opportunità o meno di eseguire una re-biopsia. Inoltre, alcuni studi hanno dimostrato che il PCA3 score correla con le caratteristiche di aggressività biologica del tumore (volume  $>T2$  – Gleason  $>6$ , estensione extracapsulare), risultando significativamente ( $p=0,007$ , Nakanishi H. et al.) superiore nei tumori di alto grado rispetto ai tumori di basso volume/basso grado (44). In tal caso potrebbe anche contribuire a cambiare l'indicazione terapeutica dei pazienti affetti da cancro prostatico, evitando terapie inutili o eccessive. Pertanto, potrebbe essere opportuno includerlo in nomogrammi per il calcolo non solo del rischio di

sviluppare il cancro della prostata, in base al quale valutare l'indicazione all'esecuzione della biopsia/re-biopsia prostatica, ma anche, nel caso di cancro diagnosticato alla biopsia, per il calcolo del rischio di progressione clinica pre-trattamento, sulla base del quale porre l'indicazione al trattamento più appropriato, quale, ad esempio, l'eventuale inclusione in programmi di sorveglianza attiva.

Da non sottovalutare, poi, il risvolto economico di tutto ciò: il costo del PCA3 test è maggiore rispetto a quello del PSA, ma il suo utilizzo ridurrebbe di una percentuale superiore al 67% il numero di biopsie effettuate inutilmente, con i conseguenti casi di "overtreatment" e le relative complicanze, comportando, al netto, un conseguente beneficio economico.

## SCOPO DELLA RICERCA

Negli anni '90 il PSA è stato adottato in tutto il mondo come test di screening nella diagnosi precoce del cancro della prostata, rivoluzionandone la strategia diagnostica (1). La determinazione del rischio di sviluppare il cancro della prostata basata solo sul PSA pone, però, numerose problematiche in quanto il PSA è un marcatore d'organo, specifico per il tessuto prostatico, ma non è un marcatore tumorale specifico per il cancro della prostata: elevati valori sierici di PSA sono riscontrabili in molte condizioni benigne (4-7) ed i livelli di PSA non correlano con il livello di aggressività della malattia (allo stato attuale non esiste un valore di PSA che escluda la presenza di cancro prostatico: PSA > 2,5-4 ng/ml predice solo il 24-37% dei tumori della prostata ed il 20-30% dei pazienti affetti da tale patologia ha normali livelli di PSA). Ciò comporta numerosi risultati falsi positivi e, di conseguenza, un elevato numero di biopsie eseguite inutilmente, essendo, a tutt'oggi, la principale indicazione alla biopsia prostatica proprio un incremento dei livelli di PSA (cut-off 4 ng/ml). La strategia di prevenzione secondaria, effettuata mediante il PSA-screening, ha, pertanto, determinato una tendenza nella pratica clinica alla sovra-diagnosi (20-40% dei cancri della prostata diagnosticati sono indolenti, di basso volume  $\leq 0,5$  ml e basso grado Gleason  $\leq 6$  (53-55), e non incidono né su morbidità né su mortalità) ed al conseguente sovra-trattamento dei pazienti affetti da cancro della prostata (trattamento di cancri della prostata indolenti, che in molti casi non avrebbero avuto una progressione clinica per tutta la durata della vita del paziente, senza determinare, quindi, né incremento dell'aspettativa di vita né miglioramento della qualità di vita). A causa del basso valore predittivo positivo (VPP) del PSA, più del 75% degli uomini con un PSA compreso nel range 2,5-10 ng/ml ("zona grigia") e/o sospetta esplorazione digito-rettale, ha una prima biopsia negativa e solo il 10-35% di questi ha una diagnosi di cancro della prostata alla re-biopsia (2-3). Agli uomini con prima biopsia negativa, ma persistente sospetto di cancro prostatico, le linee guida dell'EAU raccomandano di ripetere la biopsia (4), ma, comunque, nell'80% degli

uomini queste re-biopsie sono negative. Non solo l'aspetto economico, ma anche ansia, discomfort e talora severe complicanze sono associate alla biopsia (2-3). Tutto ciò ha un notevole impatto sia sul singolo paziente, che viene sottoposto ad uno, spesso evitabile, stress fisico (metodiche diagnostiche e terapeutiche invasive con le relative complicanze) e psichico ("PSA Syndrom" nei numerosi pazienti con cronicamente elevati livelli di PSA e biopsia negativa per cancro prostatico), che sulla collettività, per la forte incidenza sulla spesa sanitaria (33-35). Sebbene la biopsia resti il "gold standard" per il rilevamento del cancro della prostata [una biopsia negativa può creare un falso senso di sicurezza in quanto, campionando meno dell'1% di tutto il tessuto prostatico, esiste una possibilità del 15-20% che il cancro venga mancato (56) e circa il 10-25% dei cancri prostatici non vengono diagnosticati alla prima biopsia (57)], test più accurati, con una maggiore specificità, sono necessari per aiutare a guidare la decisione di eseguire o meno una biopsia prostatica. Da tutte queste considerazioni si evince quanto sia necessario individuare test diagnostici e, soprattutto, prognostici più specifici per il cancro della prostata che, migliorando la capacità di identificare i pazienti a rischio di sviluppare il cancro prostatico (incrementando la probabilità di diagnosi di cancro prostatico alla prima biopsia ed essendo d'aiuto, in caso di persistente dubbio diagnostico, nel decidere se ripetere o no la biopsia dopo una prima biopsia negativa), soprattutto nelle sue forme aggressive, che possono, però, ancora beneficiare della diagnosi precoce, eviti procedure biotiche invasive ed inutili, minimizzando il rischio di mancare cancri significativi, mantenendo, così, elevata la sensibilità diagnostica. Rispetto a tutto questo, tra i nuovi biomarkers tumorali che stanno emergendo, il PCA3, un test non invasivo, effettuato sulle urine e basato sul PCA3 gene (mRNA non codificante altamente sovra-espresso nelle cellule del tessuto canceroso prostatico), sta mostrando promettenti risultati. Numerosi studi clinici ne hanno dimostrato, infatti, l'utilità diagnostica, superiore rispetto al PSA e ad altri markers PSA-correlati del cancro prostatico, ed alcuni studi ne hanno messo in evidenza, addirittura, il valore prognostico (44). Il suo utilizzo, in combinazione con il PSA ed altre informazioni

cliniche, nel contesto, ad esempio, di nomogrammi o calcolatori di rischio, potrebbe migliorarne l'accuratezza diagnostica ed aiutare i medici a prendere decisioni "meglio informate" sui pazienti a rischio di sviluppare il cancro della prostata (52) (Tab. 13-14).

Il principale obiettivo di questo studio è, pertanto, valutare la performance del PCA3 test come esame di screening nella diagnosi precoce del cancro prostatico e la sua utilità clinica nella gestione del paziente a rischio di sviluppare un cancro della prostata.

## **PARTE SPERIMENTALE**

### **Materiali e metodi**

Nello studio sono stati presi in esame 700 uomini di età media 67 anni (mediana 68, range 52-85), che sono stati sottoposti al PCA3 test tra gennaio 2010 e novembre 2013 presso l'Ospedale Militare "Celio" di Roma e la Casa di Cura Pio XI di Roma.

I criteri di inclusione dei pazienti nello studio sono stati: presenza di fattori di rischio per carcinoma prostatico, alterazione dei valori del PSA (PSA totale  $\geq 4$  ng/ml e PSA ratio  $\leq 16\%$ ), riscontro di anomalie all'esplorazione digito-rettale e precedente diagnosi biottica di HGPIN e/o ASAP.

I criteri di esclusione sono stati: storia di cancro prostatico, precedente chirurgia prostatica per ipertrofia prostatica benigna, inadeguata procedura di raccolta del campione di urina per PCA3 test o inadeguata procedura biottica, assunzione di terapie farmacologiche che modificano i livelli di PSA ed infezioni del tratto urinario. Dei 700 pazienti sottoposti a PCA3 test, 694 (informativa rate 99,1%) avevano campioni di urina con concentrazioni di PSA-mRNA e PCA3-mRNA adeguate a calcolare un PCA3 score valido.

Di tutti i pazienti inclusi nello studio sono stati raccolti i seguenti dati:

- Età;
- Familiarità per cancro della prostata;
- Sintomatologia minzionale;
- Terapia prostatica in atto (farmaci che alterano i valori di PSA come gli inibitori della 5 $\alpha$ reduttasi: finasteride e dutasteride)
- PSA pre-DRE/TRUS (PSA totale cut-off  $\geq 4$  ng/ml; PSA ratio cut-off  $\leq 16\%$ );
- PCA3 score (Progensa Gen Probe, cut-off  $\geq 35$ );
- DRE (esplorazione digito-rettale normale o sospetta);
- TRUS (ecografia prostatica transrettale);

- Volume prostatico (calcolato alla TRUS usando la formula dell'ellissoide di Eskew:  $0,523 \times \text{spessore} \times \text{lunghezza} \times \text{larghezza}$ );
- Storia di precedenti biopsie prostatiche [biopsia a schema esteso (58-60)  $\geq 8$  prelievi alla prima biopsia (12-18 prelievi indicati in caso di volume prostatico  $>50 \text{ cm}^3$ ) e saturation biopsy (SPBx) (61-63)  $\geq 20$  prelievi alla re-biopsia];
- Gleason Score su campioni biotici e pezzi operatori di cancro prostatico (classificazione ISUP 2005, modificata per biopsia) (64);
- TNM su pezzi operatori di cancro prostatico (Union Internationale Contre le Cancer TNM 2009 classification) (65);
- RMN endorettale/ PET con colina;
- Scintigrafia ossea.

Di ogni paziente è stato raccolto un campione (20-30 ml) del primo getto di urina emessa dopo DRE, eseguita secondo la procedura descritta da Groskopf (45). I campioni di urina sono stati analizzati tutti presso un unico laboratorio (Casa di Cura Malzoni "Villa Platani" di Avellino), usando la stessa procedura per quantificare le concentrazioni di PCA3-mRNA e PSA-mRNA con il ProgenSA PCA3 test (Gen Probe Inc, San Diego, CA). L'mRNA bersaglio è stato isolato dal campione di urina per target capture (cattura di microparticelle magnetiche rivestite con una specifica sequenza di oligonucleotidi), amplificato per TMA (transcription mediated amplification) e rilevato con sonde di DNA chemiluminescenti; il numero di copie di PCA3-mRNA e PSA-mRNA è stato calcolato mediante calibratori di trascrizione, dando come risultato il PCA3 score secondo la formula:  $[(\text{PCA3-mRNA})/(\text{PSA-mRNA}) \times 1000]$ . I campioni biotici sono stati analizzati da esperti anatomopatologi delle diverse sedi.

