

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "LA SAPIENZA"**

**FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**DIPARTIMENTO DI UROLOGIA "U. BRACCI"**

**Dottorato di Ricerca in Tecnologie Avanzate in Chirurgia XVIII° ciclo**

**Coordinatore: Chiar.mo Prof. C Laurenti**

**TESI SPERIMENTALE**

***"IL TRIMPROB NELLA DIAGNOSTICA NON INVASIVA DEL  
CARCINOMA PROSTATICO"***

**Relatore**  
**Chiar.mo Prof Cesare Laurenti**

**Dottorando**  
**Dr Cosimo De Nunzio**

**Anno Accademico 2004-2005**

## **INTRODUZIONE**

La diagnosi e la terapia del tumore della prostata rappresentano una problematica sanitaria di primaria importanza per l'elevata prevalenza della neoplasia nella popolazione anziana. Negli ultimi anni si è osservato un progressivo aumento dell'incidenza di questa malattia che rappresenta attualmente la neoplasia più frequente nel sesso maschile e la seconda causa di morte per tumore nell'uomo. La malattia colpisce spesso uomini nella quinta e sesta decade di vita con un relativo e considerevole costo sociale. Basti pensare che nei soli Stati Uniti si sono spesi nel 2001 per la sola terapia più di 2 miliardi di dollari. E' evidente come la diagnosi precoce del tumore della prostata sia un delle tematiche maggiormente dibattute negli ultimi anni. Altro discorso dicasi invece per lo screening attivo sul quale ancora non esiste un consenso unanime per le scarse evidenze di un reale beneficio di tale approccio e per il rischio di trattare pazienti con malattia non clinicamente significativa. E' evidente come nella gestione del tumore prostatico esista una situazione paradossale per la quale non si raccomanda lo screening bensì la diagnosi precoce. E' chiaro quindi, che il problema della gestione del problema del carcinoma prostatico non è tanto relativo alla terapia che vede nella chirurgia e nella radioterapia due armi assai efficaci quanto nella diagnostica, strumento indispensabile per una identificazione precoce di quei pazienti con malattia

localmente non avanzata che possono giovare di un approccio terapeutico di tipo curativo. Dal momento che la malattia è paucisintomatica nelle sue fasi iniziali, che lo studio per immagini è di scarsa utilità e che l'esplorazione rettale è positiva solo nelle forme localmente avanzate, indagini di laboratorio come l'Antigene Prostatico Specifico (PSA) costituiscono lo strumento fondamentale per una diagnosi precoce in attesa che nuove e più moderne indagini vengano sviluppate e portino l'urologia in quella era post- PSA già preannunciata ma non ancora attuata. (Bray F 2002; Stephenson RA 2002)

## **1.0 EPIDEMIOLOGIA**

Nei paesi occidentali, il cancro della prostata rappresenta il secondo tumore più frequente nel sesso maschile e la seconda causa di morte per tumore dopo la neoplasia del polmone. La sua incidenza ha subito un aumento costante negli ultimi vent'anni, in particolare negli USA e in Canada e in molti Paesi occidentali industrializzati, fino a circa 10 volte rispetto al ventennio precedente per poi diminuire ed attestarsi su valori di circa 1.5-2 volte rispetto all'attesa in base al trend storico degli ultimi 30 anni. Attualmente nei paesi della Comunità Europea, il tasso d'incidenza del carcinoma prostatico è di 55 casi per 100.000 abitanti e quello di mortalità di 22,6 decessi per 100.000 individui. L'aumentato uso, in questi Paesi, della determinazione dell'antigene prostatico specifico (PSA) è probabilmente la causa di questo aumento di incidenza che ha portato a scoprire in pazienti progressivamente più giovani un numero molto elevato di carcinomi asintomatici e preclinici; la mortalità invece non è aumentata in uguale misura, rimanendo anzi piuttosto stabile. La discrepanza tra l'aumento dell'incidenza e la sostanziale stabilità della mortalità, perdura da oltre un decennio dopo il picco di incidenza confermando da un lato che l'anticipazione diagnostica è mediamente di 10 anni e suggerendo che molti dei carcinomi identificati in tal modo sono, di fatto, sovra diagnosticati e sarebbero destinati, in assenza di screening, a non

manifestarsi clinicamente nella vita, introducendo il problema dell'opportunità o meno di fare diagnosi di queste neoplasie clinicamente non significative. A livello italiano non sono disponibili statistiche ufficiali, ma sulla scorta degli indici epidemiologici rilevati in altri Paesi occidentali, è possibile stimare un'incidenza pari a circa 20.000 nuovi casi/anno con una prevalenza tra i 55.000 e i 135.000 casi. Soltanto i dati relativi alla mortalità sono disponibili da alcuni anni, dimostrando che il carcinoma della prostata rappresenta la terza causa di morte per tumore negli uomini con circa 7.000 decessi l'anno.

