

NUEVOS BIOMARCADORES DE INTERÉS EN EL CÁNCER DE PRÓSTATA

Xavier Filella Pla.

Servicio de Bioquímica y Genética Molecular (CDB). IDIBAPS. Hopsital Clínic. Barcelona.

Laura Foj Capell.

Servicio de Bioquímica y Genética Molecular (CDB). Hopsital Clínic. Barcelona.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata es, en Europa, el tumor más frecuente en el sexo masculino. En los últimos años se ha observado un aumento en su incidencia en la mayoría de los registros europeos, particularmente en los correspondientes a países del norte y oeste del continente. Ello se ha relacionado con el aumento de la detección de tumores latentes, producido en gran parte a causa del empleo de la medida del antígeno específico de la próstata (PSA) en la detección de este tumor. La consecuencia de este sobrediagnóstico ha sido el sobretatamiento de estos pacientes, con los consabidos efectos en su calidad de vida. El PSA es, a pesar de todo, el marcador tumoral más empleado en el manejo del cáncer de próstata. Su empleo se complica aún más a causa de los inconvenientes derivados de su falta de especificidad, puesto que tiene un importante porcentaje de falsos positivos en pacientes con patología prostática benigna. De hecho, la biopsia es positiva en tan solo el 25 % de los pacientes con PSA entre 2 y 10 ug/L.

En el curso de los últimos años se han descrito nuevos biomarcadores para la detección del cáncer de próstata. Por un lado, se ha introducido la medida del índice de PCA3, que obtuvo en el año 2012 la aprobación de la *Food and Drug Administration* (FDA) para decidir la repetición de la biopsia de la próstata en pacientes con una o más biopsias negativas previas. Por otro lado, también se han introducido nuevos biomarcadores relacionados con el PSA, siguiendo el camino iniciado con la velocidad de PSA, el tiempo de doblaje de PSA, la densidad de PSA, la incorporación de la concentración de PSA en modelos multivariados o el estudio de las fracciones del PSA, como son el porcentaje de PSA libre en relación al PSA total (%PSA libre) y el PSA unido a la alfa-1-antiquimotripsina (*complexed PSA*). En este

sentido, en primer lugar, disponemos del *prostate health index* (PHI), que combina [-2] proPSA, PSA total y PSA libre. Este índice ha recibido en 2012 la aprobación de la FDA para ser utilizado con objeto de reducir el número de biopsias negativas en hombres mayores de 50 años, con PSA entre 4 y 10 ug/L y tacto rectal negativo. En segundo lugar, disponemos también de un panel de 4 calicreínas, también denominado *4-k score*, que valora PSA total, PSA libre, PSA intacto (iPSA) y calicreína humana de tipo 2 (hK2).

Finalmente, numerosos trabajos proponen nuevos biomarcadores moleculares para la detección del cáncer de próstata, entre los cuales diversos miRNAs y los genes TMPRSS2:ERG y glutation-S-transferasa. La utilidad de estos novísimos biomarcadores aun está en evaluación.

Los nuevos biomarcadores de cáncer de próstata deberían mejorar los problemas de especificidad que se observan con el PSA y que el %PSA libre tan solo ha paliado parcialmente. La interpretación del %PSA libre únicamente es clara cuando es sumamente bajo o sumamente alto. Así, resultados menores al 10 % se relacionan con una alta probabilidad de padecer un cáncer de próstata y resultados mayores al 25 % lo hacen con una baja probabilidad de padecer este tumor. No obstante, en pacientes con resultados del %PSA libre intermedios no es sencillo decidir cuál es la conducta más adecuada a seguir. Los nuevos biomarcadores deberían ayudar a disminuir con mayor precisión biopsias innecesarias, sin que por ello se produzca una disminución significativa del número de cánceres de próstata diagnosticados. Esta mejora en la eficacia diagnóstica sería particularmente útil para el manejo de pacientes a los cuales ya se ha realizado una biopsia y esta ha sido negativa. Este grupo de pacientes constituye actualmente un problema especial, puesto que se hace difícil decidir si hay que repetir reiteradamente la biopsia de la próstata hasta que aparezca el tumor o si en algún momento, pese a que el PSA siga siendo elevado, hay que dejar de realizar biopsias.

