



FN MOTOL



# Molekulární markery a jejich klinické využití u pacientů s karcinomem prostaty

Štěpán Veselý

# Biomarkery a karcinom prostaty

## predikce pozitivní biopsie

- redukce zbytečných biopsií
- nízký počet nediodagnostikovaných CaP

## predikce high-risk PCa

- aktivní sledování
- chirurgie
- radiační léčba
- adjuvantní léčba

## predikce progresse

- adjuvantní léčba
- časný odhalení recidivy
- odpověď na léčbu

Diagnostika

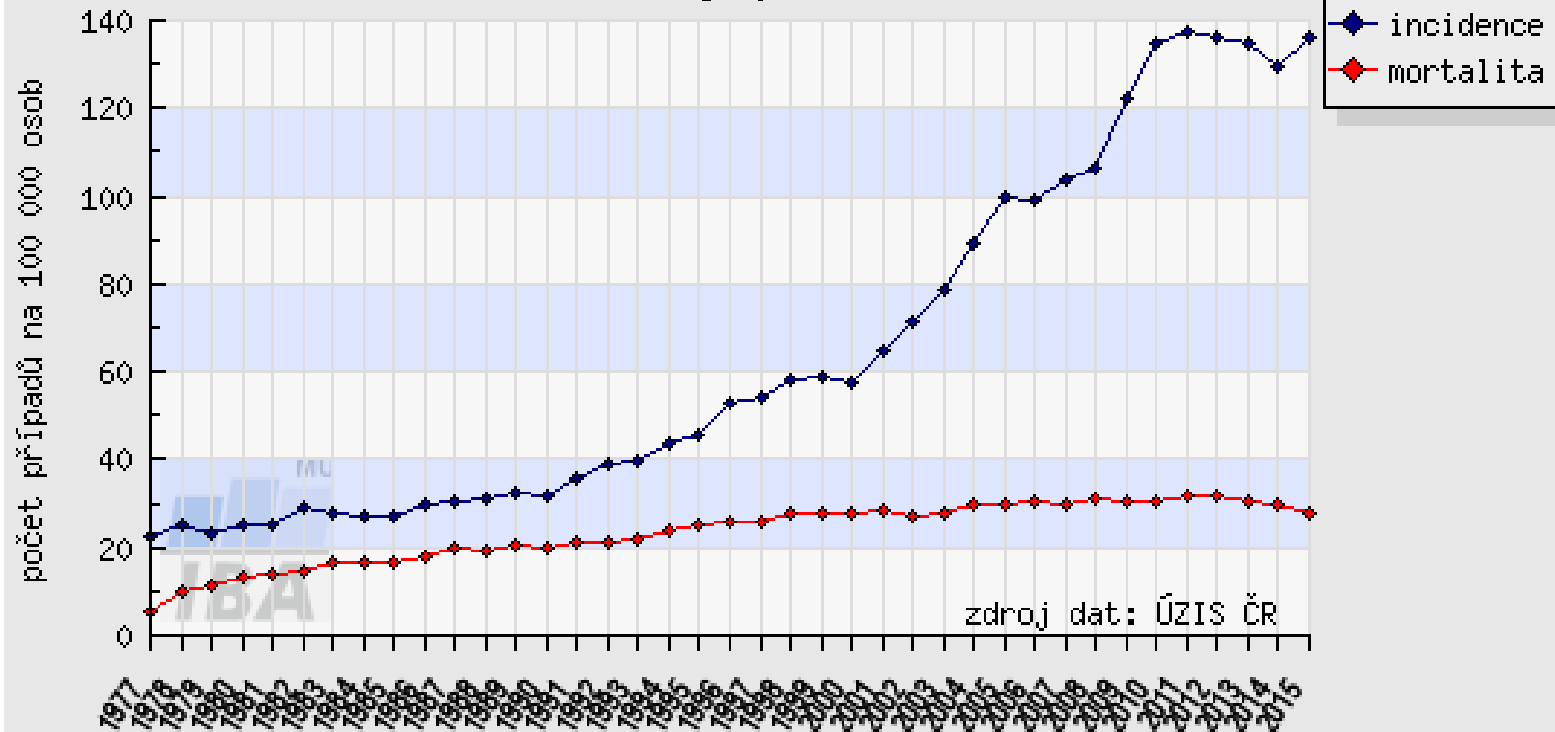
Volba léčby

Monitorace efektu  
léčby

# Incidence karcinomu prostaty

C61 - ZN předstojně žlázy - prostaty, muži

vývoj v čase



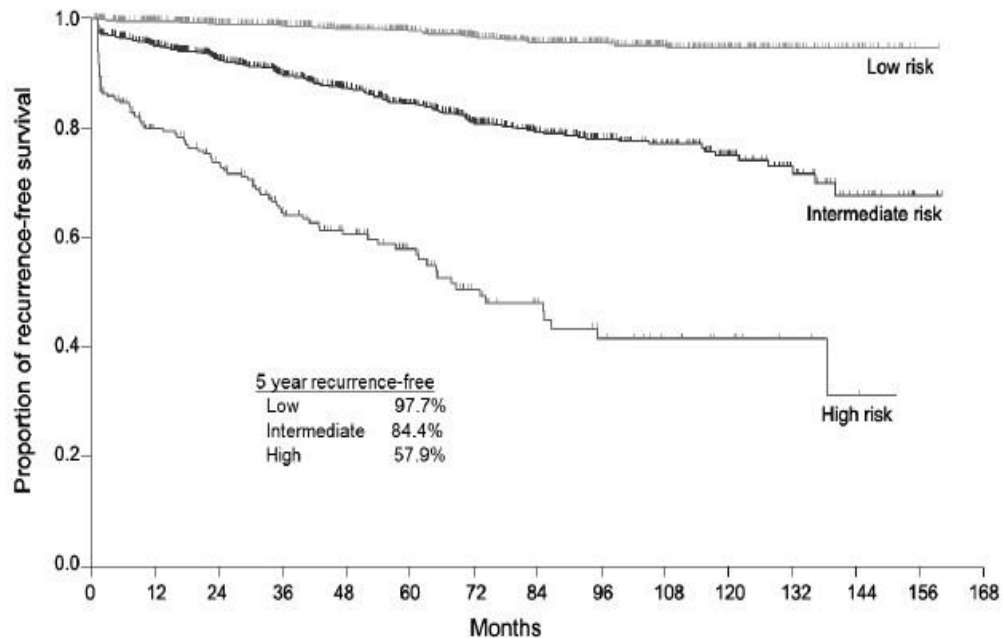
zdroj dat: ÚZIS ČR

analyzovaná data: N(inc)=127427, N(mor)=45756

<http://www.uroweb.cz>

# Recidiva po primární léčbě

up to **35%** during 10 years



Number at risk

<u>Low</u>	1251	1123	995	901	792	674	547	430	335	251	164	87	38	3
<u>Intermediate</u>	1298	1081	892	751	614	483	364	275	200	143	90	51	24	2
<u>High</u>	263	167	138	102	77	58	41	32	23	17	11	6	3	

*The New York Times*