Per quanto riguarda l'eziologia del carcinoma prostatico, l'età avanzata e la presenza d'ormoni androgeni biologicamente attivi nel sangue circolante e nel tessuto prostatico rappresentano ancora oggi i fattori causali più rilevanti anche se, come per la maggior parte dei tumori solidi, l'eziologia del carcinoma prostatico è senza dubbio legata a una serie di fattori genetici, ambientali, legati all'alimentazione e allo stile di vita oltre che all'età e allo stato ormonale dei soggetti a rischio.

È ben noto, infatti, che negli USA la popolazione di colore si ammala più frequentemente di carcinoma prostatico rispetto a quella bianca; l'incidenza della malattia in Cina, Giappone e paesi del Sud-Est asiatico è sicuramente più bassa, ma quando queste popolazioni emigrano negli Stati Uniti nell'arco di una o due generazioni il loro rischio di ammalarsi diviene

uguale a quello della popolazione autoctona, molto probabilmente per una combinazione sfavorevole di condizioni ambientali e abitudini alimentari; in particolare sembra che le diete ricche di grassi e con un eccessivo apporto calorico possano avere un ruolo favorente, così come la scarsa esposizione alla luce solare (maggiore incidenza della malattia nei paesi scandinavi), mentre le diete a basso contenuto lipidico, ricche di frutta, verdura, fibre e fitoestrogeni, antiossidanti e vitamine in particolare del gruppo E potrebbero contrastare l'insorgenza clinica del carcinoma prostatico (analogamente a quanto sembra avvenire per le neoplasie del colon-retto). (Bray F 2002; Stephenson RA 2002, Newcomer LM 2002, Hankey BF 2002, La Vecchia C 1983)

## **2.0 DIAGNOSI E STADIAZIONE**

### **2.1-ANAMNESI ED ESAME OBIETTIVO-**

La diagnosi di sospetto di cancro della prostata viene posta attraverso esplorazione rettale (ER) ed il dosaggio dell'antigene prostatico specifico (PSA); la diagnosi di certezza può essere ottenuta soltanto con la biopsia prostatica.

La ER ed il PSA sierico sono gli esami di prima istanza più utili per valutare il rischio che il carcinoma prostatico sia presente in un determinato soggetto (Catalona WJ, 1994). L'ecografia trans-rettale non viene raccomandata come test di screening di prima istanza per il suo basso valore predittivo nei confronti del carcinoma prostatico iniziale (Flanigan RC, 1994), per i costi e per la sua invasività.

Il contributo diagnostico offerto dall'anamnesi è scarso. Attraverso una accurata anamnesi è possibile conoscere se esiste familiarità per il carcinoma prostatico (attualmente l'unico fattore di rischio accertato), se il paziente abbia sofferto precedentemente di patologie del basso tratto urinario e soprattutto se abbia effettuato precedenti dosaggi del PSA e il loro valore.

Il carcinoma prostatico raramente causa sintomi nelle fasi iniziali della malattia, perché la maggior parte dei tumori origina dalla zona periferica della ghiandola e quindi a distanza dall'uretra. Il carcinoma

prostatico in fase iniziale è generalmente asintomatico; negli ultimi 20 anni si è assistito ad una progressiva riduzione dello stadio al momento della diagnosi e sono sempre meno i pazienti che si rivolgono al medico perché affetti da sintomi, relativi alle basse vie urinarie, legati ad un possibile cancro della prostata in fase avanzata o metastatica. Sintomi urinari di tipo ostruttivo (mitto ipovalido, minzione in più tempi, senso di incompleto svuotamento vescicale) e di tipo irritativo (pollacchiuria, urgency), possono dipendere dalla presenza di una neoplasia della prostata solo in caso di invasione della neoplasia dell'uretra o del collo vescicale. Anche l'emospermia, riconducibile ad una progressione locale della malattia, non è quasi mai un sintomo d'esordio della neoplasia della prostata. E fortunatamente è sempre più raro che il sintomo d'esordio della malattia sia legato ad una sua localizzazione metastatica ed ai sintomi collegati come il dolore osseo per l'interessamento dello scheletro assiale o di quello appendicolare, o con edema degli arti inferiori dovuto al coinvolgimento neoplastico dei linfonodi pelvici e alla compressione delle vene iliache, la fibrosi retroperitoneale maligna, dovuta a disseminazione di cellule neoplastiche lungo i linfatici periureterali, le sindromi paraneoplastiche da produzione ormonale ectopica e la coagulazione intravascolare disseminata. Attualmente la grande maggioranza dei pazienti si rivolge all'urologo perché affetta da disturbi minzionali legati all'ipertrofia

prostatica benigna associata o per il riscontro occasionale di un valore del PSA alterato eseguito su consiglio del medico di medicina generale nell'ambito di una campagna di prevenzione della neoplasia della prostata.