## Risultati

Dei 694 pazienti arruolati in questo studio 564 (81,27%) avevano un PSA totale  $\geq 4$  (range 4-102 ng/ml) ed un PSA ratio  $\leq 16\%$  (range 16-4%) e 130 (18,73%) avevano un PSA totale  $< 4$  ng/ml. Prima di aver effettuato il PCA3 test 310 (310/694=44,67%) pazienti erano già stati sottoposti a biopsia prostatica sulla base principalmente del riscontro di un'alterazione del PSA e/o di un'anomalia all'esplorazione rettale. In particolare 254 (81,94%) dei 310 pazienti sottoposti a biopsia pre-PCA3 test erano negativi per cancro, 49 (15,80%) avevano una diagnosi di HGPIN/ASAP e 7 (2,26%) avevano una diagnosi di cancro prostatico [Gleason score: 2 (28,57%)  $\geq 6$  e 5 (71,43%)  $< 6$ ]. Il valore di cut-off per il PCA3 test è stato fissato a 35, in accordo alla letteratura corrente (41), ed i pazienti sono stati suddivisi in PCA3 score positivi ( $\geq 35$ ) e negativi ( $< 35$ ). Abbiamo trovato che 335/694 pazienti (48,27%) avevano un PCA3 score superiore o uguale al cut-off (PCA3 positivi) e 359/694 pazienti (51,73%) avevano un PCA3 score inferiore al cut-off (PCA3 negativi). Quando abbiamo incrociato i risultati del PCA3 score con quelli del PSA totale e ratio abbiamo trovato che 36 pazienti avevano valori negativi di entrambi, 323 pazienti erano negativi per PCA3 e positivi per PSA, 94 pazienti erano positivi per PCA3 e negativi per PSA, 241 pazienti erano positivi per entrambi.

I 94 (94/335=28,06%) pazienti con PCA3 score positivo e PSA negativo sono stati sottoposti a biopsia/re-biopsia post-PCA3 test, risultando: 8/94 (8,51%) negativi per cancro, 37/94 (39,36%) positivi per HGPIN/ASAP e 49/94 (52,13%) positivi per cancro [Gleason score: 47 (95,92%)  $\geq 6$  e 2 (4,08%)  $< 6$ ]. Per il persistere del sospetto di neoplasia prostatica, anche 43 (43/359=11,98%) pazienti con PCA3 score negativo e PSA positivo sono stati sottoposti a biopsia/re-biopsia (137 pazienti sottoposti complessivamente a biopsia/re-biopsia) post-PCA3 test, risultando: 38 (82,61%) negativi per cancro, 3 (7,5%) positivi per HGPIN/ASAP e 2 (3,92%) positivi per cancro (Gleason score: 1=6 ed 1 $< 6$ ).

Abbiamo, poi, indagato la correlazione tra PCA3 score e la diagnosi di cancro nei pazienti sottoposti a biopsia. Le caratteristiche dei pazienti che sono stati sottoposti a biopsia post-PCA3 test sono riassunte nella tabella 15.

L'età media dei pazienti è di 67 anni (mediana 68, range 52-85); il valore medio del PSA è di 9 ng/ml (mediana 7 ng/ml; range: 0,67-66,5); DRE è sospetta in 21 pazienti (15,33%) e negativa in 116 pazienti (84,67%); il volume medio della prostata è di 53,8 cm<sup>3</sup> (mediana 57 cm<sup>3</sup>; range 21-108 cm<sup>3</sup>); 58 pazienti (42,33%) avevano ≥ 1 precedenti biopsie negative. Il valore medio del PSA, il numero di DRE sospette ed il volume prostatico medio hanno valori simili nei 3 gruppi di pazienti (pazienti con biopsia negativa, pazienti con diagnosi di HGPIN/ASAP, e pazienti con biopsia positiva per cancro). Al contrario, media e mediana del PCA3 score sono significativamente maggiori nel gruppo di pazienti con biopsia positiva (n=51) rispetto al gruppo di pazienti con biopsia negativa (n = 46) (141,6 e 97 vs 54,9 e 48 rispettivamente) (p = 0,0002; two-tailed t-student test). Inoltre, media e mediana del PCA3 score (79,6 e 66 rispettivamente) nel gruppo di pazienti con diagnosi di HGPIN/ASAP alla biopsia (n = 40) hanno valori intermedi tra quelli del gruppo di pazienti con biopsia negativa e quelli del gruppo di pazienti con biopsia positiva.

L'analisi statistica ha mostrato anche che la differenza in PCA3 score tra i pazienti con biopsia negativa e quelli con diagnosi di HGPIN/ASAP è significativa (p=0,002; two-tailed t-student test), mentre la differenza in PCA3 score tra pazienti con diagnosi di HGPIN/ASAP e pazienti con biopsia positiva non è risultata significativa.

Il grafico in Figura 8 riassume la relazione tra PCA3 score e risultati della biopsia prostatica. Tutti i pazienti sottoposti a biopsia post-PCA3 test (n = 137) sono stati suddivisi in 4 classi con diverso range di PCA3 score: <35 (n = 43), 35-49 (n = 17), 50-100 (n = 45), > 100 (n = 32). I risultati sono mostrati in Tabella 16.

Solo il 3,92% dei pazienti (2/51) con biopsia positiva rientra nel gruppo con PCA3 score <35, mentre il 9,80% (5/51) cade nel gruppo con PCA3 score 35-49, il 37,26% (19/51) nel gruppo con PCA3 score 50-100 ed il 49,02% (25/51) nel gruppo con PCA3 score > 100.

Questi dati dimostrano una correlazione diretta tra il valore quantitativo del PCA3 score e la probabilità di biopsia prostatica positiva, più è alto il PCA3 score più è predittivo di un risultato positivo alla biopsia. E' interessante notare come la maggior parte dei pazienti (24/40 = 60%) con diagnosi di HGPIN/ASAP alla biopsia sia concentrata nel gruppo con PCA3 score 50-100.

Inoltre, il PCA3 ha dimostrato maggiore specificità nell'identificare e non mancare cancri prostatici significativi con Gleason score  $\geq 6$ , differenziandoli da quelli indolenti con Gleason score  $<6$ : ciò indica che il PCA3 score potrebbe essere indicativo del grado di aggressività della neoplasia con applicabilità nella selezione dei pazienti candidabili alla sorveglianza attiva.

## **Discussione**

In questo studio abbiamo determinato il PCA3 score ed il PSA totale e ratio in un gruppo di 694 pazienti e in 137 di questi abbiamo correlato i valori del PCA3 score e del PSA totale e ratio con il risultato della biopsia prostatica.

Nei pazienti sottoposti a biopsia pre-PCA3 test, sulla scorta di un'indicazione data principalmente dai valori di PSA (PSA totale > 4 ng/ml e PSA ratio <16%), l'81,94% delle biopsie sono risultate negative per cancro, mentre nei pazienti sottoposti a biopsia/re-biopsia post-PCA3 test positivo (PCA3 score  $\geq 35$ ) solo l'8,51% delle biopsie sono risultate negative per cancro (95,92% delle biopsie positive ha Gleason score  $\geq 6$ ), mentre solo il 4,65% delle biopsie post-PCA3 test negativo (PCA3 score <35) sono risultate positive per cancro (Gleason score 1=6 e 1<6).

Nei pazienti sottoposti a biopsia o re-biopsia post-PCA3 test abbiamo indagato la correlazione tra PCA3 score e risultato della biopsia (Tab. 15), suddividendo i pazienti in 3 gruppi rispetto al risultato della biopsia (biopsia positiva per cancro; biopsia con diagnosi di HGPIN/ASAP; biopsia negativa per cancro) ed in 4 gruppi rispetto al valore del PCA3 score (<35; 35-49; 50-100; >100), ed abbiamo verificato che, mentre i livelli di PSA, la % di DRE sospette ed i valori di volume prostatico erano simili nei 3 gruppi con differente risultato bioptico, media e mediana del PCA3 score erano significativamente più alte nel gruppo di pazienti con biopsia positiva per cancro rispetto al gruppo con biopsia negativa ed, inoltre, cosa ancor più interessante, avevano valori intermedi nel gruppo con HGPIN/ASAP alla biopsia rispetto agli altri due gruppi. La differenza in PCA3 score tra gruppo con biopsia negativa e gruppo con biopsia positiva per HGPIN/ASAP è risultata, poi, statisticamente significativa, diversamente dalla differenza in PCA3 score tra gruppo con biopsia positiva per cancro e gruppo con biopsia positiva per HGPIN/ASAP. Il 49,02% dei pazienti con biopsia positiva per cancro rientra nel gruppo con PCA3 score >100, mentre la maggior parte dei pazienti con biopsia positiva per HGPIN/ASAP è concentrata nel gruppo con PCA3 score 50-100 (60%). Nel presente studio la re-biopsia è risultata positiva nel 34,48% dei casi, percentuale simile ai dati riportati in letteratura (59). I nostri risultati, in accordo con quelli della maggior parte della letteratura corrente,

dimostrano, innanzitutto, la superiorità del PCA3 rispetto al PSA nel predire l'esito della biopsia/re-biopsia, con una diretta correlazione tra il valore quantitativo del PCA3 score e la probabilità di positività per cancro alla biopsia prostatica, potendo un PCA3 score maggiore essere predittivo di un risultato positivo per cancro in pazienti da sottoporre a biopsia/re-biopsia prostatica (PCA3 score migliora la specificità diagnostica e rappresenta uno spettro di rischio per cui gli score ad entrambe le estremità hanno maggior accuratezza diagnostica rispetto agli score più vicini al cut-off). Il PCA3, inoltre, può avere un importante ruolo nell'identificazione di uomini a rischio di sviluppare il cancro della prostata (il PCA3 score è significativamente più alto in pazienti con HGPIN/ASAP alla biopsia/re-biopsia rispetto a quelli con biopsia negativa), conclusione supportata da altri lavori scientifici che hanno dimostrato l'esistenza di una relazione tra volume tumorale e PCA3 score (44) e che HGPIN/ASAP sono associati ad un incrementato rischio di cancro prostatico alla re-biopsia (68).