PSA testing saves few lives and leads to risky and unnecessary treatments for large numbers of men.



Surgery for early prostate cancer doesn't save lives

*The Washington Post*

Healthy men don't need PSA testing for prostate cancer, panel says

# Biomarkery a karcinom prostaty

Krev



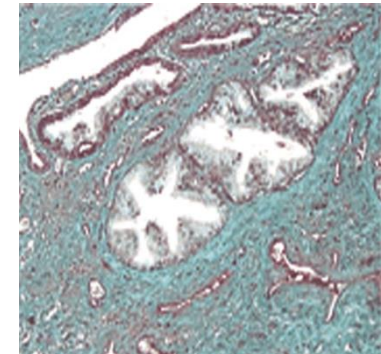
- PSA
- Human Kallikrein 2
- Urokinase plasminogen activator
- Transforming Growth factor  $\beta$ 1
- Endoglin
- Spondin

Moč



- PCA3
- TMPRSS2-ERG fusion
- Glutathione-S-transferase P1
- Other methylation specific PCR assays
- Urinary psa ratio
- Annexin A3
- MMP9
- EN-2
- Proteomics

Tkáň



- hK2
- PCMA
- AMACR
- Ki-67
- Gene fusions
- PTEN
- P53
- SPINK1/TATI
- MSMB, EZH2
- Heat shock proteins
- DNA methylation
- HER2

**kombinace markerů**



**zvýšení specificity stanovení agresivity**

# Biomarkery v krvi

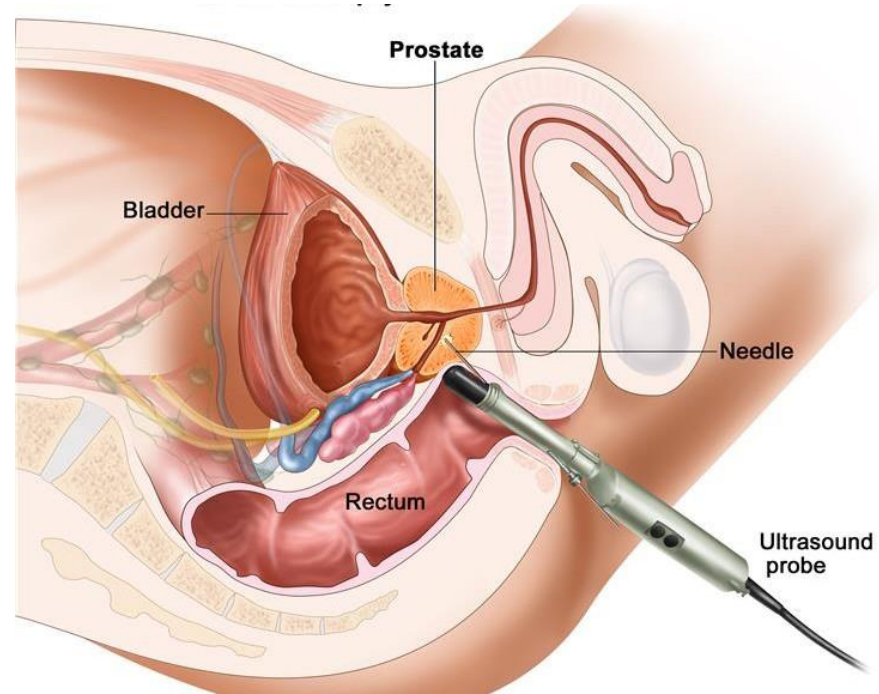


# PSA a riziko PCa

<b>PSA level (ng/mL)</b>	<b>Risk of PCa (%)</b>
0.0-0.5	6.6
0.6-1.0	10.1
1.1-2.0	17.0
2.1-3.0	23.9
3.1-4.0	26.9