Ne consegue che nella grande maggioranza dei soggetti il sospetto della malattia, che indica l'esecuzione di una biopsia, da cui la certezza diagnostica, viene posto inizialmente sulla base di un aumento del PSA sierico o su reperto anomalo alla esplorazione rettale.

Il tumore della prostata generalmente si sviluppa nella porzione posteriore della zona periferica della ghiandola, e, perciò, è possibile palparlo attraverso l'esplorazione rettale. Alla visita medica, i tumori prostatici sono palpabili come noduli o regioni solide e di consistenza aumentata nella ghiandola prostatica. Altre cause, tuttavia, possono provocare un aumento di consistenza della prostata: calcoli (che generalmente più duri del tumore), infiammazioni, infarti e ipertrofia prostatica benigna; perciò, pur rappresentando un test di facile ed immediata esecuzione, l'ER è dipendente molto dall'esperienza dell'esaminatore con bassa riproducibilità (Smith DS, 1995). Nel 1956 Jewett HJ riportò che circa il 50 % delle lesioni sospette all'esplorazione rettale erano effettivamente di natura neoplastica. Negli studi attuali, il valore predittivo positivo dell'ER varia dal 4% al 80% a seconda delle casistiche (Schroder FH, 1998) (Tabella 1). Inoltre, più del 50% dei tumori individuati in base ad una ER sono in stadio

avanzato (Epstein JI, 1994). E'importante sottolineare come la ER è un esame diagnostico estremamente dipendente dall'esperienza dell'esaminatore e la sua sensibilità, così come la sua specificità, restano notevolmente basse, tanto da renderlo un esame necessario ma sicuramente non sufficiente nella diagnostica precoce delle neoplasie della prostata

TABELLA I: Valore predittivo positivo della ER

<i>PSA ng/ml</i>	<i>Pazienti</i>	<i>Valore predittivo Positivo ( %) della ER</i>
<b>0-0.9</b>	<b>1702</b>	<b>4</b>
<b>1 – 1.9</b>	<b>3305</b>	<b>10</b>
<b>2 – 2.9</b>	<b>1314</b>	<b>11</b>
<b>3 – 3.9</b>	<b>734</b>	<b>33</b>
<b>4 – 9.9</b>	<b>1095</b>	<b>45</b>
<b>&gt;10</b>	<b>217</b>	<b>83</b>

## 2.2 ANTIGENE PROSTATICO SPECIFICO

L'antigene prostatico specifico (PSA), membro della famiglia genica delle callicreine, è una serinoproteasi prodotta dall'epitelio prostatico e dalle ghiandole periuretrali nel maschio. Il gene codificante il PSA è localizzato sul cromosoma 19 (Lundwall A, 1987). Il PSA viene secreto in alte concentrazioni (mg/ml) nel liquido seminale, dove è coinvolto nella liquefazione del coagulo seminale (McGee RS, 1988); si trova normalmente in basse concentrazioni nel siero (ng/ml). La sua espressione è fortemente influenzata dagli androgeni, e la sua presenza nel siero diventa dosabile alla pubertà, con l'incremento dell'ormone luteinizzante e del testosterone (Vieira JC, 1994)

Nel siero circola in forma sia legata che libera. La maggior parte del PSA sierico è complessata ad antiproteasi presenti nel siero, soprattutto all' $\alpha_1$ -antichimotripsina (ACT) e all'  $\beta_2$ -macroglobulina (MG) (Lilja H, 1991). Gli inibitori sierici delle proteasi che si legano al PSA sono presenti in grande eccesso rispetto al PSA sierico, e quindi tutto il PSA enzimaticamente attivo dovrebbe essere complessato. Il legame del PSA all'ACT inattiva la proteasi, ma il complesso PSA-ACT rimane immunologicamente dosabile con le metodiche attualmente disponibili. Il legame del PSA con la MG permette ancora una parziale attività enzimatica proteolitica, ma rende il complesso PSA-MG non dosabile con le

metodiche attualmente disponibili (Christensson A. 1990). Il PSA libero senza attività proteolitica è probabilmente reso inattivo nel contesto della cellula epiteliale prima di essere rilasciato, non forma complesso con antiproteasi circolando quindi “liberamente” nel siero, ed è immunologicamente dosabile con le metodiche attualmente a disposizione. Le forme PSA libero e PSA-ACT, quindi, dosabili con le metodiche disponibili, si pensa rappresentino il PSA totale (Lilja e coll 1991). Si ritiene che la clearance del PSA complessato dal siero avvenga nel fegato in quanto le sue dimensioni sono troppo grandi per la filtrazione glomerulare e anche perché altri complessi delle proteasi sono rimossi da meccanismi epatici. L'emivita sierica del PSA, calcolata dopo la rimozione della ghiandola prostatica è di circa 2-3 giorni (Stamey TA, 1985). Quindi potrebbero essere necessarie 2-3 settimane perché il PSA diventi non dosabile dopo un intervento di prostatectomia radicale.

