

---

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

# Noi metode de diagnostic pentru managementul cancerului de prostată cu risc scăzut

---

Doctorand **Ottavio de Cobelli**

---

Conducător de doctorat Prof.dr. **Ioan Coman**

---

Cluj-Napoca 2016



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	11
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	13
<b>1. Cancerul de prostată cu risc scăzut</b>	17
<b>2. Imagistica prin rezonanță magnetică multiparametrică</b>	21
<b>3. Biomarkeri</b>	25
3.1 Biomarkeri serici	25
3.2 Biomarkeri urinari	26
3.3 Biomarkeri tisulari	27
<b>CONTRIBUȚII PERSONALE</b>	29
<b>1. Ipoteza de lucru</b>	31
<b>2. Metodologie</b>	31
<b>3. Studiul 1. Rolul rezonanței magnetice multiparametrice și al scorului PIRADS pentru pacienții cu cancer de prostată eligibili pentru supraveghere activă conform criteriilor PRIAS.</b>	33
3.1 Obiective	33
3.2 Material și metodă	33
3.3 Rezultate	35
3.4 Discuți	36
3.5 Concluzii	38
<b>4. Studiul 2. Imagistica prin rezonanță magnetică multiparametrică și examenul extemporaneu pentru predicția upgrading-ului, upstaging-ului și extensiei extraprostatice în cazul pacienților cărora li se practică prostatectomie radicală cu nerve-sparing asistată robotic</b>	39
4.1 Obiective	39
4.2 Material și metodă	39
4.3 Rezultate	41
4.4 Discuții	52

4.5 Concluzii	53
<b>5. Studiul 3. <i>Biomarkeri în cancerul de prostată clinic localizat</i></b>	<b>55</b>
5.1 Obiective	55
5.2 Material și metodă	55
5.3 Rezultate	55
5.3.1 Biomarkeri serici	55
5.3.2 Biomarkeri urinari	60
5.3.3 Biomarkeri tisulari	61
5.4 Discuții	63
5.5. Concluzii	63
<b>6. Studiul 4. <i>Expresia receptorului Urotensin II pe biopsie este asociată cu upstaging-ul și upgrading-ul pacienților cu cancer de prostată după prostatectomia radicală</i></b>	<b>65</b>
6.1 Obiective	65
6.2 Material și metodă	65
6.3 Rezultate	71
6.4 Discuții	74
6.5 Concluzii	74
<b>7. Discuții generale</b>	<b>75</b>
<b>8. Concluzii generale</b>	<b>77</b>
<b>9. Originalitatea tezei și contribuții personale inovative</b>	<b>79</b>
<b>REFERINȚE</b>	<b>81</b>

**CUVINTE CHEIE:** Cancer de prostată, risc scăzut, rezonanță magnetică, biomarkeri, Prolaris, urotensina

## INTRODUCERE

Cancerul de prostată este cel mai frecvent cancer, exceptând cancerurile de piele, și a treia respectiv a doua cauza de deces legată de cancer în Europa și respectiv SUA. La fel ca pentru multe tipuri de cancer, există diferențe remarcabile între prognosticul cancerului de prostată localizat și cel avansat (rata de supraviețuire: 100% versus 31.7%)(1).

Ca rezultat, screeningul antigenului specific prostatic (PSA) a fost promovat pe baza supoziției că detectarea și tratamentul precoce este cea mai bună modalitate de a reduce morbiditatea și mortalitatea legată de boală. S-a observat că incidența cancerului de prostată avansat este scăzută în cadrul populațiilor pentru care s-a făcut screening, iar cancerul de prostată este limitat la organ în 70% la populația cu screening, față de 50% la cea fără screening efectuat. În era screeningului PSA, peste 60% din cancerurile de prostată sunt T1c (nepalpabile, identificate prin biopsie cu ac), iar boala metastatică a trecut de la 19.8% în 1989 la 3.3% în 1998(2-4).

Mulți autori au arătat largă răspândire a cancerului de prostată. Cei mai mulți dintre bărbații vor muri «cu» cancer de prostată, mai degrabă decât «din cauza» lui. 70-80% din bărbații ajunși în a noua decadă au cancer de prostată. În piesele de cistoprostatectomie, cancerul de prostată incidental nu are nici o corelație cu PSA(6). Mai mult, 15.2% din bărbații cu PSA<4ng/ml sunt identificați cu cancer de prostată în urma biopsierii prostatei prin tehnica cu șase fragmente bioptice(7).

Screeningul PSA extins a dus la ridicarea problemei supradiagnosticării pacienților care nu vor avea manifestări clinice ale cancerului de prostată, acest exces variind între 25 și 80% din totalul diagnosticilor de cancer prostatic. Evident, supradiagnosticarea este o chestiune ce implică pe de o parte costuri, iar pe de altă parte anxietate(5, 8).

Pentru a echilibra efectul negativ al supradetectării cancerelor prostatice cu risc scăzut, a fost introdusă spravegherea activă (AS)(9), însă pe de altă parte, prin această metodă de management un număr considerabil de pacienți sunt expuși riscului de a fi subtratați: de fapt, nomogramele existente au demonstrat o acuratețe modestă în rolul de factor predictivi pentru prognosticul pacienților ce urmează programul de supravehere activă(10).

Aceste considerații sunt susținute prin datele obținute de la pacienții cărora li s-a efectuat prostatectomie radicală (RP) chiar dacă întruneau criteriile pentru AS(11, 12). Timpul de la începerea AS până la întreruperea AS este, la momentul actual, cuprins între 2.2 și 5.4 ani;

probabilitățile medii estimate pentru întreruperea AS la 5 și 10 ani sunt de 33% (14-41%) și respectiv 55% (40-59%)(13).