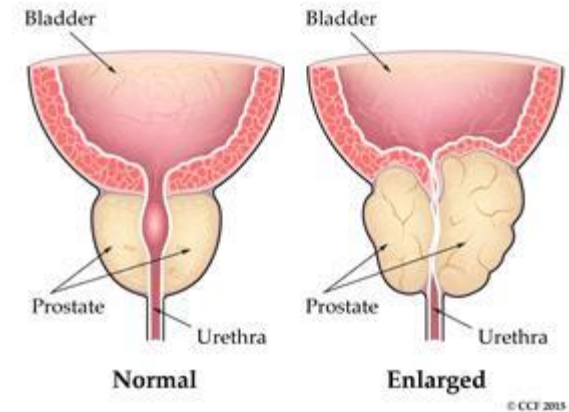
# PSA a biopsie



- 1. biopsie - až **50%** negativní
- 2. biopsie – **65** až **90%** negativní

# PSA vs objem prostaty a čas

- věkově specifický PSA
- PSA densita (objem, TZ, 0.15)
- PSA velocita (0.75ng/ml/rok)
- PSA doubling time



# Nedetekovatelné PSA

## ■ Detekční limit?

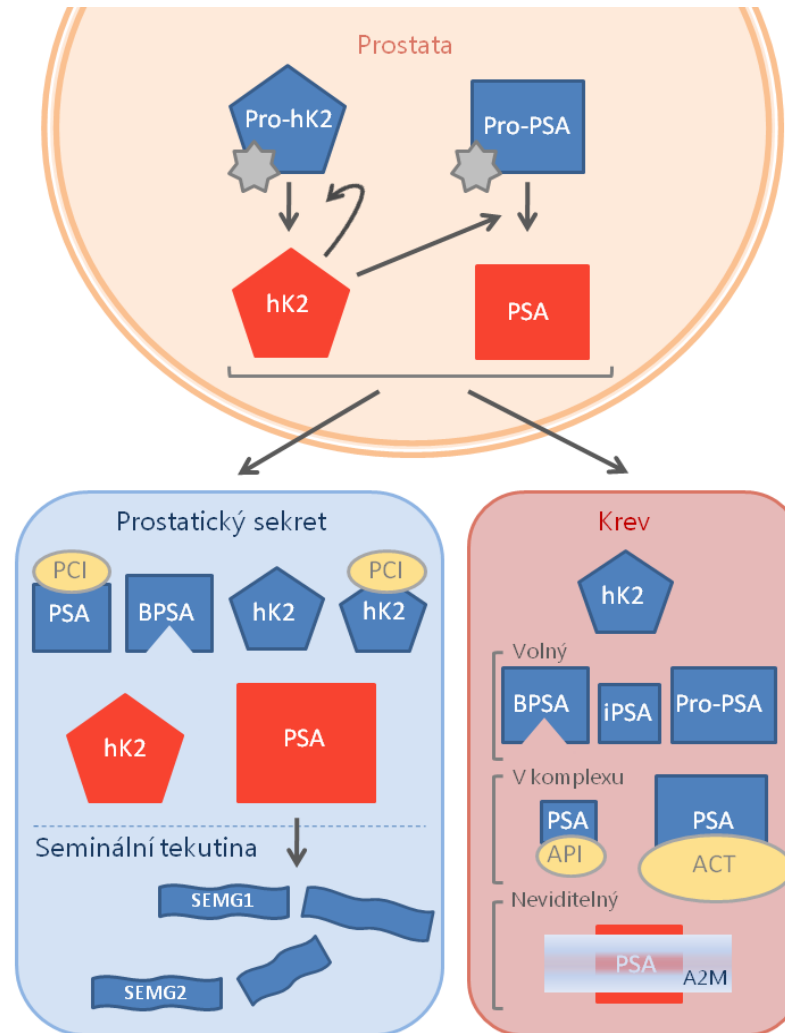
1990	0.6 ng/ml
US-PSA	0.1 ng/ml
2000	0.01 – 0.001 ng/ml



## ■ Většinou PSA < 0.01 ng/ml

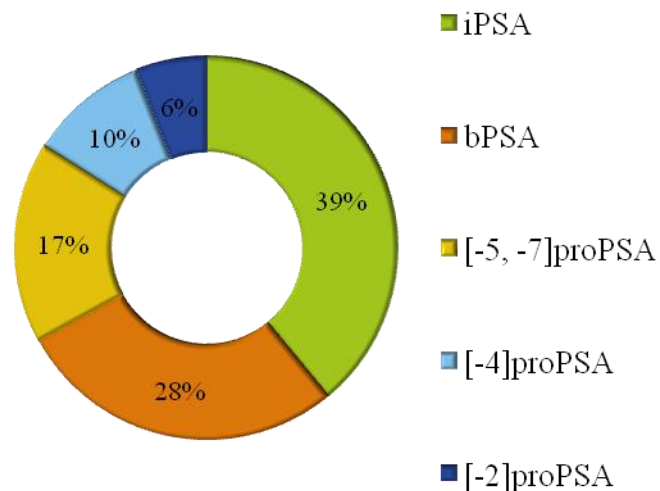
*Shen et al., Urol 2005  
Eisenberg et al., Eur Urol 2010  
Hong et al., Urol 2010*

# PSA



# free PSA

- FDA schválená metoda doplňkového testu u **PSA 4-10 ng/ml**
- free PSA < 25% zvyšuje specificitu testu o 20% (*Catalona*)
- studie s 12-vzorkovými biopsiemi nižší benefit (cca 10%)