Il PSA è stato considerato per molto tempo un marcatore tissutale assoluto della ghiandola prostatica. Tuttavia negli ultimi 10 anni è stato identificato in numerosi altri tessuti fra i quali le ghiandole periuretrali, le ghiandole salivari, le ghiandole sudoripare apocrine, l'endometrio, la mammella. Analogamente a quanto avviene nella prostata in tali tessuti il PSA è sottoposto a continua regolazione ormonale. La produzione

extraprostatica di PSA in un maschio adulto è tuttavia irrilevante e priva di significato clinico.

L'aumento sierico del PSA è legato alla rottura della normale architettura prostatica, che permette al PSA di diffondere nel circolo ematico. Ciò può verificarsi nell'ambito di una neoplasia della prostata o in presenza di altre patologie prostatiche. Il PSA non è un marker tumore-specifico ma solo organo specifico ed i livelli sierici di PSA possono innalzarsi sia per patologie maligne che benigne. Altre due comuni patologie possono incrementare i livelli sierici del PSA, l'iperplasia prostatica benigna (IPB) e le prostatiti. Diverse manovre strumentali che prevedono una manipolazione della prostata (cateterismo uretrale, biopsia della prostata, cistoscopia) possono determinare un aumento sierico del PSA che potrebbe richiedere più di 3-4 settimane per rientrare ai valori basali. Anche la ER può determinare un aumento sierico del PSA ma di solito non clinicamente significativo o tale da determinare dei falsi positivi. L'eiaculazione può inoltre comportare una diminuzione significativa del PSA (Herschaman JD 1997; Oesterling JE, 1993). Un problema frequente nell'interpretazione dei livelli sierici di PSA deriva dalla contemporanea assunzione di finasteride da parte dei pazienti: il farmaco, frequentemente usato nel trattamento dell'ipertrofia prostatica benigna inibisce la conversione da testosterone a deidrotestosterone inibendo la 5-alfa-

reduzzasi; può indurre una riduzione delle dimensioni della ghiandola prostatica di circa il 20% e dei livelli di PSA di circa il 50% nell'arco di 3-9 mesi dall'inizio del trattamento in oltre l'80% dei pazienti trattati. Sarebbe pertanto auspicabile disporre di un dosaggio del PSA prima dell'inizio della terapia con finasteride così che in seguito possano essere correttamente valutati i livelli successivi che dovrebbero essere appunto dimezzati entro 6 mesi; la mancata riduzione di almeno il 50% potrebbe far nascere il dubbio della concomitante presenza di un carcinoma prostatico e indurre a un approfondimento diagnostico. Tuttavia in corso di terapia con finasteride il rapporto PSA Free/totale sarebbe inalterato nel tempo (Pannek J., 1998).

Inizialmente si era ritenuto che il PSA non sarebbe stato utile nella diagnosi del carcinoma della prostata a causa della sua scarsa tumore-specificità e per la sovrapposizione dei suoi livelli sierici tra i pazienti affetti da tumore della prostata e quelli affetti da iperplasia prostatica benigna. Ma dalla sua introduzione in ambito clinico nel 1980, si sono prodotti profondi effetti sulla diagnosi e il trattamento del carcinoma prostatico: un incremento del numero di tumori clinicamente e patologicamente localizzati alla sola ghiandola, una diminuzione della malattia metastatica, nonché un aumento delle prostatectomie radicali con intento curativo (Metlin CJ, 1997). Studi retrospettivi hanno suggerito che

un'elevazione della concentrazione sierica del PSA a causa di un tumore, preceda mediamente di 6,2 anni la possibilità di evidenziare la stessa lesione mediante la sola ER (Gann PH, 1997). L'impiego routinario del PSA ha migliorato la diagnosi del carcinoma della prostata rispetto la sola ER. Sembrerebbe quindi che il PSA abbia migliorato notevolmente la diagnosi precoce del tumore prostatico, dimostrandosi un utile strumento di screening permettendo di identificare nella storia di questa patologia una era del pre-PSA ed una era del PSA.