## **Conclusioni**

In conclusione, i risultati di questo studio confermano il ruolo del PCA3 come valido e potente strumento nella diagnosi precoce del cancro della prostata (il PCA3 score correla in maniera direttamente proporzionale con la probabilità di biopsia/re-biopsia positiva), potendo contribuire, nell'ambito di una strategia di screening opportunistico, alla valutazione del rischio individuale di sviluppare il cancro prostatico (la media del PCA3 score è significativamente più alta nei pazienti con diagnosi biotica di HGPIN/ASAP rispetto a quelli con biopsia negativa), sulla base del quale prendere decisioni più appropriate e "meglio informate" circa la necessità o meno di eseguire una biopsia/re-biopsia prostatica, discriminando tra pazienti che devono essere sottoposti a biopsia e pazienti che necessitano solo di essere attivamente sorvegliati.

Inoltre, il PCA3 test ha dimostrato maggior specificità ed accuratezza diagnostica rispetto al PSA totale e ratio, che attualmente costituiscono la principale indicazione all'esecuzione della biopsia prostatica, nel predire l'esito di una biopsia/re-biopsia.

Il PCA3 score, in questo studio, correla anche con le caratteristiche di aggressività biologica del tumore, come già evidenziato da precedenti studi [Nakanishi H. et al.: il PCA3 score risulta significativamente ( $p=0,007$ ) superiore nei tumori di alto grado rispetto ai tumori di basso volume/ basso grado (44) ed è predittivo dello stadio clinico della neoplasia (volume  $>T2$ , Gleason  $>6$ , estensione extracapsulare) (47)]. Il suo valore prognostico, se ulteriormente confermato, potrebbe anche cambiare l'indicazione terapeutica di molti casi di cancro prostatico (20-40% dei cancri diagnosticati sono indolenti), evitando terapie inutili o eccessive. Nel caso in cui alla biopsia venisse diagnosticato un cancro della prostata di basso grado ed il PCA3 score risultasse negativo, con il conforto di altre informazioni cliniche, sarebbe possibile prospettare come prima opzione soluzioni meno invasive della chirurgia radicale e della radioterapia, come la sorveglianza attiva, con minori conseguenze sulle funzioni urinaria e sessuale (il cancro della prostata rappresenta la terza causa di deficit erettile ed il 75% dei pazienti con cancro della prostata sviluppa un deficit erettile iatrogeno) e maggior rispetto della qualità di vita dei pazienti (69-70).

L'applicazione del PCA3 test nella pratica clinica potrà, quindi, non solo ridurre il numero di biopsie effettuate inutilmente (35-67%), ma anche modificare l'indicazione terapeutica nei pazienti affetti da cancro prostatico (sorveglianza attiva per tumori a basso rischio), scongiurando la preoccupazione principale dell'EAU, rappresentata dal fatto che nel mondo occidentale alle moltissime diagnosi di cancro prostatico, una ogni 12 minuti, segue sempre, con rare eccezioni, la proposta di un trattamento curativo, anche quando il tumore mostra caratteristiche di non aggressività, con un notevole impatto economico (a fronte di un costo del PCA3 test superiore rispetto al test del PSA, vi sarebbe un netto beneficio economico derivante dalla riduzione del numero di biopsie inutili nonché dei casi di "overtreatment" con le relative complicanze) e sociale (riduzione dello stress psico-fisico cui è sottoposto il paziente con miglioramento della sua qualità di vita).

Sono, pertanto, auspicabili ulteriori studi prospettici che valutino, in futuro, il valore prognostico del PCA3, il suo potenziale utilizzo nel follow-up di pazienti a rischio di sviluppare un cancro della prostata clinicamente significativo (monitoraggio ad intervalli regolari di uomini con persistenti livelli elevati di PSA ed una o più biopsie negative, condizione che costituisce l'attuale principale indicazione all'esecuzione del PCA3 test, e di uomini con diagnosi biptica di cancro indolente inclusi in programmi di sorveglianza attiva) e l'opportunità di includerlo in nomogrammi o calcolatori di rischio [attualmente l'unico ad includere il PCA3 score è il calcolatore di rischio di cancro della prostata basato sull'US Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT), che valuta il rischio di biopsia positiva e di tumore di alto grado] che diffondano informazioni corrette circa il rischio individuale di sviluppare il tumore, di diagnosticarlo alla biopsia e di progressione clinica pre-trattamento, sulla base delle quali valutare se ci sia o meno l'indicazione all'esecuzione della biopsia/re-biopsia e quale sia l'approccio terapeutico più adeguato per ogni singolo paziente, senza alimentare l'eccesso diagnostico e terapeutico.

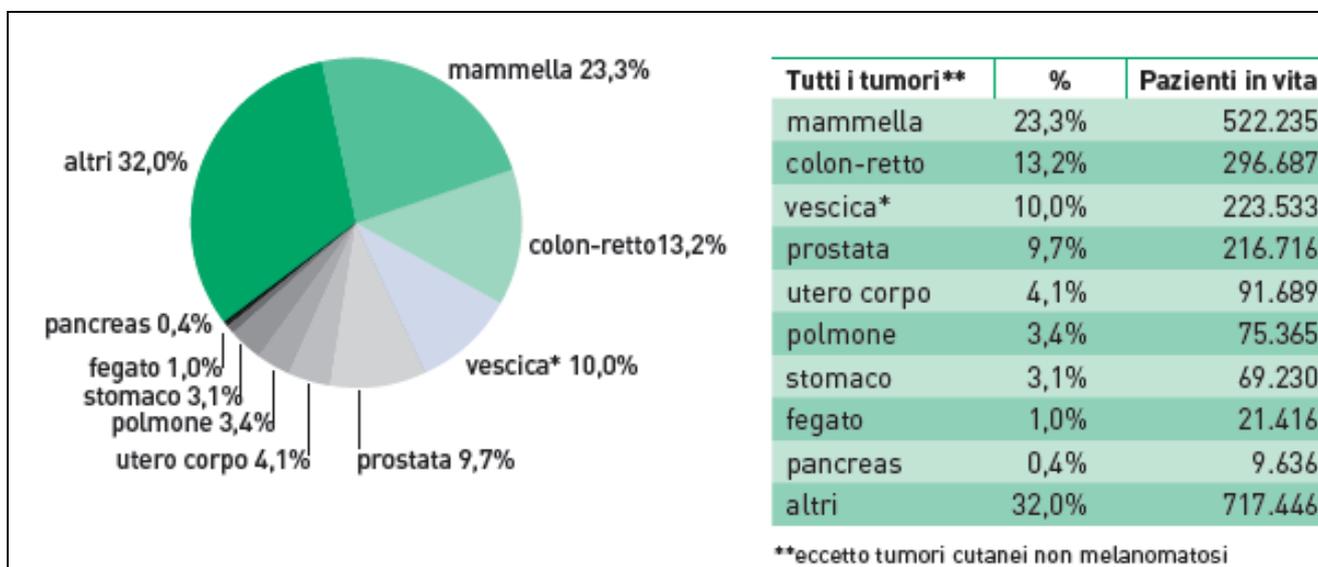
## **ICONOGRAFIA**

**Tabella 1**

Rango	Maschi	Femmine	Tutta la popolazione
1°	Prostata (20%)	Mammella (29%)	Colon-retto (14%)
2°	Polmone (15%)	Colon-retto (14%)	Mammella (13%)
3°	Colon-retto (14%)	Polmone (6%)	Prostata (11%)
4°	Vescica* (10%)	Utero corpo (5%)	Polmone (11%)
5°	Stomaco (5%)	Tiroide (5%)	Vescica (7%)

Primi cinque tumori più frequentemente diagnosticati e proporzione sul totale dei tumori (esclusi i carcinomi della cute) per sesso. Pool Airtum 2006-2009. \* comprende sia tumori infiltranti che non infiltranti.

**Figura 1**



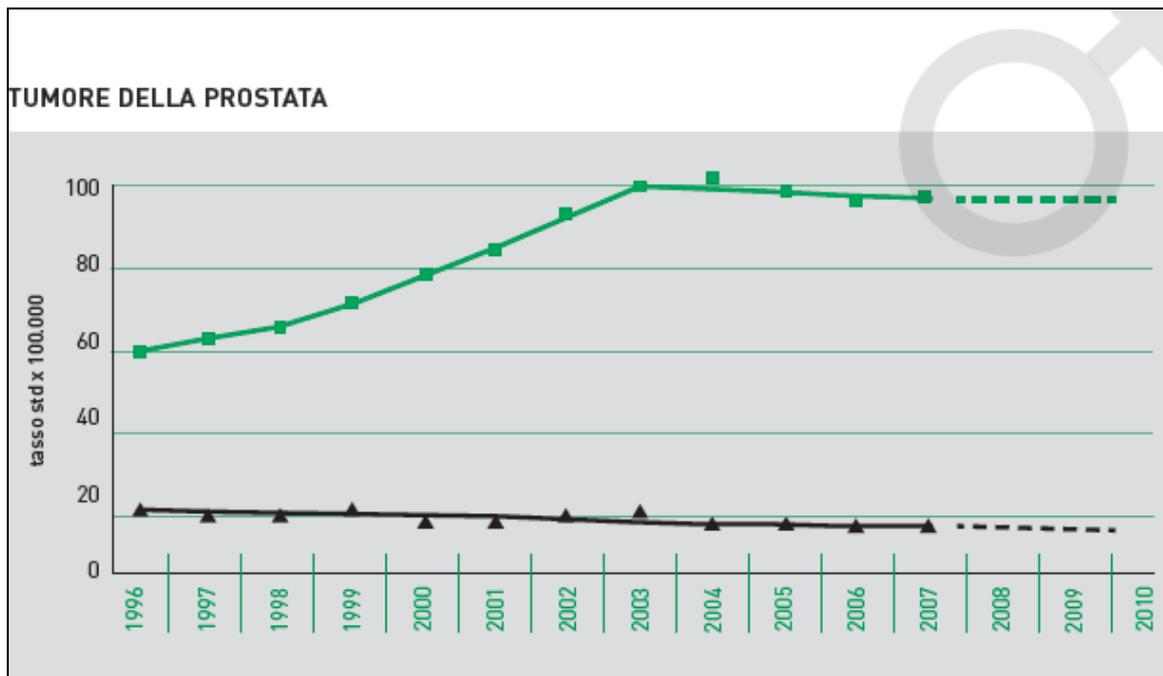
Numero di italiani con precedente diagnosi di tumore, divisi per sede di neoplasia (in ordine decrescente). \*comprende sia tumori infiltranti che non infiltranti.