*Catalona WJ, 1998  
Canto EI, 2004*

# PSA a další kallikreinové markery

**PSA + fPSA**

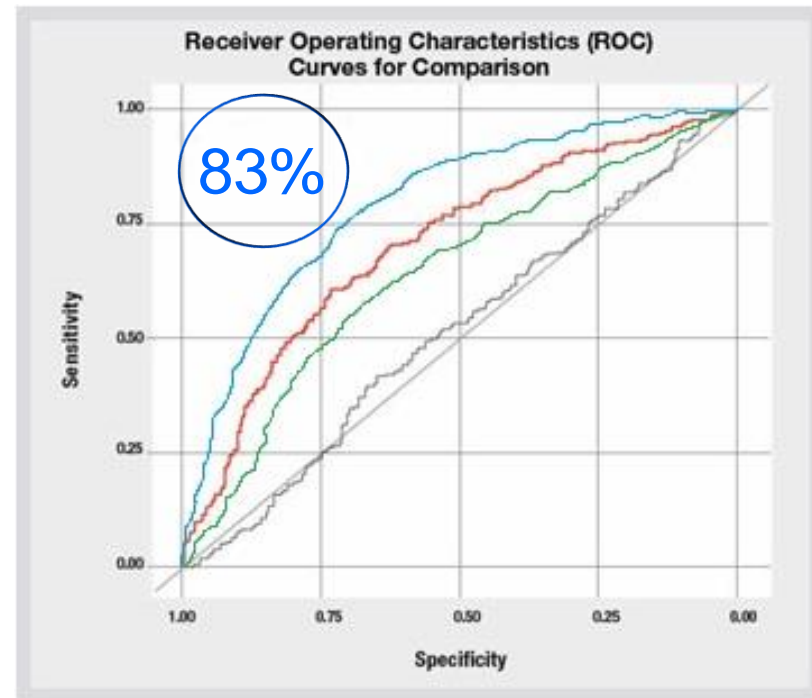
AUC + 10-20%

**+ [-2] proPSA + fPSA → PHI**

AUC + 10-25%

**+ fPSA + iPSA + hk2 → 4K score**

AUC + 25-35%




Guazzoni G, 2011  
Jansen FH, 2010  
Catalona WJ, 1998  
Canto EI, 2012  
Carlsson S, 2013


# 4Kscore

EURURO-7144; No. of Pages 7

**ARTICLE IN PRESS**  
EUROPEAN UROLOGY XXX (2016) XXX-XXX

available at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)  
journal homepage: [www.europeanurology.com](http://www.europeanurology.com)

  
European Association of Urology



**Prostate Cancer**

**Evaluating the Four Kallikrein Panel of the 4Kscore for Prediction of High-grade Prostate Cancer in Men in the Canary Prostate Active Surveillance Study**

*Daniel W. Lin<sup>a,b,c,\*</sup>, Lisa F. Newcomb<sup>a,b</sup>, Marshall D. Brown<sup>a</sup>, Daniel D. Sjoberg<sup>d</sup>, Yan Dong<sup>e</sup>, James D. Brooks<sup>f</sup>, Peter R. Carroll<sup>g</sup>, Matthew Cooperberg<sup>g</sup>, Atreya Dash<sup>c</sup>, William J. Ellis<sup>b</sup>, Michael Fabrizio<sup>h</sup>, Martin E. Gleave<sup>i</sup>, Todd M. Morgan<sup>j</sup>, Peter S. Nelson<sup>a</sup>, Ian M. Thompson<sup>k</sup>, Andrew A. Wagner<sup>l</sup>, Yingye Zheng<sup>a</sup>,*  
*for the Canary Prostate Active Surveillance Study Investigators*

- 4K score predikuje nález HG CaP v 1.rebiopsii u pacientů v AS

# STHLM3

- PSA
- fPSA
- hK2
- microprotein beta (MSMB)
- macrophage inhibitory cytokine 1 (MIC1)
- genetický polymorfismus
- věk, DRE, famil. výskyt, předchozí biopsie

snižuje počet biopsií až o **30%**



Recommendation	LE	Strength rating
<p>In order to avoid unnecessary biopsies, offer further risk-assessment to asymptomatic men with a normal digital rectal examination (DRE) and a prostate-specific antigen (PSA) level between 2-10 ng/mL prior to performing a prostate biopsy. Use one of the following tools:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• risk-calculator;</li><li>• an additional serum or urine-based test (e.g. Prostate Health Index test [PHI], four kallikrein [4K]score, Prostate cancer gene 3 [PCA3], <i>HOXC6/DLX1</i>) or;</li><li>• imaging.</li></ul>	3	Strong

# Prostate Health Index Predicts Clinically Significant Prostate Cancer in Final Pathology after Surgical Treatment

Novák Vojtěch, Do Carmo Joana, Lukšanová Hana, Průša Richard, Čapoun Otakar, Fiala Vojtěch, Dolejšová Olga, Eret Viktor, Stejskal Jiří, Záleský Miroslav, Veselý Štěpán

*Dpt. of Urology, Charles University 2nd Faculty of Medicine University Hospital Motol, Prague, Czech Republic.*

*University Hospital, Dpt. of Urology, Pilsen, Czech Republic.*

*Thomayer Hospital, Dpt. of Urology and 1st and 3rd Medical Faculty, Charles University, Prague, Czech Republic*

*Dpt. of Urology, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic.*

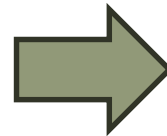
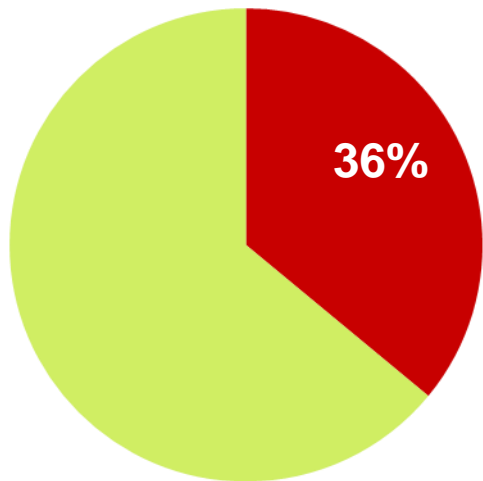
*Dpt. of Medical Chemistry and Clinical Biochemistry, Charles University, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic.*