Dal suo impiego nella pratica clinica diversi valori soglia di PSA sono stati impiegati ed analizzati con lo scopo di individuare quel valore soglia che permetta di limitare il numero di falsi positivi (biopsie inutili), di ridurre al minimo il rischio di non diagnosticare lesioni tumorali potenzialmente letali (falsi negativi) evitando la diagnosi di tumori clinicamente non significativi. Dai primi studi condotti dal gruppo di Brawer MK et al (Brawer MK 1993) risulta evidente come la sensibilità e specificità diagnostica del PSA dipendono dal cut-off impiegato (Tabella II)

TABELLA II: Sensibilità e Specificità diagnostica del PSA

<b>Cut-off PSA (ng/ml)</b>	<b>Sensibilità</b>	<b>Specificità</b>
<b>1</b>	<b>100</b>	<b>3.1</b>
<b>2.28</b>	<b>97.5</b>	<b>12.9</b>
<b>3.06</b>	<b>95</b>	<b>21.8</b>
<b>3.4</b>	<b>90</b>	<b>25.3</b>
<b>3.86</b>	<b>85</b>	<b>31.1</b>
<b>4.11</b>	<b>80</b>	<b>35.6</b>

Per molti anni il valore soglia di 4 ng/ml, impiegando il test TANDEM (Hybritech, San Diego, CA) come metodica per il dosaggio del PSA, è stato consigliato come valore soglia ottimale per la diagnosi di tumore della prostata e per minimizzare le biopsie inutili negli uomini tra i 50 e 70 anni di età (Catalona WJ, 2000). Studi più recenti hanno (Thompson I, 2004) evidenziato come anche per livelli di PSA inferiori a 4 ng/ml l'incidenza di tumore della prostata clinicamente significativo è elevata. Attualmente il range di PSA totale compreso tra 4 e 10 ng/ml è comunemente riferito come la zona diagnostica grigia, di dubbia interpretazione per la diagnosi precoce del tumore della prostata. In questo intervallo il dosaggio del PSA è associato ad una bassa specificità diagnostica e ridotta predittività diagnostica per la presenza del tumore. L'analisi dei dati di studi clinici eseguiti per lo screening del tumore della

prostata su una popolazione maschile di età superiore ai 50 anni o più, ha rilevato che più del 10% di questi uomini ha un valore di PSA di 4 ng/ml o più alto. I risultati della biopsia, su tale tipo di popolazione, dimostrano un valore predittivo positivo tra il 12 e il 32% (Catalona WJ, 1994; Hammer P 1994; Ellis WJ 1994) in caso di esplorazione rettale non sospetta. L'esecuzione di una biopsia della prostata, metodica gravata da elevata morbilità e con scarsa compliance del paziente, in questo gruppo di pazienti non rileverebbe nessun segno di malignità in tre su quattro pazienti. Inoltre i dati dell'European Randomized Screening Trial for Prostate Cancer (Schroder FH 1998) hanno dimostrato solo del 62% la presenza di una neoplasia organo confinata nei pazienti con valore di PSA tra 4 e 10 ng/ml. Catalona WJ et al (Catalona WJ 2000) hanno riscontrato, in un gruppo di pazienti sottoposti a biopsia della prostata con valori di PSA tra 2,6 e 4ng/ml e una normale ER, la presenza di una neoplasia della prostata nel 22% (73 pts su 332). In questo gruppo dopo prostatectomia radicale l'81% dei pazienti presentava una neoplasia organo-confinata (42 su 52) con un 17% di tumori di volume inferiore a 0,5 cc e con Gleason score < 6 e quindi clinicamente non rilevanti Schroder et al. hanno valutato le caratteristiche delle neoplasie della prostata diagnosticate in pazienti di età compresa tra i 54 ed i 74 anni nello studio European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (Schroder et al, 1998). Circa il 50% delle

neoplasie riscontrate nel range di PSA tra 0 e 4 ng/ml presentava le caratteristiche di una neoplasia aggressive (Gleason score di 7 o maggiore, componente 4 o 5 di Gleason).

Recentemente l'analisi dei dati dello studio Prostate Cancer Prevention Trial (PCPT) condotto da IM Thomson et al 2004 su 18800 pazienti, (Tabella III) ha evidenziato la presenza di neoplasia della prostata nel 15.2% dei 2950 con PSA < 4 sottoposti a biopsia della prostata con un 14.9% di neoplasie con Gleason score biopstico > 7. Una sub-analisi dei dati ha evidenziato inoltre la presenza di neoplasia della prostata nel 23.9% dei pazienti con valori di PSA tra 2.1 e 3 ng/ml e nel 26.9% dei pazienti con valori tra 3.1 e 4 ng/ml, incidenza sovrapponibile a quella riscontrata da altri autori su 1653 pazienti con valore di PSA tra 4 e 10 ng/ml (Catalona WJ, 1993) Questi dati hanno indotto alcuni autori a considerare terminata l'era dell'impiego del PSA come test di screening con la conseguente necessità di individuare nuovi marcatori o nuove metodiche per la diagnosi precoce della neoplasia della prostata.