Los nuevos biomarcadores también deberían aportar información con objeto de seleccionar lo más adecuadamente posible el tratamiento para cada paciente. La diferenciación entre tumores de bajo riesgo y tumores de alto riesgo es un aspecto vital para afrontar el sobretratamiento de pacientes con un cáncer de próstata clínicamente insignificante. La definición de protocolos de vigilancia activa ha supuesto una nueva vía para evitar los efectos nocivos del tratamiento del cáncer de próstata en estos pacientes. Estos protocolos difieren el tratamiento de la enfermedad que únicamente se realiza si en algún momento se detecta la progresión del tumor. Para ello se establecen programas de seguimiento que incluyen tacto rectal, la repetición de la biopsia y la medida periódica de PSA. La inclusión de pacientes en estos protocolos se realiza para pacientes con tumores clínicamente confinados a la glándula prostática en relación al grado de Gleason (que debe ser inferior a 7), el porcentaje de material obtenido en la biopsia afecto por cáncer y la concentración de PSA (que debe ser menor a 10 ug/L). Lamentablemente, los criterios utilizados actualmente para definir el cáncer de próstata de bajo riesgo no son suficientemente precisos,

por lo que deberíamos disponer de nuevos biomarcadores relacionados con la agresividad del tumor para seleccionar con más acierto la conducta más adecuada para cada paciente.

PCA3

El gen PCA3, que inicialmente fue denominado DD3, es un gen silente que fue descubierto por el equipo de Marion Bussemakers en 1999, observándose que está sobreexpresado en cáncer de próstata entre 60 y 100 veces respecto al tejido sano. El test PCA3 se expresa como un índice que consiste en la medida del ARN mensajero de PCA3 en relación al ARN mensajero de PSA mediante PCR cuantitativa. El test se realiza en la orina obtenida tras la realización de un masaje prostático, realizado con objeto de liberar a la orina una cantidad suficiente de células prostáticas que se recolectan en una micción inmediata. La medida del ARN mensajero de PSA permite normalizar los resultados puesto que se expresa de forma uniforme en todas las células prostáticas. Además, la cantidad de ARN mensajero para PSA permite valorar si la muestra es válida para obtener en ella un resultado fiable.

La mayoría de estudios realizados han empleado el ensayo comercializado por Hologic y denominado ProgenSA PCA3 que permite automatizar buena parte del proceso analítico, si bien es posible también emplear una técnica manual de PCR cuantitativa. La ventaja de emplear el test ProgenSA PCA3 está en la posibilidad de valerse de un nivel de corte establecido de forma uniforme para dicho test. No obstante, pese a que probablemente el índice de 35 sea el valor discriminante más usado para decidir la realización de una biopsia, la FDA recomienda para ello utilizar un índice de 25.

Una revisión publicada por nuestro grupo en 2013 remarcaba una importante dispersión de resultados entre los trabajos reportados hasta aquel momento, tanto cuando se consideraba el test ProgenSA PCA3 como cuando se valoraban técnicas manuales. Así, para el test ProgenSA PCA3 la sensibilidad recogida en nuestra evaluación era de entre el 47 y el 86,5 %, mientras que la especificidad oscilaba entre el 33 y el 79 %. La misma dispersión se observaba cuando se consideraban técnicas de PCR manuales, con una sensibilidad de entre el 60 y el 95 % y una especificidad de entre el 17 y el 100 %.