# Patients & Methods

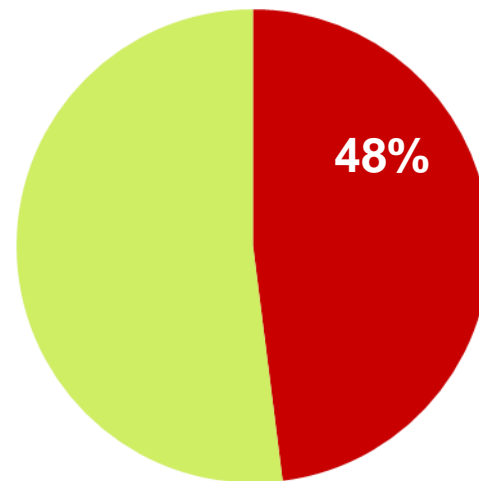
- four urological centers in Czech Republic
- **472** patients after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer
- before surgery:
  - PSA
  - fPSA
  - [-2]proPSA
  - PHI = [-2]proPSA/fPSA x PSA
- after surgery:
  - histological grading (Gleason score > 6)
  - extracapsular extension (pT3 stage)
  - positive surgical margins

# Proportion of aggressive cancers (GS>6)

After biopsy

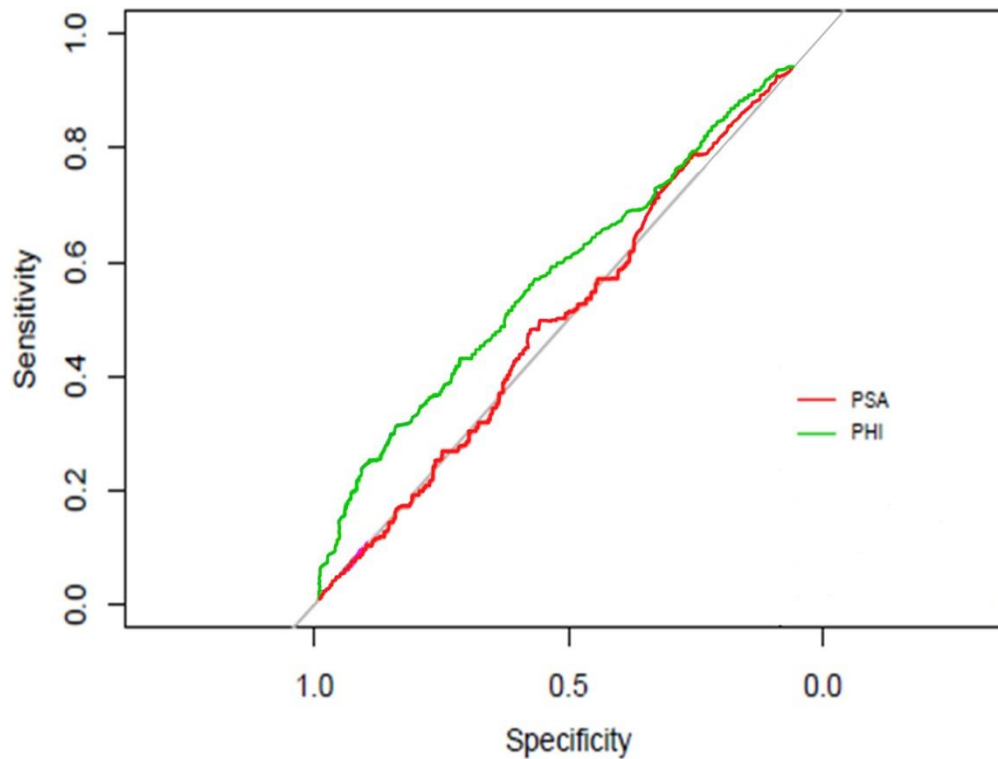


After surgery



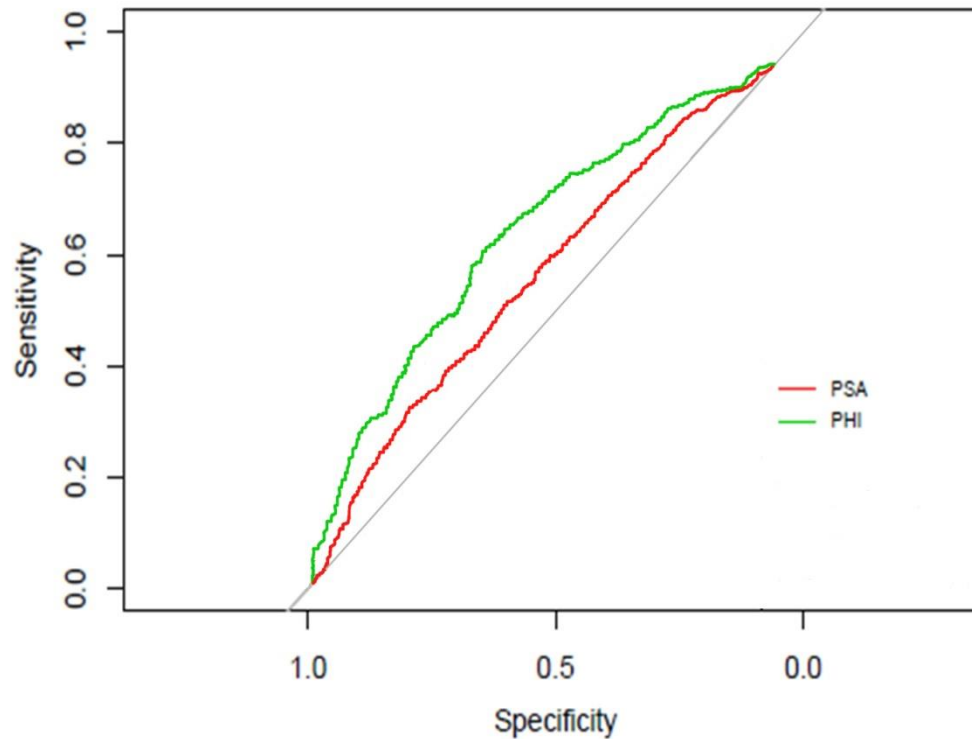
# Prediction of aggressiveness (GS>6)