TABELLA III: Specificità e Sensibilità diagnostica del PSA nei pazienti con PSA < 4 ng/ml (dati del PCPT)

<b>PSA level</b>	<b>Pazienti</b>	<b>Incidenza Cancro</b>	<b>Gleason &gt; 7</b>	<b>Sensibilità</b>	<b>Specificità</b>
<b>&lt; 0.5 ng/ml</b>	<b>486</b>	<b>6.6%</b>	<b>12.5%</b>	<b>1.0</b>	<b>0.0</b>
<b>0.6 – 1 ng/ml</b>	<b>791</b>	<b>10.1%</b>	<b>10%</b>	<b>0.93</b>	<b>0.02</b>
<b>1.1 – 2 ng/ml</b>	<b>998</b>	<b>17%</b>	<b>11.8%</b>	<b>0.75</b>	<b>0.33</b>
<b>2.1 – 3 ng/ml</b>	<b>482</b>	<b>23.9%</b>	<b>19.1%</b>	<b>0.37</b>	<b>0.73</b>
<b>3.1 – 4 ng/ml</b>	<b>193</b>	<b>26.9%</b>	<b>25%</b>	<b>0.12</b>	<b>0.92</b>

Il PSA conserva invece il suo ruolo in pazienti con un PSA totale > 10 ng/ml che senza un'esplorazione rettale sospetta, hanno una possibilità maggiore del 40% di essere affetti da tumore prostatico (Catalona WJ 1993) con una probabilità del 25% di malattia organo confinata. (Corner e coll. 1990).

Come per la quasi totalità degli altri esami ematochimici, anche la valutazione del PSA deve fare riferimento a un valore soglia che in genere rappresenta la distribuzione del marcatore nei soggetti normali; e sebbene il livello di cut-off più largamente utilizzato è ancora quello di 4 ng/ml; tuttavia oggi sappiamo che il 25-30% dei pazienti portatori di un carcinoma prostatico localizzato presenta alla diagnosi un PSA compreso fra 2,5 e 4

ng/ml e che comunque nel range di PSA tra 2.5 e 10 la specificità diagnostica del PSA è molto bassa. Per tale motivo sono stati proposti diverse isoforme del PSA in alternativa o in associazione al PSA totale con lo scopo di migliorare la sua accuratezza diagnostica.

### **2.2.1 PSA LIBERO**

Come è stato già detto precedentemente, esiste anche una significativa percentuale di forme di PSA libero (free PSA), che virtualmente non sono reattive con le alte concentrazioni di antiproteasi presenti nel sangue (Lilja H. e coll. 1991). Clinicamente, è importante poter disporre di metodiche di laboratorio in grado di determinare tutti gli epitopi di PSA libero che non partecipano alla formazione dei complessi covalenti con le antiproteasi come l'ACT (Christensson A, 1990). Questo fenomeno pone le basi per la determinazione del rapporto PSA libero/totale (%fPSA). Per ragioni ancora non note, un basso rapporto si riscontra nei pazienti affetti da tumore prostatico rispetto ad individui sani (Christensson A, 1993). Questo dato è simile all'osservazione fatta da Stenman UH (1991) che la percentuale di PSA complessato è più alta nei pazienti con tumore rispetto a quelli sani. Questo aumento potrebbe essere dovuto alla produzione da parte del tumore anche di ACT (Chen Z, 1997), che legando le molecole di PSA prodotte dal tumore aumenterebbe, appunto la frazione

legata di PSA. Attraverso la simultanea determinazione sia del libero che del PSA totale, il rapporto calcolato aumenta il numero di mezzi utili per la diagnosi del tumore prostatico.

Numerosi studi hanno valutato la sensibilità e la specificità del rapporto PSA libero/totale, per la diagnosi del tumore prostatico. Questi studi dimostrano che, usando un valore soglia tra il 14 e 28%, dal 19 al 64% di biopsie non necessarie potrebbero essere evitate mantenendo, allo stesso tempo, una sensibilità per l'individuazione del tumore del 71-100% (Luderer AA, 1995). Impiegando un valore soglia per la %fPSA, minore del 25%, si riducono di circa il 20% il numero di biopsie nel range di PSA compreso tra 4 e 10 ng/ml (Catalona WJ, 1998). Dipende dal medico che cut-off impiegare valutando le variazioni di specificità diagnostica associata (Tabella IV)

TABELLA IV: Sensibilità e Specificità del rapporto PSA libero/Totale in base al cut-off.

<b>Autore</b>	<b>N° pts</b>	<b>PSA range (ng/ml)</b>	<b>Cutoff F/T%</b>	<b>Sensibilità</b>	<b>Specificità</b>
<b>Catalona (95)</b>	<b>74</b>	<b>4-10</b>	<b>20</b>	<b>90</b>	<b>38</b>
			<b>23</b>	<b>90</b>	<b>31</b>
<b>Catalona (98)</b>	<b>773</b>	<b>4-10</b>	<b>22</b>	<b>90</b>	<b>29</b>
			<b>25</b>	<b>95</b>	<b>20</b>
<b>Catalona (97)</b>	<b>332</b>	<b>2.6-4</b>	<b>27</b>	<b>90</b>	<b>18</b>