Esta dispersión de resultados se ha seguido observando en los trabajos publicados ulteriormente. Ciertamente, el uso de técnicas distintas y de niveles discriminantes diferentes influye en esta divergencia, pero hay otros factores para los que no disponemos de explicación. En este sentido es clarificador un reciente metaanálisis publicado en 2014 en que se incluyen 16 estudios que valoran el test ProgenSA PCA3 empleando el índice de 35 como valor discriminante para seleccionar pacientes para biopsia. El estudio, que analiza resultados correspondientes a 2.457 pacientes con cáncer de próstata y 4.236 controles, reporta una sensibilidad del 57 %, siendo la especificidad del 71 %. Llama la atención, no obstante, que sigue existiendo, pese al uniforme uso del mismo valor discriminante, una gran dispersión de resultados, de manera que la sensibilidad osciló entre el 47 % y 74 % y la especificidad osciló entre el 56 % y el 92 %. Ciertamente, pese a los resultados inicial-

mente alentadores sobre este test, no disponemos actualmente de una confirmación clara sobre su validez.

Si bien parece cierto que la eficacia diagnóstica de PCA3 es superior a la del PSA, no hay hasta el momento unanimidad sobre cuál es su efectividad real. Probablemente, uno de los aspectos más polémicos sobre el uso del índice de PCA3 sigue siendo la elección del valor discriminante más adecuado para decidir la realización de una biopsia, obteniendo un equilibrio acertado entre biopsias ahorradas y la pérdida de diagnósticos de cáncer de próstata. De hecho, únicamente empleando valores discriminantes muy bajos se puede evitar la pérdida de casos con cáncer de próstata. Por otro lado, debe considerarse también que los datos publicados hasta el momento indican que no hay tampoco ningún índice de PCA3 que permita asegurar la presencia de un cáncer de próstata, en contra de los datos iniciales que sugerían que el gen PCA3 está únicamente sobreexpresado en células cancerosas prostáticas. Aún más, se ha observado que, en el seguimiento de pacientes con reiteradas biopsias negativas, se detectan resultados decrecientes del índice de PCA3 y que incluso en algún caso se observa su normalización. Finalmente, los datos disponibles sobre el índice de PCA3 también son contradictorios cuando se valora su relación con la agresividad del tumor. Mientras que algunos autores han mostrado la correlación de PCA3 con el grado de Gleason, otros grupos, entre los cuales el nuestro, no observan dicha correlación.

Por tanto, las dudas sobre la utilidad de PCA3 en el cáncer de próstata persisten. La mayoría de estudios publicados, además, parten de un sesgo importante al seleccionar los pacientes a partir del resultado de PSA. Ello se traduce en que los resultados de PCA3 son comparativamente mucho mejores a los que obtendríamos si también seleccionáramos pacientes para biopsia en función del resultado del índice de PCA3. Finalmente, no podemos descartar que los resultados obtenidos entre los diversos grupos sean distintos a causa de razones técnicas. Quizás la introducción de la PCR digital permita no tan solo simplificar el proceso técnico, sino que también ofrezca resultados del índice de PCA3 más precisos que redunden en una mayor similitud en las conclusiones aportadas por los diversos grupos.

Prostate Health Index

Actualmente sabemos que el PSA libre es mucho más complejo de lo que habíamos considerado hasta hace unos años, puesto que está compuesto por diversas fracciones denominadas BPSA, iPSA y proPSA, del cual, además, existen distintas subformas. La forma nativa de proPSA es la [-7] proPSA, que contiene un propéptido líder de 7 aminoácidos en el extremo N-terminal. Mediante escisión proteolítica de este péptido, que viene favorecida por la acción de las calicreínas 2 y 4, se forman el resto de fracciones del proPSA: -5, -4 y -2. De todas ellas, la fracción [-2] proPSA es la más estable en plasma y para la que disponemos en la actualidad de un test comercial que permite medirla. Este test se denomina p2PSA.