	AUC	specificity	sensitivity
PSA	51.167	0.575	0.482
PHI	58.495	0.850	0.307



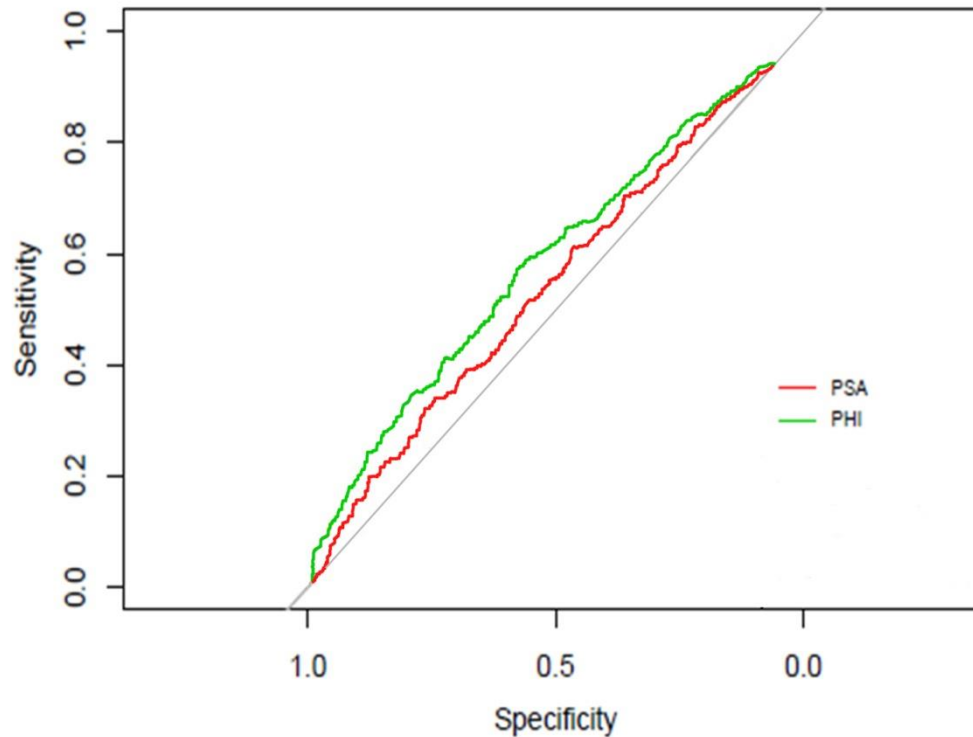
# Prediction of GS>6 + T3

	AUC	specificity	sensitivity
PSA	58.845	0.619	0.586
PHI	70.780	0.524	0.819



# Prediction of positive surg. margins

	AUC	specificity	sensitivity
PSA	54.457	0.216	0.864
PHI	58.796	0.646	0.508



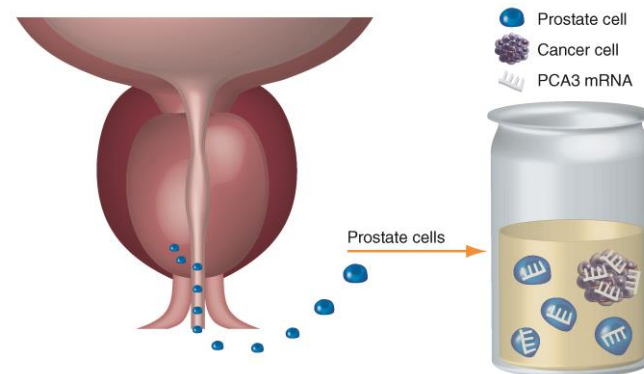
# Markery v moči





# PCA3

- marker z močového sedimentu (masáž, 3 strokes?, firm DRE)
- nekódující segment RNA na 9. chromosomu
- BPH, objem, zánět **nemají vliv** na PCA3 → ↑specifická↑  
(až 90%)
- koreluje s GS, objemem nádoru a pT3 (???)
- problém: - řádný odběr  
- cena