Toate aceste considerații pun în evidență importanța unor noi metode diagnostice cu scopul de a clasifica în mod corect cancerule de prostată, care sunt considerate de „risc scăzut” conform criteriilor clasice: PSA < 10 ng / mL, scor Gleason < 7 și cT1-2a(14).

Principalele metode care încep să atragă atenția în domeniu sunt rezonanța magnetică multiparametrică (mpMRI) și noi biomarkeri.

### ***Studiul 1. Rolul rezonanței magnetice multiparametrice și al scorului PIRADS pentru pacienții cu cancer de prostată eligibili pentru supraveghere activă conform criteriilor PRIAS.***

Scopul primului nostru studiu a fost de a evalua rolul prognostic al mpMRI și al sistemului de raportare de tip PIRADS (Prostate Imaging Reporting and Data System) la pacienții cu boală clinic localizată. Am inclus pacienți eligibili pentru AS conform criteriilor Prostate Cancer Research International Active Surveillance (PRIAS), dar care au fost supuși intervenției de prostatectomie radicală asistată robotic (RARP). Ținta studiului nostru a fost să îmbunătățim acuratețea în selectarea pacienților pentru protocolul AS.

Am inclus 73 pacienți care îndeplineau criteriile PRIAS(15). Acești pacienți nu doreau să adere la protocolul AS și au optat pentru tratamentul chirurgical (RARP), fiind în prealabil informați despre toate opțiunile terapeutice, dezavantajele posibile și semnând consimțământul informat.

Toți pacienții au efectuat mpMRI al prostatei cu RM 1.5-T fără antenă endorectală. Toate studiile au fost realizate în conformitate cu același protocol, folosind următoarele secvențe: secvențe de puls sagitale, coronale și axiale T2-ponderate; secvențe de difuzie în incidență axială; și DCE-MRI (Dynamic enhanced MRI) axiale, obținute înainte, în timpul și după injectarea de gadopentetat.

Pentru fiecare leziune suspectă a fost acordat un scor PIRADS, astfel definind probabilitatea malignității (1=boală clinic semnificativă, foarte improbabil cancer; 2=clinic semnificativă, puțin probabil cancer; 3=clinic semnificativă, cancer echivoc, posibil; 4=clinic semnificativ, probabil cancer; 5=clinic semnificativ foarte probabil cancer). Pentru fiecare pacient, leziunea dominantă a fost determinată pe baza celui mai mare scor PIRADS, iar atunci când mai mult de o leziune aveau același scor, leziunea dominantă a fost determinată de dimensiunea mai mare. Tumora suspectă sau tumorile identificate cu ajutorul mpMRI au fost reprezentate într-o imagine schematică a prostatei cu scopul de a oferi chirurgului localizarea exactă a leziunii în prostată.

Pacienții au fost împărțiți în 2 grupuri: cei cu leziuni PIRADS 2-3 la RM și cei cu leziuni PIRADS 4-5. Datele clinice preoperatorii (vârstă, indice de masă corporală [IMC], nivel PSA, fragmente bioptice pozitive, densitatea PSA [PSAD]) și rezultatele histopatologice definitive (stadializare, upgrading, prognostic nefavorabil) ale pieselor de rezecție obținute în urma RARP au fost comparate între cele două grupuri.

Rezultatele mpMRI au fost corelate cu datele histopatologice. S-a efectuat asocierea între variabilele preoperatorii și rezultatele histopatologice definitive (upgrading, upstaging și prognostic nefavorabil).

Analiza noastră a arătat că PSAD ( $p=0.04$ ) și stadiul histopatologic ( $p=0.03$ ) prezintă asociere semnificativă cu prezența leziunilor PIRADS 4-5. Leziunile PIRADS 4-5 au fost asociate semnificativ cu upstaging ( $p=0.03$ ). Corelația dintre PIRADS 5 și un prognostic nefavorabil a fost semnificativă statistic ( $p=0.02$ ). MpMRI a prezentat o sensibilitate de 92% în a detecta upstaging-ul, 76% pentru upgrading și 76% pentru prognostic nefavorabil. Valoarea predictivă negativă a fost mai mare pentru upstaging decât pentru upgrading sau prognostic nefavorabil (96 vs. 68% și 64%). Regresia logistică multivariată a arătat că PIRADS 5 este factor predictiv pentru upstaging într-o manieră aproape semnificativă ( $p=0.05$ , OR 16.12) și factor predictiv semnificativ pentru prognostic nefavorabil ( $p=0.01$ , OR 6.53).

În concluzie, conform rezultatelor noastre, o leziune PIRADS 4-5 a fost un factor predictiv semnificativ pentru PCa la pacienți care erau eligibili pentru AS după criteriile PRIAS. Scorul PIRADS a fost confirmat ca sistem în măsură să îmbunătățească selecționarea pacienților pentru AS.

## ***Studiul 2. Imagistica prin rezonanță magnetică multiparametrică și examenul extemporaneu pentru predicția upgrading-ului, upstaging-ului și extensiei extraprostatice în cazul pacienților cărora li se practică prostatectomie radicală cu nerve-sparing asistată robotic***

Al doilea studiu a avut ca scop evaluarea rolului mpMRI ca factor predictiv pentru upgrading, upstaging și extindere extraprostatică la pacienții cu PCa de risc scăzut în vederea reducerii marginilor chirurgicale pozitive (PSM) și îmbunătățirea șanselor de nerve-sparing în timpul RARP.

Am extras datele pacienților cărora li s-a efectuat RARP cu nerve-sparing de-a lungul a doi ani consecutivi în cadrul Instituției noastre. Criteriile de includere au fost următoarele: valoarea

inițială a antigenului prostatic specific (PSA)<10ng/ml; stadiul clinic < T3a; scor Gleason (GS) biopsie < 7; mpMRI de prostată efectuată preoperator la Instituția noastră.