Se han propuesto dos índices derivados de la medida de la concentración de [-2] proPSA, por un lado el porcentaje entre [-2] proPSA y PSA libre (%p2PSA) y, por otro lado, el test

PHI que combina [-2] proPSA, PSA libre y PSA, mediante la fórmula $([-2] \text{ proPSA} / \text{PSA libre}) * \sqrt{\text{PSA}}$. Los resultados para ambos test son semejantes, pero en general ligeramente mejores para PHI. De acuerdo con los datos compilados en un metaanálisis que publicamos en 2012 el área bajo la curva para %p2PSA fue de entre 0,635 y 0,78, mientras que era de entre 0.703 y 0.77 para PHI. La mayoría de los trabajos publicados coinciden en remarcar que la eficacia diagnóstica de PHI y %p2PSA es superior a la del %PSA libre. En un estudio realizado recientemente por nuestro grupo en que evaluamos 354 pacientes observamos que el área bajo la curva fue de 0,723 y 0,732 para %p2PSA y PHI, respectivamente. Estos resultados fueron mejores a los hallados para %fPSA y PSA, para los que obtuvimos áreas de 0,705 y 0,553, respectivamente. Debe remarcarse que la baja área bajo la curva obtenida para PSA se debe a que los pacientes fueron incluidos en el estudio precisamente en relación a tener un PSA elevado.

Los resultados publicados son pues bastante uniformes en cuanto a las áreas bajo la curva obtenidas por parte de los distintos grupos y todos ellos destacan la relación entre PHI y la agresividad del tumor. Así, en nuestra experiencia, los resultados de PHI fueron significativamente superiores en pacientes con un grado de Gleason 7 o superior que en los pacientes con un grado de Gleason menor a 7. También observamos diferencias estadísticamente significativas en relación al estadio clínico. Este es un aspecto importante que caracteriza PHI como un test interesante para compensar el sobrediagnóstico que actualmente se registra en el cáncer de próstata, por cuanto tan a menudo se están detectando nuevos casos que son clasificados como clínicamente insignificantes.

Por otro lado, diversos autores han sugerido el interés de considerar PHI como un biomarcador adicional en modelos multivariados. El interés de los modelos multivariados para la detección del cáncer de próstata ha aumentado en el curso de los últimos años. Entre otros, hay que destacar los modelos desarrollados en el seno del European Randomised Study of Prostate Cancer (ERSPC) o el Prostate Cancer Prevention Trial calculator que emplean diversas variables clínicas conjuntamente con el PSA y/o %PSA libre. La inclusión de PHI en un modelo multivariado que reúne además edad, volumen de la próstata, PSA y PSA libre ha sido sugerida por diversos estudios.

Nuestros resultados también subrayan el interés de incorporar PHI a un modelo multivariado base que incluye edad, volumen de la próstata, PSA y %PSA libre, obteniendo un área bajo la curva de 0,818 frente a 0,762 para el modelo base. En estos modelos el volumen de la próstata calculado mediante ecografía transrectal aparece como un factor determinante para obtener resultados satisfactorios, lo cual de hecho entorpece la aplicación de estos modelos dada la incomodidad que representa para el paciente la realización de una ecografía transrectal. Nuestros resultados confirman la importancia de considerar el volumen de la próstata en la interpretación del resultado de PHI, dadas las diferencias observadas en el área bajo la curva para pacientes con próstatas pequeñas (menos de 35 cc), medianas (de 36 a 50 cc) o grandes (más de 50 cc), con áreas bajo la curva de 0,842, 0,723 y 0,641,

respectivamente. Estos resultados remarcan que si bien sigue siendo importante disponer de nuevos biomarcadores de cáncer de próstata que introduzcan mejoras en sensibilidad y especificidad, también la disponibilidad de biomarcadores de volumen prostático representaría un indudable avance en la detección del cáncer de próstata.

Panel de 4 calicreínas

Otra línea de desarrollo también basada en la medida de PSA lo constituye el panel de 4 calicreínas, que ha sido desarrollado por el grupo liderado por Andrew J. Vickers y Hans Lilja, del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center. Este panel incluye la medida de PSA total, PSA libre, iPSA y hK2, cuyo gen tiene un 80 % de homología con el gen del PSA (también denominado hK3). Estos biomarcadores son valorados conjuntamente con la edad del paciente, el resultado del tacto rectal y la existencia de una biopsia negativa previa para calcular un índice denominado *4k score*, que estima el riesgo de padecer un cáncer de próstata de alto riesgo. En este sentido, la introducción del *4K score* significa un cambio en el enfoque que se ha venido siguiendo hasta el momento en la detección del cáncer de próstata. El objetivo de este índice es seleccionar para biopsia únicamente pacientes con un grado de Gleason 7 o superior, puesto que se considera que su pronóstico es muy distinto al de los pacientes con un cáncer de próstata con un grado de Gleason menor. Numerosos datos así lo ha señalado en el curso de los últimos años e incluso hay autores que se preguntan si el cáncer de próstata con un grado de Gleason 6 debería ser etiquetado como cáncer.