**Tabella 2**

Sede neoplasia	1992	Sede neoplasia	2006
Mammella (femmine)	22%	Mammella (femmine)	23%
Colon-retto	12%	Colon-retto	13%
Vescica*	11%	Vescica*	10%
Testa-collo	8%	Prostata	10%
Corpo dell'utero	5%	Testa-collo	5%
Rene e vie urinarie**	4%	Linfomi non-Hodgkin	4%
Stomaco	4%	Corpo dell'utero	4%
Linfomi non-Hodgkin	4%	Rene e vie urinarie**	4%
Polmone	4%	Tiroide	4%
Prostata	3%	Melanoma	4%
Tiroide	3%	Polmone	3%
Melanoma	3%	Stomaco	3%
Cervice uterina	3%	Cervice uterina	2%
Ovaio	2%	Leucemie	2%
Testicolo	2%	Linfoma di Hodgkin	2%
Linfoma di Hodgkin	2%	Ovaio	2%
Leucemie	1%	Testicolo	2%
Tessuti molli	1%	Cervello	1%
Cervello	1%	Tessuti molli	1%
Mieloma multiplo	1%	Fegato	1%
Labbro	1%	Mieloma multiplo	1%

Confronto tra il 1992 e il 2006 tra le sedi e i tipi di tumore più frequenti in maschi e femmine.(cf. AIRTUMWorking Group. I tumori in Italia, rapporto 2010. La prevalenza dei tumori in Italia. Epidemiol Prev. 2010;34 suppl. 2. - Micheli A, Francisci S, Krogh V, Rossi AG, Crosignani P. Cancer prevalence in italian cancer registries areas: the ITAPREVAL study. ITAPREVALWorking Group. Tumori 1999; 85).\* comprende sia tumori infiltranti che non infiltranti.\*\* comprende rene, pelvi e uretere.

**Figura 2**



AIRTUM: stima dei trend tumorali di incidenza e mortalità 1996-2010. Tassi standardizzati pop. europea. APC = Annual Percent Change (Variazione percentuale media annua), I = incidenza, M = mortalità

**Tabella 3**

Maschi			
Rango	anni 0-49	anni 50-69	anni 70+
1°	Polmone (16%)	Polmone (30%)	Polmone (25%)
2°	Sist. nervoso centrale (11%)	Colon-retto (10%)	Colon-retto (11%)
3°	Colon-retto (8%)	Fegato (8%)	Prostata (11%)
4°	Vie aerodigestive superiori (7%)	Pancreas (7%)	Stomaco (7%)
5°	Stomaco (7%)	Stomaco (6%)	Fegato (7%)

Prime cinque cause di morte oncologica e proporzione sul totale dei decessi per tumore per sesso e fascia di età. Pool Airtum 2006-2009.

**Tabella 4**

Sede	1990-1992	1993-1995	1996-1998	1999-2001	2002-2004	2005-2007
Vie aerodigestive superiori	49	52	54	56	55	57
Esofago	7	10	9	10	11	13
Stomaco	25	28	30	31	31	34
Colon-retto	50	53	57	58	60	64
Colon	52	55	58	59	60	64
Retto	46	49	55	56	58	63
Fegato	7	8	12	13	16	17
Colecisti e vie biliari	11	14	17	15	19	21
Pancreas	4	4	5	5	6	7
Polmone	10	11	12	12	13	14
Osso	40	49	57	56	53	57
Cute (melanomi)	70	75	81	81	82	84
Mesotelioma	8	5	10	7	10	10
S. di Kaposi	69	70	76	80	92	90
Tessuti molli	59	55	62	61	64	68
Prostata	62	70	79	85	89	91
Testicolo	86	90	89	91	92	94
Parenchima	58	62	63	66	69	69
Pelvi e vie urinarie	56	59	62	64	62	65
Vescica*	72	73	76	77	79	80
Sistema nervoso centrale	18	21	19	21	22	21
Tiroide	67	76	83	89	89	91
Linfoma di Hodgkin	75	79	81	81	80	75
Linfomi non-Hodgkin	47	49	55	58	61	63
Mieloma	36	39	46	44	46	48
Leucemie	38	39	43	45	44	47
Tutti i tumori, esclusi carcinomi della cute	39	42	47	51	55	57

Uomini: sopravvivenza (%) relativa 5 anni dopo la diagnosi per alcune delle principali sedi tumorali e per periodo di incidenza (pool Airtum). Da AIRTUMWG. I tumori in Italia, rapporto 2011: Sopravvivenza. Epidemiol Prev 2011; 26(5-6): Suppl. 1\*comprende sia tumori infiltranti che non infiltranti.

**Tabella 5**

Rango	Maschi	Femmine	Tutta la popolazione
1°	Prostata (20%)	Mammella (29%)	Colon-retto (14%)
2°	Polmone (15%)	Colon-retto (14%)	Mammella (13%)
3°	Colon-retto (14%)	Polmone (6%)	Prostata (11%)
4°	Vescica* (10%)	Utero corpo (5%)	Polmone (11%)
5°	Stomaco (5%)	Tiroide (5%)	Vescica (7%)

Primi cinque tumori più frequentemente diagnosticati e proporzione sul totale dei tumori (esclusi i carcinomi della cute) per sesso. Pool Airtum 2006-2009. \* comprende sia tumori infiltranti che non infiltranti.

**Tabella 6**

Rango	Maschi - Età		
	0-49	50-69	70+
1°	Testicolo (11%)	Prostata (23%)	Prostata (21%)
2°	Linfoma non-Hodgkin (9%)	Colon-retto (15%)	Polmone (17%)
3°	Cute (melanomi) (8%)	Polmone (14%)	Colon-retto (15%)
4°	Colon-retto (8%)	Vescica* (10%)	Vescica* (11%)
5°	Tiroide (7%)	Vie aerodigestive superiori (5%)	Stomaco (6%)

Primi cinque tumori in termini di frequenza e proporzione sul totale dei tumori incidenti (esclusi i carcinomi della cute) per sesso e fascia di età. Pool Airtum 2006-2009. \* comprende sia tumori infiltranti che non infiltranti.

**Tabella 7**

I due studi a confronto				
		ERSPC	PLCO	
tipo di studio		multicentrico randomizzato	multicentrico randomizzato	
partecipanti		9 centri (8 Paesi europei)	10 centri (USA)	
campione	• numerosità	162.387	76.693	
	• età	55-69	55-74	
metodo	• gruppo intervento	test PSA ogni 4 anni PSA $\geq$ 3 ng/ml = biopsia	test PSA una volta /anno per 6 anni; PSA $\geq$ 3 ng/ml = biopsia esame rettale per 4 anni	
	• gruppo controllo	cure usuali	cure usuali	
soggetti precedentemente sottoposti a screening		<5%	44%	
contaminazione da PSA spontaneo nel braccio di controllo		<5-10%	52%	
tasso di biopsie eseguite nei soggetti positivi		>86%	40%	
follow-up		9 anni	7-10 anni	
esito primario	• mortalità per cancro prostatico	-20%	no diff. significative	
		OR = 0,80 (0,65-0,98)	OR =1,13 (0,75-1,70)	
Screening		Controllo		Rate ratio (IC 95%)
N morti	Persone/anno (tasso mortalità per 1.000 persone/anno)	N morti	Persone/anno (tasso mortalità per 1.000 persone/anno)	
<b>ERSPC (a 9 anni dalla randomizzazione)</b>				
222	698.642 (0,31)	330	839.319 (0,39)	0,79 (0,65-0,98)
<b>PLCO (a 10 anni dalla randomizzazione)</b>				
92	340.230 (0,27)	82	338.083 (0,24)	1,11(0,83-1,50)

Atti Congresso Europeo di Urologia Marzo 2011; Journal Clin Oncol Published on line March 28,2011

**Tabella 8**

Benefici ed effetti negativi dello screening			
	ERSPC (9 anni)	Goteborg (14 anni)	ERSPC - MISCAN (30 anni)
Riduzione mortalità	- 27 %	- 44 %	- 27 %
Eccesso incidenza	+ 39 %	+ 64 %	+ 42 %
<b>NTS</b>	<b>1.410</b>	<b>293</b>	<b>108</b>
<b>NTT</b>	<b>48</b>	<b>12</b>	<b>4</b>
NTS = da screenare per vita salvata NTT = da trattare per vita salvata			

Atti Congresso Europeo di Urologia Marzo 2011; Journal Clin Oncol Published on line March 28,2011

**Tabella 9**

PSA level (ng/mL)	Risk of PCa	Risk of Gleason $\geq$ 7 PCa
0-0.5	6.6%	0.8%
0.6-1	10.1%	1.0%
1.1-2	17.0%	2.0%
2.1-3	23.9%	4.6%
3.1-4	26.9%	6.7%