Toate leziunile identificate cu ajutorul mpMRI au fost clasificate conform scorului PIRADS. Am considerat leziunea cu cel mai mare scor PIRADS drept leziune indice. Rezultatele MRI au fost reprezentate pe o schemă standard, acesta fiind un instrument util pentru chirurg în măsură să-l ajute în a localiza leziunile.

Toate mpMRI au fost efectuate cu aparatură de 1,5 Tesla. Au fost achiziționate secvențe T2w, DWI și DCE.

Tuturor pacienților incluși li s-a efectuat RARP cu nerve-sparing. În timpul intervenției chirurgicale, după îndepărtarea prosatei, piesa anatomică a fost trimisă pentru examen histopatologic extemporaneu al segmentelor posterolaterale (FSA-frozen section analysis). Chirurgul, în funcție de schema cu localizare furnizată de mpMRI, colorează regiunea prostatei care trebuie să fie supusă examenului histopatologic extemporaneu.

Rezultatele FSA au fost comunicate chirurgului de către uropatologi experimentați: marginile au fost definite ca negative, pozitive focal ( $\leq 1$  mm), pozitive ( $> 1$  mm), sau cu cancer prezent la  $< 1$  mm de marginea marcată color. În caz de margine extins pozitivă s-a efectuat îndepărtarea totală a bandetei vasculo-nervoase (NVB), iar în cazurile cu margine pozitivă focal s-a efectuat doar rezecție parțială a NVB.

Boala a fost definită cu prognostic „nefavorabil” atunci când examenul histopatologic final a prezentat cel puțin un upgrading (GS  $\geq 7$ ) sau un upstaging  $\geq$  pT3a. A fost evaluată asocierea între caracteristicile clinice și PSM, upgrading, upstaging și prognosticul nefavorabil.

În studiu au fost incluși 254 pacienți cărora li s-a efectuat RARP cu nerve-sparing. La examinările mpMRI 96 pacienți (37.8%) au prezentat cel puțin o leziune PIRADS 5, 102 (40.16%) cel puțin o leziune PIRADS 4, 45 (17.72%) o leziune PIRADS 3, și doar o leziune PIRADS 2 la 11 (4.33%). Mediana timpului necesar pentru primirea rezultatelor la examenele extemporanee a fost de 35 de minute.

La examinarea histopatologică finală, 23 (9.05%) de pacienți au prezentat stadiul pT2a, 5 (1.97%) pT2b, 164 (64.57%) pT2c, 56 (22.05%) pT3a, și 6 (2.46%) pT3b. Un pacient (0.39%) a avut GS 5, 124 pacienți (48.82%) au avut GS 6, 125 (49.21%) GS 7, 3 (1.18%) GS 8, și unul (0.39%) GS 9.

Am analizat procentele PSM (marginii chirurgicale pozitive) în funcție de stadiul histopatologic. Din 192 pacienți cu pT2, 44 (22.92%) au avut PSM la examenul extemporaneu și 24 (12.50%) au avut PSM la examenul histopatologic final. Din 62 de pacienți cu pT3, 30 (48.39%) au

avut PSM la examenul extemporanu; dintre ei, 21 au avut margini negative la examenul histopatologic final după radicalizare. Dintre cei 31 de pacienți pT3 cu margini negative la examenul extemporanu, 7 au avut PSM la examenul histopatologic final. Din 198 de pacienți cu leziuni PIRADS 4 sau 5, 64 (32.32%) au avut PSM la examenul extemporanu; dintre aceștia, 28 s-au dovedit a avea leziuni pT3 și 36 pT2. La examenul histopatologic final, 32 de pacienți (16.16%) au avut PSM (15 pT3 și 17 pT2).

Am investigat asocierea dintre caracteristicile preoperatorii ale pacienților care aveau PSM la examenul extemporanu sau la examenul histopatologic final și scorul PIRADS la mpMRI. Scorurile PIRADS mai ridicate s-au dovedit a fi corelate cu probabilitatea de PSM. La analiza univariată s-a obținut semnificație statistică ( $p = 0.01$ ). Luând în considerare asocierea dintre caracteristicile preoperatorii ale pacienților cu pT3, scorul PIRADS și examenul extemporanu, toate analizele univariate au arătat semnificație statistică.

În urma acestei analize, am arătat că pacienții cu leziuni PIRADS 5 la mpMRI au avut o probabilitate mai mare de a prezenta stadiul pT3 (OR 3.41;  $p = .001$  la analiză multivariată).

Am analizat de asemenea asocierea dintre caracteristicile pacienților cu  $GS \geq 7$  și scor PIRADS. Valori PIRADS 4 și 5 au fost corelate cu o probabilitate mai mare de a avea un GS upgrade  $\geq 7$  la examenul histopatologic final atât în urma analizei univariate ( $p=.0003$ ) cât și acelei multivariate ( $p=.02$ ). La fel semnificativă s-a demonstrat a fi asocierea dintre GS la examenul histopatologic final și la examenul extemporanu. De fapt, pacienții cu PSM la examenul extemporanu au avut o probabilitate de aproape 3 ori mai mare de a avea un upgrade al GS la  $\geq 7$  (OR 2.7;  $p = .001$ ).

În final, am evaluat upgrading-ul și upstaging-ul la examenul histopatologic final în corelație cu caracteristicile preoperatorii ale pacienților incluși. Scorurile PIRADS mari s-au dovedit a fi asociate cu o probabilitate mare de upgrading și upstaging (OR 4.72 pentru PIRADS 5); atât la analizele univariate cât și la cele multivariate valorile  $p$  au fost  $<0.05$ .