Diversos estudios retrospectivos liderados por Lilja y Vickers y publicados entre 2008 y 2011 han mostrado la elevada eficacia diagnóstica de este panel. De acuerdo con estas publicaciones, el área bajo la curva del panel de 4 calicreínas es mayor a la obtenida con los modelos basados en la medida de PSA. La mayor eficacia diagnóstica en la detección de tumores de alto riesgo se observa en estos estudios retrospectivos cuando se combina la medida de las 4 calicreínas con el resultado de tacto rectal, obteniéndose áreas bajo la curva que van de 0,798 a 0,903. Hay que remarcar, por tanto, que estas áreas fueron obtenidas al comparar pacientes con cáncer de próstata y un grado de Gleason 7 o superior frente a pacientes tanto con biopsia negativa como con cáncer de próstata y un grado de Gleason menor a 7.

La relación entre el índice obtenido con el panel de 4 calicreínas y la agresividad del cáncer de próstata es, de hecho, un resultado remarcable que resitua el objetivo que hasta al momento habían tenido los biomarcadores en el manejo del cáncer de próstata. El valor pronóstico de este panel para diferenciar entre cáncer de próstata insignificante y cáncer de próstata agresivo ha sido ratificado por un estudio que evalúa la capacidad del panel de 4 calicreínas para predecir los resultados que se observan en el estudio anatomopatológico de la pieza obtenida tras la realización de una prostatectomía radical. La adición del panel de 4 calicreínas a un modelo basado en edad, estadio clínico, PSA y hallazgos de la biopsia permitiría mejorar significativamente la capacidad para predecir la existencia de un tumor agresivo. La validez de este panel parece aun más relevante por cuanto, según

los datos publicados hasta el momento, no parece depender del volumen de la próstata, lo cual permite obviar la realización de una ecografía transrectal para poder interpretarlo de una forma adecuada.

Aún más recientemente se ha publicado el primer estudio prospectivo que evalúa la utilidad del test 4 k score en la detección del cáncer de próstata. Este estudio, realizado en 26 centros norteamericanos, incluyó 1.012 varones en relación a la concentración de PSA o a los hallazgos clínicos, obteniendo un área bajo la curva de 0,82. Particularmente interesantes son los resultados obtenidos al valorar el ahorro de biopsias que se obtendría empleando este test. Usando un índice del 15 %, que los autores recomiendan para pacientes mayores, podrían evitarse un 58 % de las biopsias, si bien se dejarían de detectar un 4,7 % de los tumores de alto grado. Para pacientes más jóvenes, los autores recomiendan un índice del 6 %, para el cual obtienen un ahorro del 30 % de las biopsias, mientras que solo dejan de detectar el 1,3 % de los tumores de alto grado.

Conclusiones

En el curso de los últimos años se han descrito nuevos biomarcadores para el manejo del cáncer de próstata precoz que determinan un cambio remarcable. Ciertamente, la medida de PSA sigue siendo el marcador más usado, pese a la controversia sobre su validez para el cribaje de este tumor. Los resultados disponibles muestran que con el empleo del PSA se consigue, en el mejor de los casos, una reducción escasa en la mortalidad debida al cáncer de próstata, mientras que su uso se relaciona con los prejuicios derivados de la realización de la biopsia y, en su caso, del tratamiento del cáncer de próstata, que, según las características del tumor, no siempre es necesario.