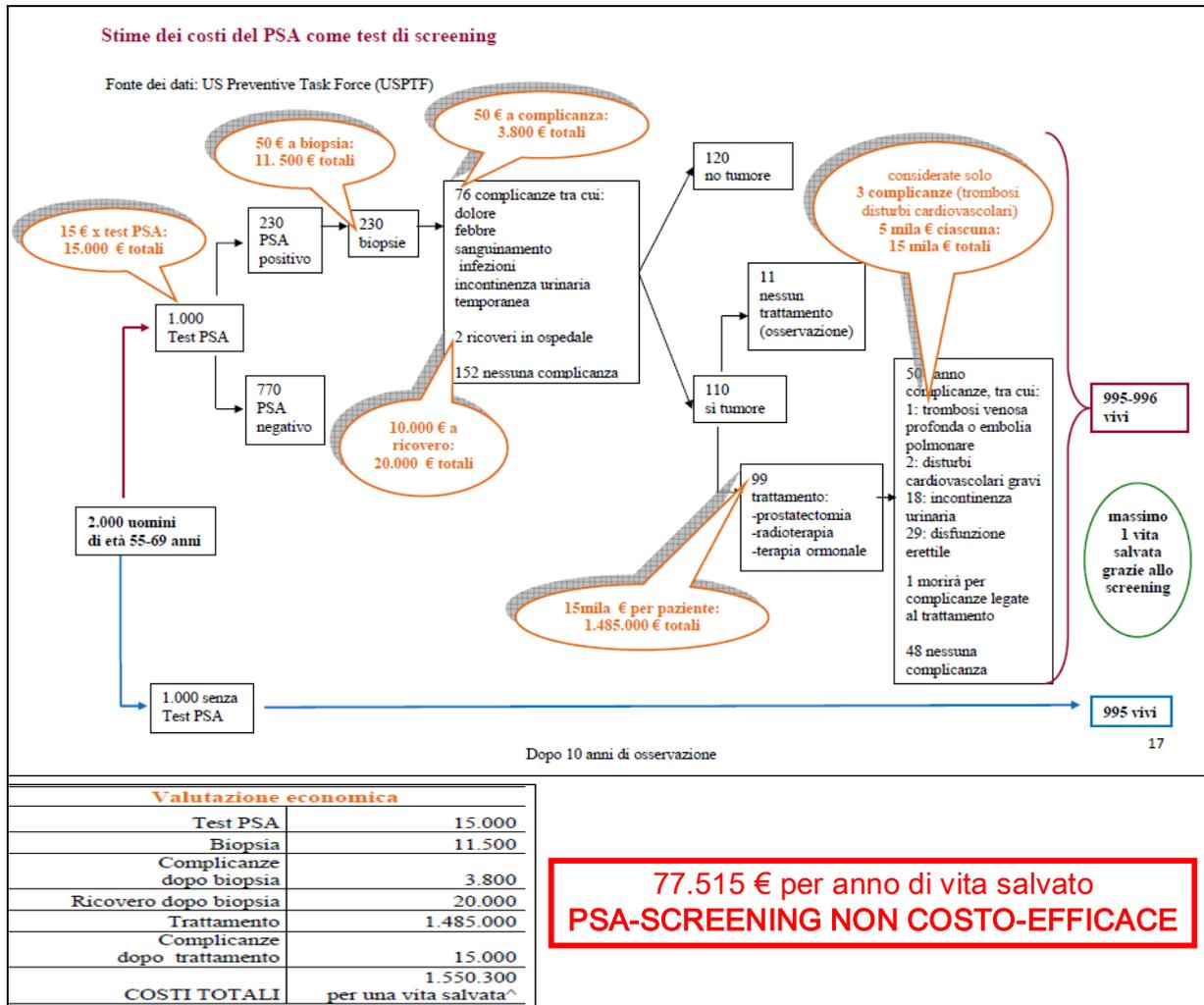
Risk of PCa in relation to low PSA values. Guidelines for the diagnosis of prostate cancer (20,34)

**Tabella 10**

		GR
1	An abnormal DRE result or elevated serum PSA measurement could indicate PCa. The exact cut-off level of what is considered a normal PSA value has not been determined, but values of approximately <2-3 ng/ml are often used for younger men.	C
2	The diagnosis of PCa depends on histopathologic (or cytologic) confirmation. Biopsy and further staging investigations are only indicated if they affect the management of the patient.	B C
3	TRUS-guided systemic biopsy is the recommended method in most cases of suspected PCa. A minimum of 10 systemic laterally directed cores are recommended, with perhaps more cores in prostates with a volume >40 ml. Transition zone biopsies are not recommended in the first set of biopsies due to low detection rates. One set of repeat biopsies is warranted in cases with persistent indication (abnormal DRE, elevated PSA, or histopathologic findings suggestive of malignancy at the initial biopsy) for prostate biopsy. Overall recommendations for further (three or more) sets of biopsies cannot be made; the decision must be made based on an individual patient.	B C B C
4	Transrectal periprostatic injection with a local anaesthetic can be offered to patients as effective analgesia when undergoing prostate biopsies.	A
DRE = digital rectal examination; GR = grade of recommendation; PCa = prostate cancer; PSA = prostate-specific antigen; TRUS = transrectal ultrasound.		

Guidelines for the diagnosis of prostate cancer (31)

**Figura 3**



Fonte: raccomandazioni della US Preventive Task Force (USPTF) - gruppo indipendente statunitense composto da esperti in prevenzione e medicina basata sulle prove, che valuta studi scientifici su argomenti come gli screening, producendo revisioni sistematiche e raccomandazioni per i sistemi sanitari. I dati sono frutto di stime riprese dal NICE (National Institute for Health and Care Excellence) e considerati validi anche nel contesto italiano (tra le complicanze dei trattamenti non sono stato presi in considerazione ai fini della valutazione economica l'incontinenza urinaria ed il deficit erettile).

**Tabella 11**

Stage	Treatment	Comment	GR
T1a	Watchful waiting	Standard treatment for Gleason score $\leq 6$ and 7 adenocarcinomas and $< 10$ -year life expectancy.	B
	Active surveillance	In patients with $> 10$ -year life expectancy, re-staging with TRUS and biopsy is recommended.	B
	Radical prostatectomy	Optional in younger patients with a long life expectancy, especially for Gleason score $\geq 7$ adenocarcinomas	B
	Radiotherapy	Optional in younger patients with a long life expectancy, in particular in poorly differentiated tumours. Higher complication risks after TURP, especially with interstitial radiation.	B
	Hormonal	Not an option.	A
	Combination	Not an option.	C
T1b-T2b	Active surveillance	Treatment option in patients with cT1c-cT2a, PSA $< 10$ ng/mL, biopsy Gleason score $\leq 6$ , $\leq 2$ biopsies positive, $\leq 50\%$ cancer involvement of each biopsy.	B
		Patients with a life expectancy $< 10$ years.	
		Patients with a life expectancy $> 10$ years once they are informed about the lack of survival data beyond 10 years.	
		Patients who do not accept treatment-related complications.	

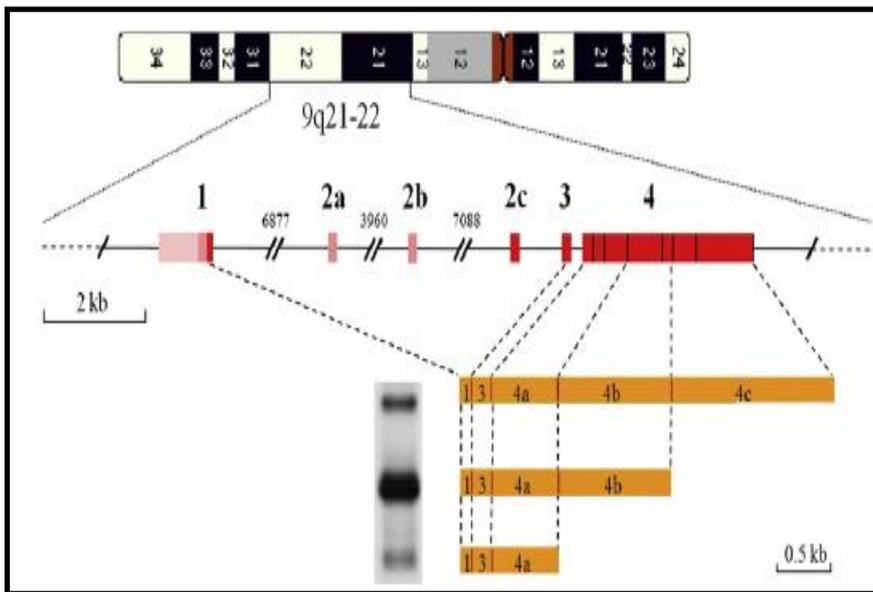
Summary of guidelines on primary treatment of Pca. Guidelines for the diagnosis of prostate cancer (31)

**Tabella 12**

Organization	Year	Recommendation	Notes
European Association of Urology [111]	2011	<ul style="list-style-type: none"> <li>Widespread screening is not appropriate.</li> <li>Offer early detection to well-informed men.</li> <li>Baseline PSA determination at age 40 yr has been suggested on which subsequent screening interval may then be based.</li> <li>Screening interval of 8 yr might be enough in men with initial PSA <math>\leq 1</math> ng/ml.</li> <li>Further PSA testing is not necessary in men <math>&gt; 75</math> yr of age and a baseline PSA <math>\leq 3</math> ng/ml because of their very low risk of dying from PCa.</li> </ul>	Updates previous recommendation of 2008, which predates the ERSPC and PLCO publications.
American Urological Association [112]	2009	<ul style="list-style-type: none"> <li>Offer early detection to asymptomatic men <math>&gt; 40</math> yr of age who wish to be screened and who have an estimated life expectancy <math>&gt; 10</math> yr.</li> <li>Future screening intervals should be based on this baseline PSA level.</li> <li>A physician should assess the individual patient's health status to determine the appropriateness of PSA testing at any given age.</li> </ul>	Updates previous recommendation by lowering age to screening from 50 to 40 yr (to obtain baseline).
American Cancer Society [113]	2010	<ul style="list-style-type: none"> <li>Asymptomatic men who have at least a 10-yr life expectancy should have an opportunity to make an informed decision with their health care provider about whether to be screened.</li> <li>Men at average risk should receive this information beginning at 50 yr of age.</li> <li>African American men and men who have a first-degree relative diagnosed with PCa before age 65 yr should receive this information beginning at age 45 yr.</li> <li>Men with multiple family members diagnosed with PCa before age 65 yr should receive this information beginning at age 40 yr.</li> </ul>	Updates previous recommendation emphasizing informed and shared decision making.
National Comprehensive Cancer Network [114]	2010	<ul style="list-style-type: none"> <li>Offer baseline digital rectal examination and PSA testing at age 40 after providing counseling on the pros and cons of early detection.</li> <li>If African American, if there is a family history of PCa, or if the PSA level is <math>&gt; 1.0</math> ng/ml, repeat annually.</li> <li>Otherwise, repeat at age 45 and annually starting at 50. Screening in men <math>&gt; 75</math> yr should be considered individually.</li> </ul>	Updates previous recommendation by lowering age to screening from 50 to 40 yr (to obtain baseline).
ERSPC = European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer; PSA = prostate-specific antigen; PLCO = Prostate, Lung, Colorectal, and Ovary Trial; PCa = prostate cancer.			