În concluzie acest studiu a arătat în ce măsură mpMRI și FSA ar putea fi factori predictivi pentru upgrading, upstaging și extindere extraprostatică.

### **Studiul 3. Biomarkeri în cancerul de prostată clinic localizat**

Introducerea biomarkerilor pentru diagnosticul și managementul bolii a reprezentat un major pas înainte în oncologie(16). În ceea ce privește cancerul de prostată, antigenul prostatic specific (PSA) a reprezentat cheia de boltă pentru diagnosticul și managementul bolii: ERSPC (the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer) a arătat că screeningul bazat pe PSA



efectuat la bărbații în vârstă a fost asociat cu o reducere de 29% a cancerului prostatic. Pe de altă parte, 40% din bărbații supuși screeningului sunt expuși riscului de a fi tratați pentru o boală biologic indolentă care altfel nu le-ar afecta speranța de viață(17).

În ciuda utilizării meticuloase a nomogramelor clinice disponibile, stadializarea preoperatorie ar putea subestima stadiul histopatologic, iar scorul Gleason obținut pe fragmentele bioptice prostatice subestimează scorul Gleason calculat în urma analizei piesei de rezecție după prostatectomie în peste 66% din pacienți(18). Pentru a îmbunătăți acuratețea diagnostică, au fost dezvoltati mulți biomarkeri noi care să furnizeze informații valoroase în ceea ce privește prognosticul. Aceștia pot fi împărțiți după cum urmează: biomarkeri serici (pe lângă PSA, indice de sănătate a prostatei, tabelul celor patru kalikreine, sarcozina, microARN); biomarkeri urinari (antigenul 3 al cancerului de prostată și genele fuzionate TMPRSS2-ERG); biomarkeri tisutali (Oncotype DX, Prolaris, teste de metilare)(19).

#### ***Studiul 4. Expresia receptorului Urotensin II pe biopsie este asociată cu upstaging-ul și upgrading-ul pacienților cu cancer de prostată după prostatectomia radicală***

Recent, receptorul pentru urotensină II (UTII-R) a fost studiat ca marker tisutal pentru upstaging și upgrading după prostatectomie radicală(20). Urotensina II (UTII) este un agent vasoconstrictor care leagă receptorul pentru urotensină II (UTII-R) și este capabil să stimuleze proliferarea carcinomului cortico-adrenal(21). În 3 linii diferite cu celule canceroase prostatice, UTII-R a fost puternic exprimat în celulele canceroase androgen-dependente, în timp ce, exprimarea UTII-R a fost redusă în celulele canceroase prostatice androgen-independente; mai mult, un scor Gleason mai mare și un stadiu mai avansat au fost asociate cu o expresie mai scăzută a UTII-R atât pe elementele bioptice cât și pe piesele de rezecție post-prostatectomie(22).

Un studiu multicentric retrospectiv recent a inclus 58 pacienți cu scor Gleason biptic <8. A fost evaluată expresia UTII-R pe fragmentele bioptice prin imunohistochimie și a fost testat ca factor predictiv pentru upgrading Gleason și upstaging în analiză multivariată incluzând PSA, densitatea PSA, vârsta, procentajul de cancer din fragmentele bioptice pozitive, stadiul clinic și scorul Gleason biptic; a fost construit un model cu ajutorul unei proceduri stepwise forward. Expresia UTII-R s-a dovedit a fi factor predictiv pentru upgrading-ul scorului Gleason și pentru upstaging histopatologic(20).

## REFERINTE

1. Esserman L, Shieh Y, Thompson I. Rethinking screening for breast cancer and prostate cancer. *JAMA*. 2009;302(15):1685-92.
2. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *JAMA*. 1993;270(8):948-54.
3. Roehl KA, Han M, Ramos CG, Antenor JA, Catalona WJ. Cancer progression and survival rates following anatomical radical retropubic prostatectomy in 3,478 consecutive patients: long-term results. *J Urol*. 2004;172(3):910-4.
4. La Rochelle J, Amling CL. Prostate cancer screening: what we have learned from the PLCO and ERSPC trials. *Curr Urol Rep*. 2010;11(3):198-201.
5. Sakr WA, Grignon DJ, Haas GP, Heilbrun LK, Pontes JE, Crissman JD. Age and racial distribution of prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur Urol*. 1996;30(2):138-44.
6. Saad M, Abdel-Rahim M, Abol-Enein H, Ghoneim MA. Concomitant pathology in the prostate in cystoprostatectomy specimens: a prospective study and review. *BJU Int*. 2008;102(11):1544-50.
7. Ahyai SA, Graefen M, Steuber T, Haese A, Schlomm T, Walz J, et al. Contemporary prostate cancer prevalence among T1c biopsy-referred men with a prostate-specific antigen level  $\leq$  4.0 ng per milliliter. *Eur Urol*. 2008;53(4):750-7.
8. Draisma G, Etzioni R, Tsodikov A, Mariotto A, Wever E, Gulati R, et al. Lead time and overdiagnosis in prostate-specific antigen screening: importance of methods and context. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(6):374-83.
9. Klotz L. Prostate cancer overdiagnosis and overtreatment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2013;20(3):204-9.
10. Wang SY, Cowan JE, Cary KC, Chan JM, Carroll PR, Cooperberg MR. Limited ability of existing nomograms to predict outcomes in men undergoing active surveillance for prostate cancer. *BJU Int*. 2014;114(6b):E18-24.
11. Mitsuzuka K, Narita S, Koie T, Kaiho Y, Tsuchiya N, Yoneyama T, et al. Pathological and biochemical outcomes after radical prostatectomy in men with low-risk prostate cancer meeting the Prostate Cancer International: Active Surveillance criteria. *BJU Int*. 2013;111(6):914-20.
12. Beauval JB, Ploussard G, Soulie M, Pfister C, Van Agt S, Vincendeau S, et al. Pathologic findings in radical prostatectomy specimens from patients eligible for active surveillance with highly selective criteria: a multicenter study. *Urology*. 2012;80(3):656-60.
13. Thomsen FB, Brasso K, Klotz LH, Roder MA, Berg KD, Iversen P. Active surveillance for clinically localized prostate cancer--a systematic review. *J Surg Oncol*. 2014;109(8):830-5.
14. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, et al. EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. *Eur Urol*. 2014;65(1):124-37.
15. van den Bergh RC, Vasarainen H, van der Poel HG, Vis-Maters JJ, Rietbergen JB, Pickles T, et al. Short-term outcomes of the prospective multicentre 'Prostate Cancer Research International: Active Surveillance' study. *BJU Int*. 2010;105(7):956-62.
16. Prensner JR, Rubin MA, Wei JT, Chinnaiyan AM. Beyond PSA: the next generation of prostate cancer biomarkers. *Sci Transl Med*. 2012;4(127):127rv3.
17. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Zappa M, Nelen V, et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet*. 2014;384(9959):2027-35.
18. Caster JM, Falchook AD, Hendrix LH, Chen RC. Risk of Pathologic Upgrading or Locally Advanced Disease in Early Prostate Cancer Patients Based on Biopsy Gleason Score and PSA: A Population-Based Study of Modern Patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015;92(2):244-51.
19. Ferro M, Buonerba C, Terracciano D, Lucarelli G, Cosimato V, Bottero D, et al. Biomarkers in localized prostate cancer. *Future Oncol*. 2016;12(3):399-411.