Los nuevos biomarcadores descritos en este texto -el índice de PCA3, PHI y el panel de 4 calicreínas- han mostrado una mayor eficacia diagnóstica que la obtenida con el PSA y el %PSA libre, permitiendo un importante ahorro en el número de biopsias que se deben realizar. Además, si bien respecto al índice de PCA3 los resultados son contradictorios, se ha observado una relación significativa de los niveles de estos biomarcadores con la agresividad del tumor. Adicionalmente, el panel de 4 calicreínas introduce un cambio significativo en la detección del cáncer de próstata, puesto que su objetivo es diagnosticar únicamente tumores de alto riesgo. La aportación de estos biomarcadores define, pues, un nuevo escenario en el manejo del cáncer de próstata precoz. El panel de 4 calicreínas contribuye además a definir el uso de modelos multivariados que combinan un test de laboratorio junto con variables clínicas y demográficas para calcular el riesgo de padecer cáncer de próstata. Finalmente, los resultados obtenidos con la medida de PCA3 en la orina recogida tras la realización de un masaje prostático contribuye a definir una nueva vía para detectar y caracterizar el cáncer de próstata. En este sentido, estudios recientes muestran resultados preliminares que valoran con interés el uso de novísimos biomarcadores en cáncer de próstata como son los distintos miRNAs y los genes TMPRSS2:ERG y glutation-S-transferasa.

BIBLIOGRAFÍA

Bradley LA, Palomaki GE, Gutman S, Samson D, Aronson N. Comparative effectiveness review: prostate cancer antigen 3 testing for the diagnosis and management of prostate cancer. *J Urol* 2013;190:389-98.

Carlsson S, Maschino A, Schröder F, Bangma C, Steyerberg EW, van der Kwast T, et al. Predictive value of four kallikrein markers for pathologically insignificant compared with aggressive prostate cancer in radical prostatectomy specimens: results from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer section Rotterdam. *Eur Urol* 2013;64:693-9.

Carter HB, Partin AW, Walsh PC, Trock BJ, Veltri RW, Nelson WG, Coffey DS, Singer EA and Epstein JI: Gleason score 6 adenocarcinoma: should it be labeled as cancer? *J Clin Oncol* 2012;30:4294-6.

Chou R, Croswell JM, Dana T, Bougatsos C, Blazina I, Fu R, Gleitsmann K, Koenig HC, Lam C, Maltz A, Bruin Ruggie J, Lin K. Screening for Prostate Cancer: A Review of the Evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011;155:762-71.

Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013;49:1374-403.

Filella X, Foj L, Milà M, Augé JM, Molina R, Jiménez W. PCA3 in the detection and management of early prostate cancer. *Tumour Biol* 2013;34:1337-47.

Filella X, Giménez N. Evaluation of [-2] proPSA and Prostate Health Index (PHI) for the detection of prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:729-39.

Filella X, Foj L, Augé JM, Molina R, Alcover J. Clinical utility of %p2PSA and prostate health index in the detection of prostate cancer. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:1347-55.

Filella X, Foj L. miRNAs as novel biomarkers in the management of prostate cancer. *Clin Chem Lab Med* (en prensa).

Hessels D1, Schalken JA. Urinary biomarkers for prostate cancer: a review. *Asian J Androl* 2013;15:333-9.

Hindson CM, Chevillet JR, Briggs HA, Gallichotte EN, Ruf IK, Hindson BJ, Vessella RL, Tewari M. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nat Methods* 2013;10:1003-5.

Hu B, Yang H, Yang H. Diagnostic value of urine prostate cancer antigen 3 test using a cutoff value of 35 µg/L in patients with prostate cancer. *Tumour Biol* 2014;35:8573-80.

Parekh DJ, Punnen S, Sjoberg DD, Asroff SW, Bailen JL, Cochran JS, et al. A Multi-institutional Prospective Trial in the USA Confirms that the 4Kscore Accurately Identifies Men with High-grade Prostate Cancer. *Eur Urol* 2014 Oct 27. pii: S0302-2838(14)01035-5. doi: 10.1016/j.eururo.2014.10.021.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), M. Rodríguez (*Presidente*), N. Rico, MC. Villà.

ISSN 1887-6463 – Febrero 2016 (recibido para publicación Abril 2015).