La Food and Drug Administration Americana (FDA) ha approvato, l'impiego del %fPSA per valori di PSA totale compresi tra 4-10 ng/ml. L'impiego del %fPSA, nei pazienti con PSA nel range tra 2,6 e 4 ng/ml, ha dimostrato che un valore soglia del 27% può aiutare ad individuare ben il 90% dei tumori, riducendo del 18% il numero di biopsie inutili (Catalona WJ, 1997)

Nell'uso clinico del %fPSA, è importante rilevare alcune limitazioni legate soprattutto alla metodica di misurazione (Partin AW, 1996). Sono stati messi recentemente in commercio kit per il dosaggio del PSA coniugato. Rispetto a quelli per il dosaggio del PSA libero, questi avrebbero il vantaggio della maggiore stabilità nel tempo. Infatti, il dosaggio del PSA

libero deve essere effettuato sul siero fresco, a breve distanza dal prelievo. La variabilità legata al metodo rimane invece ancora elevata per il dosaggio del PSA libero. Considerato che il PSA libero viene espresso in rapporto al PSA totale, in caso di dosaggio di entrambe le forme la variabilità legata al libero fa sì che il risultato sia ancora metodo-dipendente con il risultato di un rapporto libero/totale più basso, falsamente indicativo di tumore. Per cui l'uso di dosaggi equimolari, capaci di misurare con la stessa concentrazione molare sia il libero che il PSA totale, è fortemente consigliata

Secondo, la manipolazione della prostata incrementa la concentrazione del PSA totale, a causa di un incremento del PSA libero: un'analisi sui componenti di campioni di PSA totale, prelevati prima e durante intervento di prostatectomia radicale, dimostrò che fondamentalmente tutti gli incrementi del PSA totale durante manipolazioni ghiandolari sono dovuti al rilascio di PSA libero. La percentuale di PSA libero aumenta di una media del 50% in conseguenza di una manipolazione prostatica.(Lilja H, 1999).

Lo stesso può accadere in seguito a esplorazione rettale, biopsia prostatica, e di altre manovre strumentali (cateterismo uretrale, cistoscopia); per cui è necessario attendere almeno 72 ore prima di eseguire un dosaggio del PSA libero e totale, dopo aver eseguito tali manovre.

Infine, anche il volume prostatico può influenzare la percentuale di PSA libero (Haese A, 1997). Nelle prostate più piccole, esiste una differenza

statisticamente significativa nella percentuale di PSA libero, quando pazienti con patologie benigne vengono confrontati con pazienti affetti da tumore. Tuttavia con l'aumentare del volume prostatico, la differenza nella %fPSA tra tumore e patologie benigne diminuisce, e a grossi volumi prostatici la differenza diviene pressoché indistinguibile. Un simile risultato si è ottenuto quando prostate minori di 35 ml e maggiori di 35 ml sono state confrontate: impiegando un valore soglia di %fPSA del 14% per le prostate piccole e del 25% per quelle più grandi, ottenendo così la stessa accuratezza diagnostica (Partin AW, 1996). Catalona et al 1994 hanno dimostrato che nei pazienti con PSA nel range tra 4 e 10 ng/ml e non alterazioni alla ER, impiegano un cut-off del 23% per il rapporto Free/Total PSA è possibile eliminare il 31% delle biopsie inutili negli uomini con prostate di volume maggiore di 40 grammi mentre un cut-off del 14% può permettere di risparmiare una biopsia inutile al 76% degli uomini con volume ghiandolare inferiore ai 40 grammi.

Attualmente non è possibile individuare un valore soglia ideale per il rapporto free PSA/PSA totale che possa permettere di identificare il maggior numero di neoplasie riducendo invece il numero di falsi positivi. In conclusione, il rapporto PSA libero/totale fornisce un miglioramento variabile nella specificità, mantenendo un'alta sensibilità per la diagnosi del tumore prostatico negli uomini con un PSA totale di 2,6-10 ng/ml.

### 2.2.2 PSA COMPLEX

Come sottolineato già in precedenza, il PSA forma stabili complessi covalenti con le maggiori antiproteasi extracellulari, come ACT,  $\alpha_2$ -macroglobulina, e proteina C attivata (Bjork T, 1996), e in misura minore e molto debolmente con  $\alpha_1$ -antitripsina (API-PSA) del sangue (Allard WJ, 1998). La somma del ACT-PSA, API-PSA (che corrisponde a solo lo 0,5-2 % del PSA totale) e di altri complessi del PSA conosciuti da poco tempo, è indicata come PSA complex (cPSA). Questa forma di PSA è anche significativamente influenzata dalla presenza del tumore prostatico, come descritto inizialmente da due studi in Svezia e Finlandia (Christensson A. 1993; Stenman UH 1991). Successivamente sono stati messi a punto dei kit immunologici per la misura del cPSA che evitassero l'interferenza di altre proteasi legate all'ACT (come le proteasi secrete dai granulociti). Numerosi studi hanno valutato l'efficacia del cPSA rispetto nel range di PSA totale di 2,5-4 ng/ml (Okihara K, 2001), 2,6-20 ng/ml (Mitchell ID, 2001), 4,1-10 ng/ml (Okegawa T, 2000), dimostrando che il cPSA possiede una specificità superiore rispetto al solo PSA totale. Con un livello di sensibilità in del 92-95% la specificità del cPSA era del 23-42%; con la stessa sensibilità, la specificità del PSA totale era del 14-18%.(Tabella V)