20. De Cobelli O, Buonerba C, Terracciano D, Bottero D, Lucarelli G, Bove P, et al. Urotensin II receptor on preoperative biopsy is associated with upstaging and upgrading in prostate cancer. *Future Oncol.* 2015;11(22):3091-8.
21. Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Arihara Z, Noshiro T, Hayashi Y, et al. Expression of urotensin II and its receptor in adrenal tumors and stimulation of proliferation of cultured tumor cells by urotensin II. *Peptides.* 2003;24(2):301-6.
22. Grieco P, Franco R, Bozzuto G, Toccaceli L, Sgambato A, Marra M, et al. Urotensin II receptor predicts the clinical outcome of prostate cancer patients and is involved in the regulation of motility of prostate adenocarcinoma cells. *J Cell Biochem.* 2011;112(1):341-53.

---

THESIS ABSTRACT

# New diagnostic tools for the management of low-risk prostate cancer

---

Doctorand **Ottavio de Cobelli**

---

Conducător de doctorat Prof.dr. **Ioan Coman**

---

Cluj-Napoca 2016



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
**IULIU HAȚIEGANU**  
CLUJ-NAPOCA

# TABLE OF CONTENTS

<b>INTRODUCTION</b>	11
<b>CURRENT STATE OF KNOWLEDGE ABOUT THE SUBJECT OF THE THESIS</b>	13
<b>1. Low-risk prostate cancer</b>	17
<b>2. Multiparametric magnetic resonance imaging</b>	21
<b>3. Biomarkers</b>	25
3.1 Circulating biomarkers	25
3.2 Urine biomarkers	26
3.3 Tissue biomarkers	27
<b>PERSONAL CONTRIBUTION</b>	29
<b>1. Work hypothesis</b>	31
<b>2. Methodology</b>	31
<b>3. Study 1. <i>Role of multi-parametric magnetic resonance image and PIRADS score in patients with prostate cancer eligible for active surveillance according prias criteria.</i></b>	33
3.1 Objectives	33
3.2 Material and methods	33
3.3 Results	35
3.4 Discussion	36
3.5 Conclusions	38
<b>4. Study 2. <i>Multiparametric magnetic resonance imaging and frozen-section analysis efficiently predict upgrading, upstaging and extraprostatic extension in patients undergoing nerve-sparing robotic-assisted radical prostatectomy.</i></b>	39
4.1 Objectives	39
4.2 Material and methods	39
4.3 Results	41
4.4 Discussion	52
4.5 Conclusions	53
<b>5. Study 3. <i>Biomarkers in clinically localized prostate cancer.</i></b>	55
5.1 Objectives	55
5.2 Material and methods	55
5.3 Results	55
5.3.1 Serum biomarkers	55
5.3.2 Urine biomarkers	60

5.3.3 Tissue biomarkers	61
5.4 Discussion	63
5.5. Conclusions	63
<b>6. Study 4. <i>Urotensin II receptor expression on biopsy is associated with upstaging and upgrading in prostate cancer patients following radical prostatectomy.</i></b>	65
6.1 Objectives	65
6.2 Material and methods	65
6.3 Results	71
6.4 Discussion	74
6.5 Conclusions	74
<b>7. General discussion</b>	75
<b>8. General conclusions</b>	77
<b>9. Originality and innovative personal contributions</b>	79
<b>REFERENCES</b>	81

**KEYWORDS:** Prostate cancer, low-risk, magnetic resonance imaging, biomarkers, Prolaris, Urotensin

## **INTRODUCTION**

Prostate cancer is the most common non-skin cancer and the third and second most common cause of death by cancer in Europe and USA respectively. As for many cancers, there are remarkable differences between outcomes of localized and advanced prostate cancer (survival rate: 100% versus 31.7%)(1).