Hessels M, 2010  
Donovan M, 2015

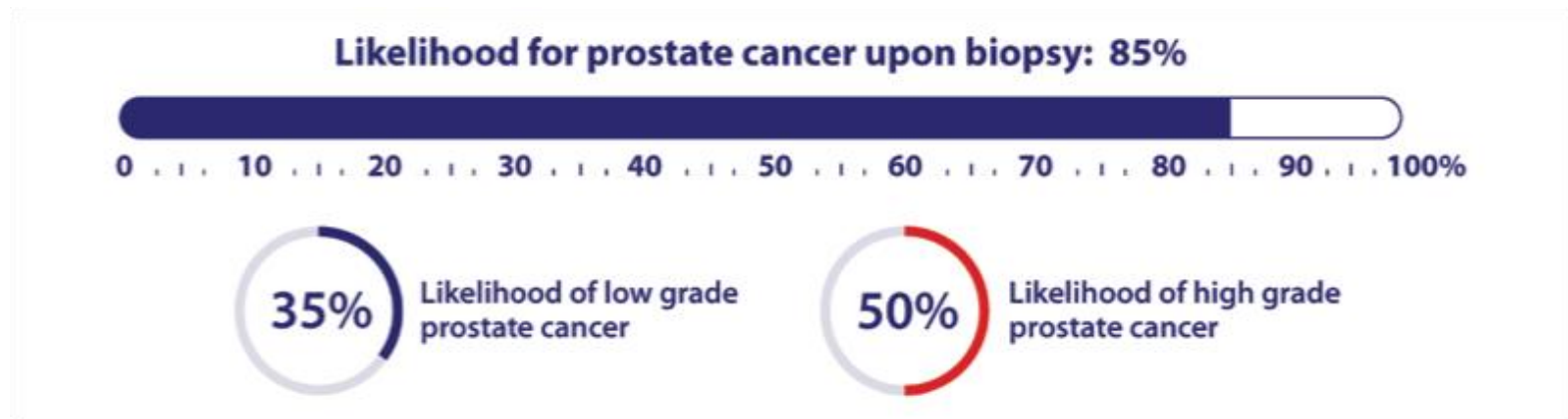
# ExoDx Prostate Intelliscore

- PCA3 + další dvě exosomální RNA
- v USA od r. 2016



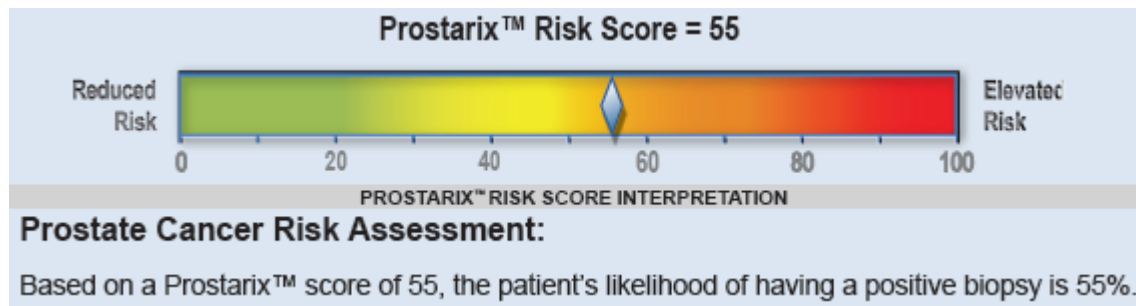
# SelectMDx

- stejný team jako vyvinul PCA3
- detekce 3 genů v moči (HOXC6, DLX1, TDRD1) proti PSA
- přesnější detekce GS>7 než PCA3



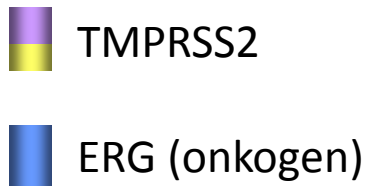
# Prostarix

- využívá metabolomických technologií
- detekce 4 AMK (sarcosine, alanin, glutamát, glycin)
- kombinuje chromatografii a spektrometrii
- není schválen FDA



# TMPRSS2-ERG

Chromosom 21



Genová fúze

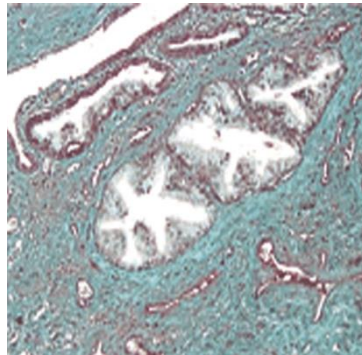


u 50-80% CaP

**Fúzní gen  
TMPRSS2:ERG**

- detekce z moči po masáži
- lepší v predikci biopsie než PSA (635 biopsií)
- popsána i korelace s PCSM a DFS
- ještě lepší výsledky **v kombinaci s PCA3**

# Tkáňové markery

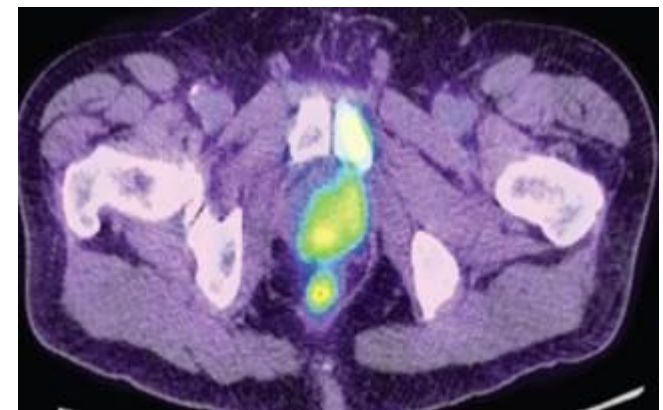
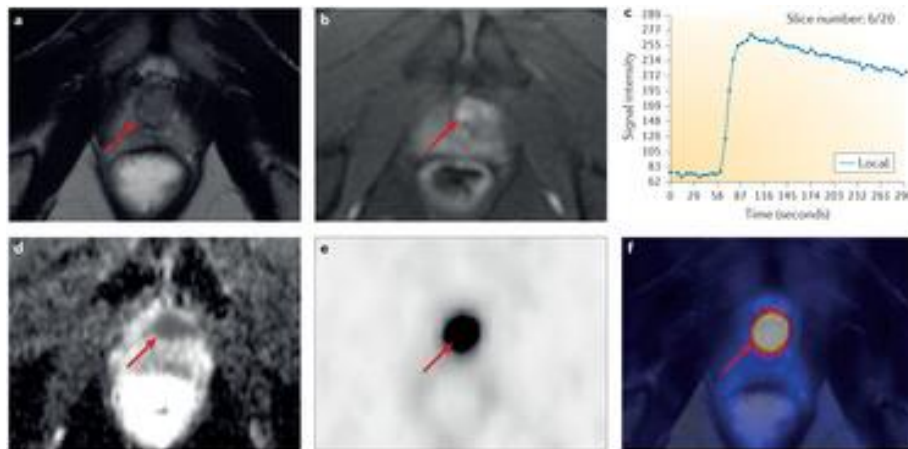