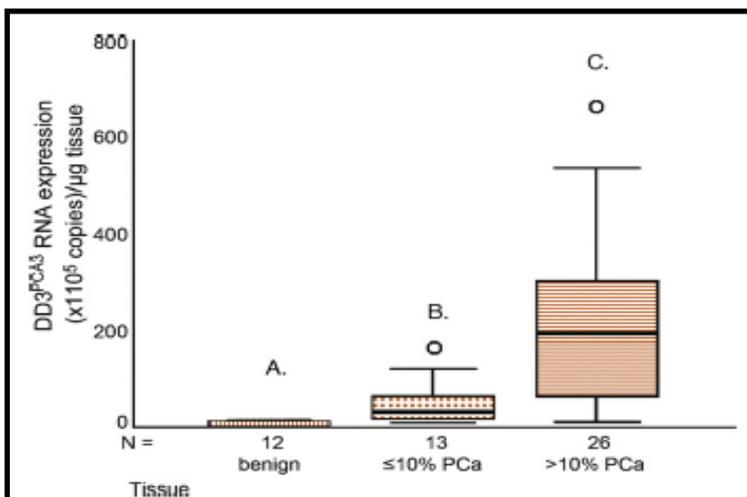
Summary of recommendations for prostate cancer screening (25, 69-72).

**Figura 4**



The PCA3 gene is mapped to chromosome 9q21–22. As originally described in Bussemakers et al., the PCA3 transcription unit consisted of 4 exons (red boxes 1, 2c, 3 and 4) and 3 polyadenylation sites in exon 4 (orange boxes 4a, 4b, and 4c). Exon 2, often skipped by alternative splicing, is absent from the 3 transcripts shown in the Northern blot. Clarke et al. identified 2 new exons (2a and 2b), 4 new polyadenylation sites (vertical lines in exon 4), and 4 new transcription start sites (exon 1, pink and light pink boxes) (70).

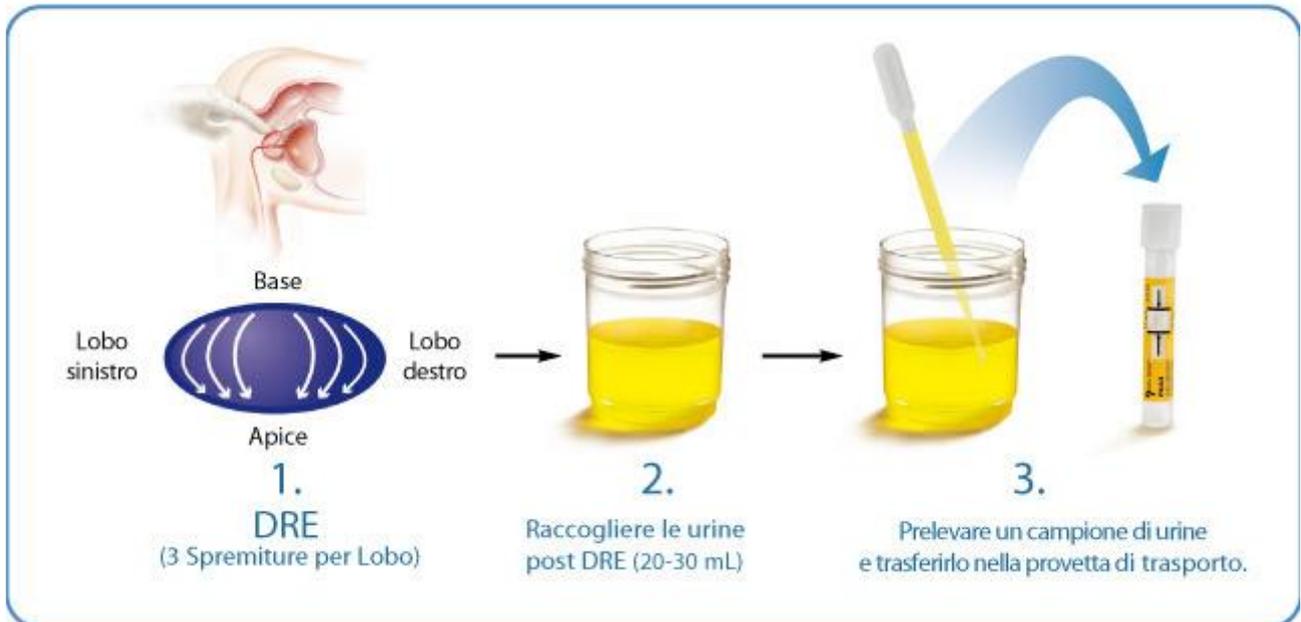
**Figura 5**



PCA3-mRNA expression in prostatic tissue. Box plots representing the expression of PCA3 mRNA comparing (A) benign prostatic tissue (median: 2.4 T 10<sup>5</sup>; range: 0.2 T 10<sup>5</sup> to 10.1 T 10<sup>5</sup>); (B) prostate tumour containing =10% PCa cells (median: 25.3 T 10<sup>5</sup>; range: 66.0 T 10<sup>5</sup> to 166.0 T 10<sup>5</sup>), and (C) prostate tumour containing >10% PCa cells (median: 158.4 T 10<sup>5</sup>; range: 7.0 T 10<sup>5</sup> to 994.0 T 10<sup>5</sup>). Reprinted with permission from Elsevier: Hessels et al., *European Urology*, copyright 2003 (70).

**Figura 6**

Raccolta delle urine post DRE e traferimento del campione per test PCA3 nella provetta di trasporto



Procedura di raccolta dei campioni di urina.

**Tabella 13**

Study	Men, No.	PCa, No.	Biopsy indication by PSA, ng/ml	PPV, %	PCA3 score applied	PPV, %	Sensitivity, %	Specificity, %	Serious PCa missed, No. (%)	AUC
Hessels et al [2]	108	24	$\geq 3.0$	22.2	$200 \times 10^{-3}$	53.3	67	83	38 (37.5)	0.72
Van Gils et al [5]	68	16	$\geq 2.5$ with or without DRE	23.5	$50 \times 10^{-3}$	50.0	69	79	Not known	0.74
Kranse et al [11]	534	174	$\geq 3.0-15.0$	33	58	48.1	65	66	Not known	0.66
Marks et al [7]	233*	60	$\geq 2.5$	27	35	42.2	58	72	Not known**	0.68
Deras et al [9]	570	206	$\geq 2.5$ with or without DRE	36	35	54.2	54	74	Not known**	0.70/0.68*
Van Gils et al [13]	463*	128	PSA with or without DRE	28	35	39.0	47	72	27 of 60 missed PCa (45%)	0.65/0.67*

AUC = area under the curve; DRE = digital rectal examination; PCa = prostate cancer; PCA3 = prostate cancer antigen 3 gene; PPV = positive predictive value  
 PSA = prostate-specific antigen.  
 \* Men with previous negative biopsy.  
 \*\* PCA3 scores not significantly different between Gleason 6 and Gleason score  $\geq 7$ .

Performance characteristics of PCA3: Literature overview (73).

## Tabella 14

Clinical scenario/end points	Reference	Patients, n	Risk factors	Results
Early detection				
Initial, repeat Bx Prediction of PCa at Bx	Deras et al. [23]	570	PSA, DRE, age, PV PCA3	AUC-PSA: 0.55 AUC-PCA3: 0.69 AUC-PSA + PV + DRE + PCA3 = 0.75
Initial, repeat Bx Prediction of PCa at Bx	Chun et al. [28]	809	PSA, DRE, age PV, Bx-history PCA3	AUC-PSA: 0.53 AUC-PCA3: 0.68 AUC-PSA + DRE + age + PV + Bx-history + PCA3 = 0.73
Repeat Bx Prediction of PCa at Bx	Marks et al. [15]	226	PSA PCA3	AUC-PSA: 0.52 AUC-PCA3: 0.68
Repeat Bx Prediction of PCa at Bx	Haese et al. [14]	463	PSA, DRE, age, %fPSA, PV PCA3	AUC-PSA: 0.60 AUC-%fPSA: 0.58 AUC-PCA3: 0.66 AUC-age + PSA + %fPSA + PV + DRE + PCA3 = 0.71
Screening Prediction of PCa at Bx	Roobol et al. [31]	721	PSA, DRE, age, %fPSA, PV PCA3	AUC-PSA: 0.58 AUC-PCA3: 0.64
Active surveillance Prediction of Bx progression	Tosoian et al. [17]	294	PSA, age, %fPSA, PV PCA3	Progression at Bx (yes vs no): PSA: 5.0 vs 4.0; p = 0.051 %fPSA: 18 vs 21; p = 0.013 PCA3: 47 vs 33; p = 0.131
Preoperative staging Prediction of pathologic features	Nakanishi et al. [34]	83	PSA, DRE, age, race, PV, PPC PCA3	Prediction of tumour volume < 0.5 ml AUC-PSA: 0.63 AUC-PPC: 0.73 AUC-PCA3: 0.76
Prediction of pathologic features	Whitman et al. [35]	72	PSA, DRE, age, race, PV, Bx-GS, PPC, PCA3	Prediction of extracapsular extension: AUC-PSA: 0.73 AUC-PCA3: 0.73 AUC-PSA + PCA3 + Bx-GS = 0.90
Correlation to pathologic features	Hessels et al. [36]	70	PSA, DRE, age, PV, Bx-GS PCA3	Correlation of PCA3 to pathologic features: Tumour volume < 0.5 ml: p = 0.680 Insignificant PCA: p = 0.496 Extracapsular extension: p = 0.765 Prostatectomy GS ≥ 7: p = 0.199
Prediction of pathologic features	Auprich et al. [38]	305	PSA, DRE, age, race, PV, Bx-GS, PPC, PCA3	Prediction of tumour volume < 0.5 ml: AUC-PSA + PPC + Bx-GS + PCA3 = 0.84 Prediction of insignificant PCA: AUC-PPC + Bx-GS + PCA3 = 0.92

PCa - prostate cancer; Bx - biopsy; PSA - prostate-specific antigen; DRE - digital rectal examination; PV - prostate volume; PCA3 - prostate cancer antigen 3; AUC - area under the curve; Bx-hist. - biopsy history; %fPSA - percent free PSA; PPC - percent positive cores at biopsy; GS - Gleason score.