As a results, prostate-specific antigen (PSA) screening has been promoted on the assumption that early detection and treatment is the best way to reduce disease associated morbidity and mortality. The incidence of advanced prostate cancer has been seen to be decreased in screened population, and prostate cancer is organ confined in 70% of the screened population vs. 50% in non-screened. More than 60% prostate cancers in the PSA screening era is T1c (not palpable, identified by needle biopsy), and metastatic disease has shifted from 19.8% in 1989 to 3.3% in 1998(2-4).

Many authors showed that prostate cancer is a ubiquitous disease. Most of the men will die «with» prostate cancer, rather than «because of it». 70-80% of men in their eighties have prostate cancer(5). In cystoprostatectomy specimens, incidental prostate cancer has no correlation with PSA(6). Moreover, 15.2% of men with PSA < 4 ng/ml have prostate cancer at sextant biopsy(7).

Extensive PSA screening brought to the problem of the overdiagnosis of patients who would not have clinical manifestation of prostate cancer, which ranges from 25% to 80% of prostate cancer diagnosis. Obviously, overdiagnosis is an issue in terms of costs and anxiety(5, 8).

In order to balance the negative effect of overdetection of low-risk prostate cancer, active surveillance (AS) has been introduced(9), but this kind of management still exposes a considerable number of men to the risk of undertreatment: in fact, existing nomograms proved only modest accuracy in predicting the outcomes of patients undergoing AS(10).

These considerations are supported by the data obtained from patients who underwent radical prostatectomy (RP) even if meeting criteria for AS(11, 12). The time from entry to discontinued AS is currently between 2.2 and 5.4 years; estimated average probabilities of discontinuing AS at 5 and 10 years are 33% (14–41%) and 55% (40–59%), respectively(13).

All these considerations put in evidence the importance of new diagnostic tools aiming to correctly classify prostate cancers, which are considered “low-risk” according to the classic criteria: PSA < 10 ng / mL, Gleason score < 7 and cT1-2a(14).

The main tools that are gaining attention in this field are multiparametric magnetic resonance imaging (mpMRI) and novel biomarkers.

***Study 1. Role of multi-parametric magnetic resonance image and PIRADS score in patients with prostate cancer eligible for active surveillance according prias criteria.***

The aim of our first study was to evaluate the prognostic role of mpMRI and Prostate Imaging Reporting and Data System (PIRADS) score in patients with clinically localized disease. We included patients eligible for AS according to the Prostate Cancer Research International Active Surveillance (PRIAS) criteria, who underwent robot assisted radical prostatectomy (RARP). Aim of the study was to improve accuracy for selecting patients for AS protocol.

We included 73 patients fulfilling the PRIAS criteria(15). These patients were unwilling to comply with the AS protocol and opted for surgical treatment (RARP) after being informed about all treatment options, the possible drawbacks, and giving signed informed consent.

All patients underwent mpMRI of the prostate with a 1.5-T MR imager without endorectal coil. All studies were performed according to the same protocol, using the following sequences: the pulse sequences used were sagittal, coronal, and axial T2-weighted; axial diffusion-weighted; and axial DCEI obtained before, during, and after injection of gadopentetate.

For each suspect lesion a PIRADS score was assigned, thus defining the likelihood of malignancy (1 = clinically significant disease highly unlikely; 2 = clinically significant cancer unlikely; 3 = clinically significant cancer equivocal; 4 = clinically significant cancer likely; 5 = clinically significant cancer highly likely). The dominant lesion for each patient was determined on the basis of its higher PIRADS score, and when more than one lesion presented the same score, the dominant lesion was determined by higher dimension. The suspect tumor or tumors identified by mpMRI were represented on a schematic image of the prostate, in order to provide the surgeon with the exact location of the lesion in the context of the prostate.

Patients were divided into 2 groups: those with PIRADS 2-3 lesions at MRI, and those with PIRADS 4–5 lesions. Preoperative clinical data (age, body mass index [BMI], PSA level, positive core biopsy, PSA density [PSAD]) and definitive pathological findings (staging, upgrading, unfavorable disease) from RARP specimens were compared between the two groups.



MpMRI findings were correlated with pathological data. Associations between preoperative variables and definitive pathology (upgrading, upstaging and unfavorable disease) were assessed.

Our analysis showed that PSAD ( $p = 0.04$ ) and pathological stage ( $p = 0.03$ ) were significantly associated with the presence of PIRADS 4-5 lesions. PIRADS 4-5 lesions were significantly associated with upstaging ( $p = 0.03$ ). Correlation between PIRADS 5 and unfavorable disease was statistically significant ( $p = 0.02$ ). MpMRI showed 92% sensitivity in detecting upstaging, 76% for upgrading and 76% for unfavorable disease. Negative predictive value was higher for upstaging than for upgrading or unfavorable disease (96 vs. 68% and 64%). Multivariate logistic regression revealed that PIRADS 5 was a nearly significant predictor of upstaging ( $p = 0.05$ , OR 16.12), and a significant predictor for unfavorable disease ( $p = 0.01$ , OR 6.53).

In conclusion, according to our results, a PIRADS 4-5 lesion predicted significant PCa in patients who were eligible for AS according to PRIAS criteria. PIRADS score was confirmed as a valid system to improve the selection of patients for AS.

***Study 2. Multiparametric magnetic resonance imaging and frozen-section analysis efficiently predict upgrading, upstaging and extraprostatic extension in patients undergoing nerve-sparing robotic-assisted radical prostatectomy.***

The second study aimed to evaluate the role of mpMRI in predicting upgrading, upstaging and extraprostatic extension in patients with low-risk PCa in order to reduce positive surgical margins (PSM) and improve nerve-sparing during RARP.

We retrieved the records of patients undergoing nerve-sparing RARP in two consecutive years at our Institution. Inclusion criteria were: initial prostatic specific antigen (PSA) < 10 ng/ml; clinical stage < T3a; biopsy GS < 7; prostate mpMRI performed pre-operatively at our Institution.