# PSMA

- PSMA (prostate-specific membrane antigen)
- GCPII (glutamát karboxypeptidáza II)
- integrální membránový protein
- upregulován při androgenní deprivaci
- **koreluje s diferenciací karcinomu**
- ve tkáni prostaty – ale i jinde (místa s neovaskularizací)

# PSMA

- koreluje s rizikem BCR
- značené protilátky ( $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{111}\text{In}$ ) **PET-(CT/MRI)**
- detekce recidiv či generalizace (senz. až 80%, spec. až 90%)



Maurer T, 2015  
Afshar a, 2013



# ProMARK

- bioptický test stanovující 8 proteinů
- imunofluorescenční analýza parafinových vzorků
- predikce OS
- vhodné u low-risk k zařazení do **active surveillance**



# Genetické testy

**PTEN gene** - detekce delece genu PTEN (reg. bb cyklu)  
- metoda FISH

**PCMT** - Prostate Core Mitomic Test  
- detekuje deplece mitochondriální DNA

**ConfirmMDx**- detekuje hypermetylací DNA z tkáně  
- negativní prediktivní hodnota až 90%

# RNA - Genetické testy

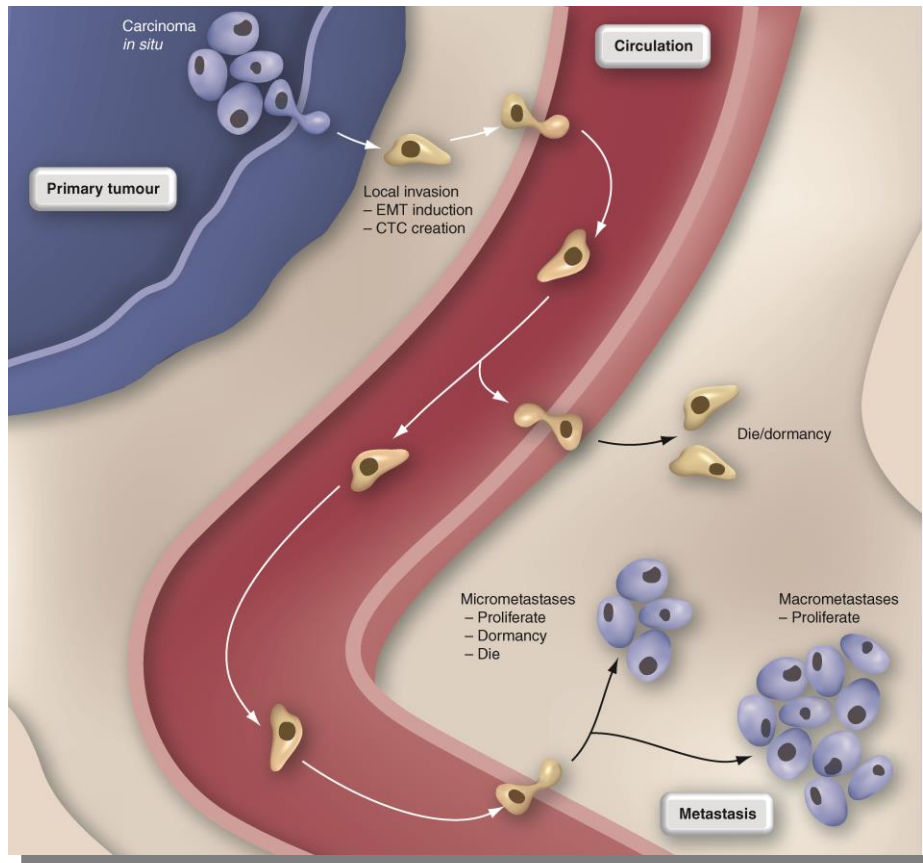
**Prolaris** - 31 genů, dobře validovaný

**Decipher** - 22 genů, především nekód. RNA sekvence

**OncotypeDX** - 17 genů, stačí 1mm bioptické tkáně

- obecně predikce GS, BCR, meta
- hlavně u low-risk CaP

# Liquid biopsies – CTC, fDNA, mRNA



- CellSearch, CellCollector, Epispot, Elispot, ISET.....

## metastatický CaP

- předpovídá OS (lépe než PSA)
- predikce odpovědi na léčbu
- marker odpovědi na léčbu  
(abirateron, docetaxel)

## nemetastatický CaP

- nebyl prokázán benefit

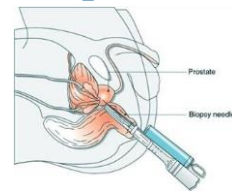
*De Bono, 2008  
Scher, 2010  
Pantel K, 2019*

# Biomarkery a diagnostika CaP

## Screening

PSA, fPSA, PHI, 4Kscore, **PCA3**

## Biopsie



Low

Intermediate

High

confirmMDx  
PCMT  
PTEN  
4Kscore  
PHI  
**PCA3**  
**TMPRSS2-ERG**  
SelectMDx



+ mpMRI



active surveillance

Prolaris  
Decipher  
Oncotype DX  
PTEN  
**TMPRSS2-ERG**  
4Kscore  
PHI  
CTCs



Léčba