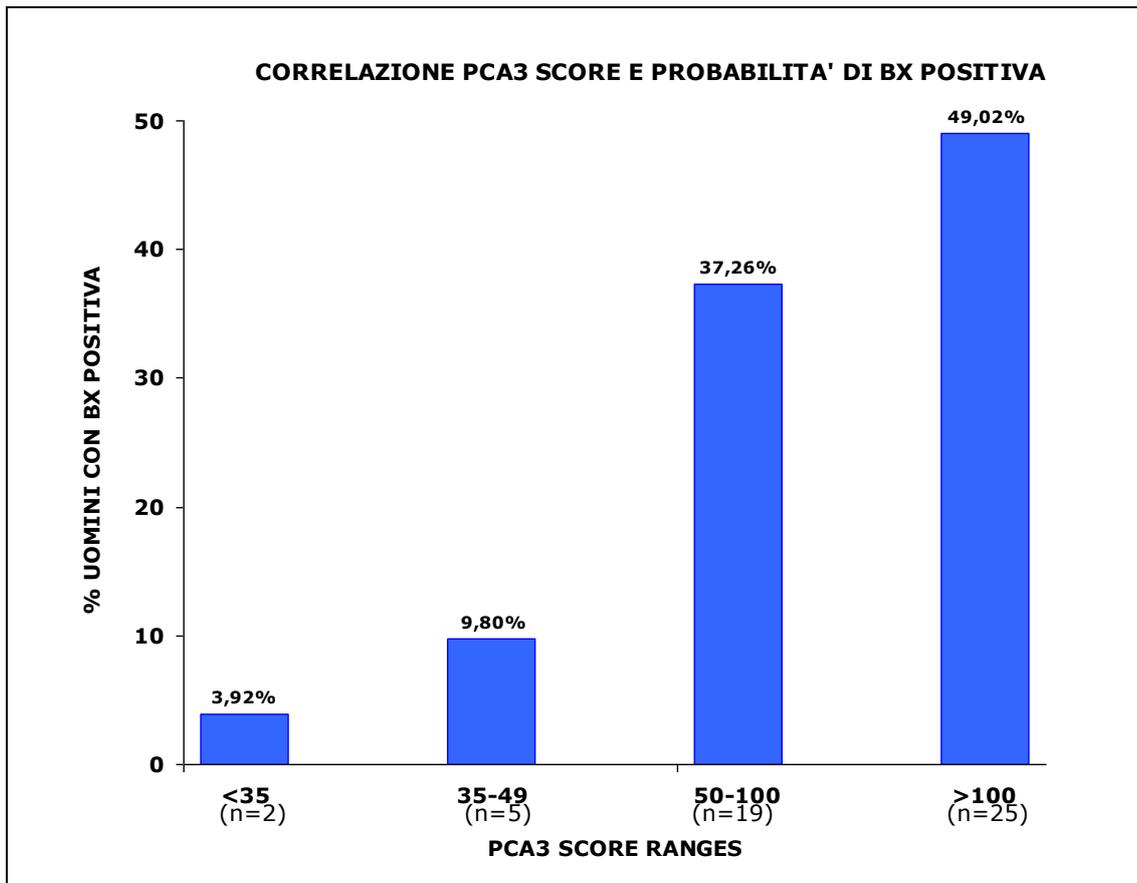
Selected prostate cancer antigen 3 studies stratified according to their clinical scenario (74).

## Tabella 15

	Bx - (n=46)		Bx HGPIV/ASAP (n=40)		Bx+ (n=51)		Totale (n=137)	
	Mediana (n)	Media±SD (%)	Mediana (n)	Media±SD (%)	Mediana (n)	Media±SD (%)	Mediana (n)	Media±SD (%)
Età (aa; range 52-85)	68	66,9 ± 6,5	66	66,4 ± 6,4	68	68,5,5 ± 7,1	68	67,4 ± 6,8
≥ 1 precedente Bx - (%)	27	(58,69%)	11	(27,5%)	20	(39,21%)	58	(42,33%)
PSA (ng/ml; range 0,67-66,5)	7	8 ± 6,4	7,23	8,8 ± 6,2	6,95	9,9 ± 10,4	7	9 ± 8,1
PSA totale								
<4ng/ml (%)	8	(17,39%)	37	(92,5%)	49	(96,08%)	94	(68,61%)
4-10 ng/ml (%)	26	(56,52%)	2	(5%)	1	(1,96%)	29	(21,17%)
>10 ng/ml (%)	12	(26,09%)	1	(2,5%)	1	(1,96%)	14	(10,22%)
PSA ratio (free/tot) (n; %)								
<16%	38	(82,61%)	3	(7,5%)	2	(3,92%)	43	(31,39%)
≥16%	8	(17,39%)	37	(92,5%)	49	(96,8%)	94	(68,61%)
Volume prostatico (ml; 21-108 cm³)	58	60 ± 13,9	67	60,3 ± 29	40	40,6 ± 11	57	53,8 ± 23,1
DRE sospetta (n;%)	6	(28,58%)	7	(33,33%)	8	(38,09%)	21	(15,33%)
<b>PCA3 score (range 2-391)</b>	<b>48</b>	<b>54,9±26,2</b>	<b>66</b>	<b>79,6±44,4</b>	<b>97</b>	<b>141,6±120,1</b>	<b>70</b>	<b>97,4±88,5</b>
< 35	38	(82,61%)	3	(7,5%)	2	(3,92%)	43	(31,38%)
≥ 35	8	(17,39%)	37	(92,5%)	49	(96,08%)	94	(68,62%)

Caratteristiche dei pazienti sottoposti a biopsia/re-biopsia post- PCA3 test.

**Figura 8**



Correlazione tra PCA3 score e probabilità di biopsia positiva.

**Tabella 16**

<b>Biopsie post-PCA3 test vs. PCA3 score gruppi</b>					
	<35	35-49	50-100	>100	Totale
Pca	2 (3,92%)	5 (9,80%)	19 (37,26%)	25 (49,02%)	51 (100%)
HGPIN /ASAP	3 (7,5%)	7 (17,5%)	24 (60%)	6 (15%)	40 (100%)
Neg.	38 (82,61%)	5 (10,87%)	2 (4,35%)	1 (2,17%)	46 (100%)
Totale	43 (31,38%)	17 (12,41%)	45 (32,85%)	32 (23,36%)	137 (100%)

Biopsie post-PCA3 test vs gruppi di PCA3 score.

## BIBLIOGRAFIA

1. AIRTUM Working Group. I Tumori in Italia: rapporto 2010. La prevalenza dei tumori in Italia: persone che convivono con un tumore, lungo-sopravvivenenti e guariti. *Epidemiol. Prev.* 2010; 34 (5-6) suppl. 2.
2. Istituto Superiore di Sanità. I tumori in Italia. Disponibile online da: [http://www.tumori.net/it/banca\\_dati/query.php](http://www.tumori.net/it/banca_dati/query.php).
3. Surveillance Epidemiology and End Results (SEER). SEER Stat Fact Sheets: Prostate Cancer. Disponibile online da: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>.
4. AIRTUM Working Group. I tumori in Italia. Rapporto AIRTUM 2006-2009: incidenza, mortalità e stime. *Epidemiol. Prev.* 2006-2009;30 suppl 2.
5. [http://www.istat.it/dati/dataset/20090302\\_00](http://www.istat.it/dati/dataset/20090302_00).
6. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61:69–90.
7. AIRTUM Working Group. I tumori in Italia, rapporto 2010. La prevalenza dei tumori in Italia. *Epidemiol. Prev.* 2010; 34 suppl. 2. - Micheli A, Francisci S, Krogh V, Rossi AG, Crosignani P. Cancer prevalence in italian cancer registries areas: the ITAPREVAL study. ITAPREVAL Working Group. *Tumori* 1999; 85.
8. Cauchi C, Saracino B, Lopez M, Bonadonna G, Carcinoma della prostata. in Lopez M, *Oncologia Medica Pratica*. Società Editrice Universo, Roma, III Edizione, 2010, 1985-2015.
9. AIRTUM: stima dei trend tumorali di incidenza e mortalità 1996-2010. Tassi standardizzati pop. europea.
10. AIRTUM WG. I tumori in Italia, rapporto 2011: Sopravvivenza. *Epidemiol Prev* 2011; 26(5-6): Suppl. 1.
11. Brawley OW, Prostate cancer screening: is it a teachable moment? *J Natl Cancer inst* 2009; 101: 1295-7.
12. Patel aR, Klein Ea. Risks for prostate cancer. *Nat Clin Pract Urol* 2009; 6: 87-95.
13. World Cancer Research Fund, american institute for Cancer Research. Food nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. American institute for Cancer Research, Washington D.C. 2007, pp.305-9.
14. Albertsen Pc, Hanley JA, Barrows GH, et al. Prostate cancer and Will Rogers phenomenon. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97: 1248-1253.
15. Schroder FH, Hugosson J, Roobol mJ, et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J med.* 2009; 360: 1320 - 28.

16. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. Measurement of prostate specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *N Engl J Med* 1991;324:1156–61.
17. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1987;317:909–16.
18. Catalona WJ, Smith DS, Ornstein DK. Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements. *JAMA* 1997;277:1452–5.
19. Thompson IM, Ankerst DP, Chi C, et al. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/ml or lower. *JAMA* 2005;294:66–70.
20. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level < or =4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med* 2004 May 27;350(22):2239-46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15163773>.
21. *Histopathology* 2012 Jan;60(1):4-27. Precursors of prostate cancer. Bostwick DG, Cheng L.
22. *Korean J Urol.* 2011 November; 52(11): 736–740. Significance of Atypical Small Acinar Proliferation and High-Grade Prostatic Intraepithelial Neoplasia in Prostate Biopsy. Orhan Koca, Selahattin Çalışkan, Metin İshak Öztürk, Mustafa Güneş, and M. Ihsan Karaman.
23. Schröder FH, Hugosson J, Roobol mJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, Kwiatkowski m, Lujan m, Lilja H, Zappa m, Denis LJ, Recker F, Páez a, määttänen L, Bangma CH, aus G, Carlsson S, Villers a, Rebillard X, van der Kwast T, Kujala Pm, Blijenberg BG, Stenman UH, Huber a, Taari K, Hakama m, moss Sm, de Koning HJ, auvinen a; ESRPC investigators Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J med.* 2012 mar 15; 366(11): 981-90.
24. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL, et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J med.* 2009; 360: 1310-19.
25. Heidenreich A, Bellmunt J, Bolla M, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. *Eur Urol* 2011;59:61–71.
26. Chodak GW, Thisted RA, Gerber GS, et al. Results of conservative management of clinically localized prostate cancer. *N Engl J Med* 1994;330:242–8.
27. Albertsen PC, Hanley JA, Gleason DF, Barry MJ. Competing risk analysis of men aged 55 to 74 years at diagnosis managed conservatively for clinically localized prostate cancer. *JAMA* 1998; 280:975–80.
28. Klotz L, Zhang L, Lam A, Nam R, Mamedov A, Loblaw A. Clinical results of long-term follow-up of a large, active surveillance cohort with localized prostate cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:126–31.
29. Klotz L. Active surveillance for prostate cancer: a review. *Curr Urol Rep* 2010;11:165–71.

30. Krakowsky Y, Loblaw A, Klotz L. Prostate cancer death of men treated with initial active surveillance: clinical and biochemical characteristics. *J Urol* 2010;184:131–5.
31. Riley GF, Potosky AL, Lubits JD, et al. Medicare payments from diagnosis to death for elderly cancer patients by stage at diagnosis. *Med care.* 1995;33(8):828-841.
32. Bakers S, Kessler LG, Smucker RC. Site specific treatment costs for cancer: an analysis of the Medicare continuous history sample file. In Scheffler RM, Andrews NC, editors. *Cancer care and costs: DRG's and beyond 1989.* Ann Arbor (MI): Health administration Press perspectives. 1989.
33. Snyder CF, Frick KD, Blackford AL, Herbert RJ, Neville BA, Carducci MA, Earle C. How does initial treatment choice affect short-term and long-term costs for clinically localized prostate cancer? 2010; 116 (23): 5391-5399.
34. Shteynshlyuger A, Andriole GL Cost-effectiveness of prostate specific antigen screening in the United States: extrapolating from the European study of screening for prostate cancer *The Journal of Urology* 185: 828-832 2011.
35. Heijnsdijk EAM, de Koning A, Wever EM, et al Overdetection, overtreatment and costs in prostate-specific antigen screening for prostate cancer *British Journal of Cancer* (2009) 101, 1833–1838.
36. Börgemann C, Loertzer H, Hammerer P, Fornara P, Graefen M, Rubben H. Problems, objective, and substance of early detection of prostate cancer [in German]. *Urologe A* 2010;49:181–9.
37. Boccardo F, Ciatto S, Martorana G. Italian national consensus conference on prostate cancer screening (Florence, May 17, 2003)-final consensus document. *Int J Biol Markers* 2003; 18(4): 238-40.
38. Babaian RJ, Kojima M, Ramirez EI et al. Comparison analysis of prostate specific antigen and its indexes in the detection of prostate cancer. *J Urol* 1996; 156:432–7.
39. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *JAMA* 1998; 279: 1542–7.
40. Catalona WJ, Southwick PC, Slawin KW et al. Comparison of percent free PSA, PSA density and age specific PSA cutoffs for prostate cancer detection and staging. *Urology* 2000; 56: 255–60.
41. Bussemakers MJ, van Bokhoven A, Verhaegh GW, et al. DD3: a new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer. *Cancer Res* 1999;59:5975–9.

42. Hessels D, Klein Gunnewiek JMT, van Oort I, et al. DD3PCA3-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer. *Eur Urol* 2003;44:8–16, discussion 15–6.
43. Deras IL, Aubin SM, Blase A, J.R. Day, S. Koo, A.W. Partin, W.J. Ellis, L.S. Marks, Y. Fradet, H. Rittenhouse, J. Groskopf, PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol* 2008;179:1587–92.
44. Nakanishi H, Groskopf J, Fritsche HA, et al. PCA3 molecular urine assay correlates with prostate cancer tumor volume: implication in selecting candidates for active surveillance. *J Urol* 2008;179:1804–9, discussion 1809–10.
45. Groskopf J, Aubin SM, Deras IL, et al. APTIMA. PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Chem* 2006;52:1089–95.
46. Gen-Probe PCA3 Assay for in vitro diagnostic CE use [package insert], Gen-Probe Incorporated, San Diego, CA; 2006.
47. Haese A, de la Taille A, van Poppel H, et al. Clinical utility of the PCA3 urine assay in European men scheduled for repeat biopsy. *Eur Urol* 2008;54:1081–8.
48. Marks LS, Fradet Y, Deras IL, et al. PCA3 molecular urine assay for prostate cancer in men undergoing repeat biopsy. *Urology* 2007; 69:532–5.
49. D. Schilling, J. Hennenlotter, M. Munz, U. Bokeler, K.D. Sievert, A. Stenzl, Interpretation of the prostate cancer gene 3 in reference to the individual clinical background: implications for daily practice, *Urol. Int.* 85 (2010) 159–165.
50. Karakiewicz PI, et al. Development and validation of a nomogram predicting the outcome of prostate biopsy based on patient age, digital rectal examination and serum prostate specific antigen. *J Urol* 2005; 173:1930–4.
51. Walz J, Haese A, Scattoni V, et al. Percent free prostate specific antigen (PSA) is an accurate predictor of prostate cancer risk in men with serum PSA 2.5 ng/mL and lower. *Cancer* 2008;113:2695–703.
52. Chun FK, et al. Prostate cancer gene 3 (PCA3): development and internal validation of a novel biopsy nomogram. *Eur Urol.* 2009 Oct; 56(4):659–67.
53. Stamey TA, Yemoto CM, McNeal JE, et al. Prostate cancer is highly predictable: a prognostic equation based on all morphological variables in radical prostatectomy specimens. *J Urol* 2000 Apr;163(4):1155–60.
54. Epstein J, Walsh P, Carmichael M, pathological and clinical findings to predict tumor extent of no palpable (stage T1c) prostate cancer. *Jama* 1994;271: 368–74.
55. Ploussard G, Epstein JI, Montironi L et al. The contemporary concept of significant versus insignificant prostate cancer. *Eur Urol* 2011; 60:291–303.

56. Peyromaure M, Ravery V, Messas A, Toublanc M, Boccon-Gibod L, Boccon-Gibod L. Pain and morbidity of an extensive prostate 10-biopsy protocol: a prospective study in 289 patients. *J Urol* 2002;167: 218-21.
57. Raja J, Ramachandran N, Munneke G, Patel U. Current status of transrectal ultrasound-guided prostate biopsy in the diagnosis of prostate cancer. *Clin Radiol* 2006;61: 142-53.
58. Eskew LA, Bare RL, McCullough DL. Systematic 5 region prostate biopsy is superior to sextant method for diagnosis carcinoma of the prostate. *J Urol* 1997; 157:199-202.
59. Beurton D, Izadifar V, Barthelemy Y et al. 12 systematic prostates biopsies for diagnosing carcinoma: a prospective randomised study. *Eur Urol* 2000; 37:296-9.
60. Pepe P, aragona F,. Prostate needle biopsy: 12 vs 18 cores. It is necessary? *Urol Int* 2005; 74:19-22.
61. Chun FK, Epstein JI, Ficarra V et al. Optimizing performance and interpretation of prostate biopsy: a critical analysis of the literature. *Eur Urol* 2010; 58:851-64.
62. Walz J, Graefen M, Chun FK et al. High incidence of prostate cancer detected by saturation biopsy after previous negative biopsy series. *Eur Urol* 2006, 50; 498-505.
63. Pepe P, aragona F. Saturation prostate needle biopsy and prostate cancer detection at initial and repeat avaluation. *Urology* 2007; 70: 1131-5.
64. Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, et al; ISUP grading committee. The 2005 International Society of Urologic Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2005 Sep;29(9):1228-42.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16096414>.
65. Sobin LH, Gospodariwicz M, Wittekind C (eds). TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer. 7th edn. Wiley-Blackwell, 2009 Dec; pp. 243-248.  
<http://www.uicc.org/tnm/>.
66. Seitz C, et al. Prostate biopsy. *Minerva Mol Nefrol* 2003;55:205-18.
67. Van den Bergh RC, Essink-Bot ML, Roobol MJ, et al. Anxiety and distress during active surveillance for early prostate cancer. *Cancer* 2009 Sep 1;115(17):3868-78.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19637245>.
68. Van den Bergh RC, Essink-Bot ML, Roobol MJ, et al. Do anxiety and distress increase during active surveillance for low risk prostate cancer? *J Urol* 2010 May;183(5):1786-91.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20299064>.
69. Carroll P, Albertsen PC, Greene K, et al. American Urological Association prostate-specific antigen best practice statement: 2009update.  
American Urological Society Web site. <http://www.auanet.org/content/guidelines-and-quality->

care/clinical-guidelines/mainreports/psa09.pdf.

70. Wolf AM, Wender RC, Etzioni RB, et al. American Cancer Society guideline for the early detection of prostate cancer: update 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60:70–98.
71. Kawachi MH, Bahnson RR, Barry M, et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: prostate cancer early detection. *J Natl Compr Canc Netw* 2010;8:240–62.
72. Zhu X, Albertsen PC, Andriole GL, Roobol MJ, Schröder FH, Vickers AJ. Risk-based prostate cancer screening. *Eur Urol*. 2012 Apr;61(4):652-61. Epub 2011 Nov 24 .
73. Roobol MJ, Schröder FH, van Leeuwen P, et al. Performance of the prostate cancer antigen 3 (PCA3) gene and prostate-specific antigen in prescreened men: exploring the value of PCA3 for a first-line diagnostic test. *Eur Urol* 2010;58:475–81.
74. Auprich M, Bjartell A, Chun FK, de la Taille A, Freedland SJ, Haese A, Schalken J, Stenzl A, Tombal B, van der Poel H. Contemporary role of prostate cancer antigen 3 in the management of prostate cancer. *Eur Urol*. 2011 Nov;60(5):1045-54. Epub 2011 Aug 25.