All the lesions identified by mpMRI were scored according to PIRADS score. We considered the lesion with the highest PIRADS score as index lesion. The MRI results were reported on a standard scheme, a useful tool for the surgeon to localize the lesions.

All mpMRIs were performed with a 1,5 Tesla device. T2w, DWI and DCE sequences were obtained.

All the included patients underwent nerve-sparing RARP. During surgery, after the removal of the prostate, the specimen was sent for FSA of the posterolateral aspects. The surgeon, according to the localization scheme provided by the mpMRI, inked the region of the prostate that had to be submitted to frozen section analysis (FSA).

FSA results were reported to the surgeon by experienced uropathologists: margins were defined as negative, focally positive ( $\leq 1$  mm), positive ( $> 1$  mm), or with cancer present at  $< 1$  mm from the inked margin. In case of extensively positive margin, total NVB removal was performed; in case of focally positive margin, only partial resection of the NVB was performed.

The disease was defined “unfavorable” when final pathology reported at least an upgrading (GS  $\geq 7$ ) or an upstaging  $\geq$  pT3a. Association between clinical features and PSM, upgrading, upstaging and presence of unfavorable disease has been evaluated.

254 patients who underwent nerve-sparing RARP were included. Preoperative mpMRI showed at least one PIRADS 5 lesion in 96 patients (37.8%), at least one PIRADS 4 in 102 (40.16%), one PIRADS 3 in 45 (17.72%), and only a PIRADS 2 lesion in 11 (4.33%). Median time to receive FSA results was 35 minutes.

At final pathology, staging was pT2a in 23 (9.05%) patients, pT2b in 5 (1.97%), pT2c in 164 (64.57%), pT3a in 56 (22.05%), and pT3b in 6 (2.46%). One patient (0.39%) had GS 5, 124 patients (48.82%) had GS 6, 125 (49.21%) GS 7, 3 (1.18%) GS 8, and one (0.39%) GS 9.

We analyzed PSM rates according to pathological stage. Of 192 patients with pT2 disease, 44 (22.92%) had PSM at FSA and 24 (12.50%) had PSM at final pathology. Of 62 patients with pT3 disease, 30 (48.39%) had PSM at FSA; of them, 21 had negative margins at final pathology after radicalization. Of the 31 pT3 patients with negative margins at FSA, 7 had PSM at final pathology. Of 198 patients with PIRADS 4 or 5 lesions, 64 (32.32%) had PSM at FSA; of them, 28 resulted to be pT3 and 36 pT2. 32 patients (16.16%) had PSM at final pathology (15 pT3 and 17 pT2).

We investigated the association between the pre-operative clinical features of patients who had PSM at FSA or at final pathology and PIRADS score at mpMRI. Higher PIRADS scores resulted to be related to the probability of PSM. Statistical significance was present at univariate analysis ( $p = 0.01$ ). Considering the association between the pre-operative features of patients with pT3 disease, PIRADS score and FSA, all univariate analyses demonstrated statistical significance.

From this analysis, we showed that patients with PIRADS 5 lesions at mpMRI had higher probability to present with pT3 disease (OR 3.41;  $p = .001$  at multivariate analysis).

We also analyzed the association between features of patients with GS  $\geq 7$  and PIRADS score. PIRADS score 4 and 5 were related to the higher probability of a GS upgrade to  $\geq 7$  at final pathology both at univariate ( $p = .0003$ ) and multivariate analyses ( $p = .02$ ). Similarly significant is the association between GS at final pathology and FSA. In fact, patients with PSM at FSA had almost three times the probability to have a GS upgrade to  $\geq 7$  (OR 2.7;  $p = .001$ ).

Finally, we evaluated upgrading and upstaging at final pathology in correlation with the pre-operative features of the included patients. Higher PIRADS scores demonstrated to be related with high probability of upgrading and upstaging (OR 4.72 for PIRADS 5); both at univariate and multivariate analysis,  $p$  value was  $< 0.05$ .

In conclusion this study showed how mpMRI and FSA could predict upgrading, upstaging and extraprostatic extension.

### ***Study 3. Biomarkers in clinically localized prostate cancer.***

The introduction of biomarkers for disease diagnosis and management represented a major breakthrough in oncology(16). With regards to prostate cancer, prostate specific antigen (PSA) represented a cornerstone for the diagnosis and management of the disease: the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) showed that PSA-based screening in senior men was associated with a 29% prostate cancer reduction. On the other hand, 40% of screened men are at risk to be treated for a biologically indolent disease that would not affect their life expectancy(17).

Despite meticulous use of the available clinical nomograms, preoperative staging may underestimate pathologic stage and prostate biopsy Gleason score underestimates prostatectomy specimen Gleason score in up to 66% patients(18). In order to improve diagnostic accuracy, many novel biomarkers have been developed to provide valuable prognostic information. They can be distinguished as follows: circulating biomarkers (besides PSA, prostate health index, the four kallikrein panel, sarcosine, microRNAs); urine biomarkers (prostate cancer antigen 3 and the fusion gene TMPRSS2-ERG); tissue biomarkers (Oncotype DX, Prolaris, methylation assays)(19).

### ***Study 4. Urotensin II receptor expression on biopsy is associated with upstaging and upgrading in prostate cancer patients following radical prostatectomy.***

Most recently, urotensin II receptor (UTII-R) has been explored as a tissue marker of upstaging and upgrading following radical prostatectomy(20). Urotensin II (UTII) is a vasoconstrictive agent that binds to urotensin II receptor (UTII-R) and is able to stimulate human cortico-adrenal carcinoma proliferation(21). In 3 different prostate cancer cell lines, UTII-R was highly expressed in the androgen-dependent prostate cancer cells, while a low expression was reported in androgen-independent prostate cancer cell lines; furthermore, a higher Gleason score

and a more advanced stage were associated with a lower UTII-R expression on both biopsy and radical prostatectomy specimens(22).

A recent multicentric retrospective study included 58 patients with biopsy Gleason score < 8. UTII-R expression was evaluated on biopsy by immunohistochemistry and was tested as a predictor of Gleason upgrading and upstaging at multivariate analysis including PSA, PSA density, age, percentage of cancer involvement in positive cores, percentage of positive biopsy cores, clinical stage and biopsy Gleason score; a model was built using a stepwise forward procedure. UTII-R expression resulted to be a predictive factor for Gleason score upgrading and pathologic upstaging(20).

## REFERENCES

1. Esserman L, Shieh Y, Thompson I. Rethinking screening for breast cancer and prostate cancer. *JAMA*. 2009;302(15):1685-92.
2. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW. Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. *JAMA*. 1993;270(8):948-54.
3. Roehl KA, Han M, Ramos CG, Antenor JA, Catalona WJ. Cancer progression and survival rates following anatomical radical retropubic prostatectomy in 3,478 consecutive patients: long-term results. *J Urol*. 2004;172(3):910-4.
4. La Rochelle J, Amling CL. Prostate cancer screening: what we have learned from the PLCO and ERSPC trials. *Curr Urol Rep*. 2010;11(3):198-201.
5. Sakr WA, Grignon DJ, Haas GP, Heilbrun LK, Pontes JE, Crissman JD. Age and racial distribution of prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur Urol*. 1996;30(2):138-44.
6. Saad M, Abdel-Rahim M, Abol-Enein H, Ghoneim MA. Concomitant pathology in the prostate in cystoprostatectomy specimens: a prospective study and review. *BJU Int*. 2008;102(11):1544-50.
7. Ahyai SA, Graefen M, Steuber T, Haese A, Schlomm T, Walz J, et al. Contemporary prostate cancer prevalence among T1c biopsy-referred men with a prostate-specific antigen level < or = 4.0 ng per milliliter. *Eur Urol*. 2008;53(4):750-7.
8. Draisma G, Etzioni R, Tsodikov A, Mariotto A, Wever E, Gulati R, et al. Lead time and overdiagnosis in prostate-specific antigen screening: importance of methods and context. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(6):374-83.
9. Klotz L. Prostate cancer overdiagnosis and overtreatment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2013;20(3):204-9.
10. Wang SY, Cowan JE, Cary KC, Chan JM, Carroll PR, Cooperberg MR. Limited ability of existing nomograms to predict outcomes in men undergoing active surveillance for prostate cancer. *BJU Int*. 2014;114(6b):E18-24.
11. Mitsuzuka K, Narita S, Koie T, Kaiho Y, Tsuchiya N, Yoneyama T, et al. Pathological and biochemical outcomes after radical prostatectomy in men with low-risk prostate cancer meeting the Prostate Cancer International: Active Surveillance criteria. *BJU Int*. 2013;111(6):914-20.
12. Beauval JB, Ploussard G, Soulie M, Pfister C, Van Agt S, Vincendeau S, et al. Pathologic findings in radical prostatectomy specimens from patients eligible for active surveillance with highly selective criteria: a multicenter study. *Urology*. 2012;80(3):656-60.
13. Thomsen FB, Brasso K, Klotz LH, Roder MA, Berg KD, Iversen P. Active surveillance for clinically localized prostate cancer--a systematic review. *J Surg Oncol*. 2014;109(8):830-5.
14. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, et al. EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. *Eur Urol*. 2014;65(1):124-37.

15. van den Bergh RC, Vasarainen H, van der Poel HG, Vis-Maters JJ, Rietbergen JB, Pickles T, et al. Short-term outcomes of the prospective multicentre 'Prostate Cancer Research International: Active Surveillance' study. *BJU Int.* 2010;105(7):956-62.
16. Prensner JR, Rubin MA, Wei JT, Chinnaiyan AM. Beyond PSA: the next generation of prostate cancer biomarkers. *Sci Transl Med.* 2012;4(127):127rv3.
17. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Zappa M, Nelen V, et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet.* 2014;384(9959):2027-35.
18. Caster JM, Falchook AD, Hendrix LH, Chen RC. Risk of Pathologic Upgrading or Locally Advanced Disease in Early Prostate Cancer Patients Based on Biopsy Gleason Score and PSA: A Population-Based Study of Modern Patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2015;92(2):244-51.
19. Ferro M, Buonerba C, Terracciano D, Lucarelli G, Cosimato V, Bottero D, et al. Biomarkers in localized prostate cancer. *Future Oncol.* 2016;12(3):399-411.
20. De Cobelli O, Buonerba C, Terracciano D, Bottero D, Lucarelli G, Bove P, et al. Urotensin II receptor on preoperative biopsy is associated with upstaging and upgrading in prostate cancer. *Future Oncol.* 2015;11(22):3091-8.
21. Takahashi K, Totsune K, Murakami O, Arihara Z, Noshiro T, Hayashi Y, et al. Expression of urotensin II and its receptor in adrenal tumors and stimulation of proliferation of cultured tumor cells by urotensin II. *Peptides.* 2003;24(2):301-6.
22. Grieco P, Franco R, Bozzuto G, Toccaceli L, Sgambato A, Marra M, et al. Urotensin II receptor predicts the clinical outcome of prostate cancer patients and is involved in the regulation of motility of prostate adenocarcinoma cells. *J Cell Biochem.* 2011;112(1):341-53.