TABELLA V: Sensibilità e Specificità diagnostica del cPSA versus PSA e Free/total PSA

<b>Autore</b>	<b>Test</b>	<b>PSA range</b>	<b>Cut-off (ng/ml)</b>	<b>Sensibilità</b>	<b>Specificità</b>
<b>Okegawa (00)</b>	<b>cPSA</b>	<b>4.1 - 10</b>	<b>4.6</b>	<b>92</b>	<b>23</b>
	<b>PSA</b>		<b>4.8</b>	<b>92</b>	<b>14</b>
	<b>%F/T</b>		<b>18%</b>	<b>92</b>	<b>35</b>
<b>Mitchell (01)</b>	<b>cPSA</b>	<b>2.6 - 20</b>	<b>3.5</b>	<b>95</b>	<b>24.8</b>
	<b>PSA</b>		<b>3.97</b>	<b>95</b>	<b>17.4</b>
	<b>%F/T</b>		<b>30%</b>	<b>95</b>	<b>15.6</b>
<b>Okihara (01)</b>	<b>cPSA</b>	<b>2.5 - 4</b>	<b>2.19</b>	<b>95</b>	<b>38</b>
	<b>%F/T</b>		<b>31%</b>	<b>95</b>	<b>11</b>
<b>Brawer (00)</b>	<b>cPSA</b>	<b>0.32 - 117</b>	<b>2.75</b>	<b>95</b>	<b>24</b>
	<b>PSA</b>		<b>3.06</b>	<b>95</b>	<b>18</b>
	<b>%F/T</b>		<b>23.9%</b>	<b>95</b>	<b>23</b>

I valori del cPSA possono essere determinati o attraverso dosaggio immunologici, o sottraendo il valore di PSA libero a quello del PSA totale. La misura del cPSA nel siero rappresenterà probabilmente un ulteriore tentativo per migliorare la specificità diagnostica del PSA totale nella diagnosi del tumore della prostata.

### 2.2.3 DERIVATI DEL PSA

I derivati del PSA sono permutazioni del PSA totale sviluppati per migliorare la sensibilità e la specificità della diagnosi precoce del tumore prostatico. Sono fondamentalmente tre: densità del PSA, velocità del PSA, e valori PSA in base all'età del paziente.

La densità del PSA (PSA-D) è stata introdotta da Benson MC e coll. nel 1992. Il PSA-D è ottenuto dividendo la concentrazione sierica del PSA per il volume prostatico. PSA density esprime il rapporto fra il PSA totale e le dimensioni misurate ecograficamente della ghiandola prostatica, e si basa sul fatto che la quantità di PSA prodotta per ogni grammo di tessuto prostatico è molto maggiore nel cancro che non nell'ipertrofia prostatica benigna. Tuttavia la sua utilità nell'aumentare l'accuratezza diagnostica del PSA nel range di PSA tra 4 e 10 ng/ml è risultata nella pratica clinica inferiore alle aspettative, soprattutto per la difficoltà nella determinazione ecografica del volume prostatico (margine di errore superiore al 20%) nonché per il rapporto non costante, in soggetti diversi, fra componente ghiandolare (ricca di PSA) e stromale della ghiandola. Anche la PSA density della zona di transizione non si è rivelata adeguata per migliorare l'accuratezza diagnostica del PSA totale (Partin AW 1990; Seaman E. 1993).

Un altro criterio diagnostico promettente è il tasso d'incremento di PSA nel tempo. Sembra, infatti, che la variazione quantitativa su base annuale tra prelievi seriali di uno stesso paziente sia più significativa del valore assoluto del PSA nella diagnosi differenziale tra cancro ed ipertrofia (Carter HB, 1993).

La velocità del PSA viene determinata attraverso la seguente formula

(Smith 1994):

$$\frac{PSA2 - PSA1}{tempo1 \text{ (in anni)}} + \frac{PSA3 - PSA2}{tempo2 \text{ (in anni)}}$$

(PSA1: primo dosaggio del PSA, PSA 2, secondo dosaggio, PSA 3, terzo dosaggio)

Diversi studi hanno dimostrato come i pazienti con tumore della prostata presentano un incremento maggiore del PSA nel tempo. Attualmente una PSA velocity > di 0,75 ng/ml all'anno è descritta come sospetta per neoplasia della prostata. Smith DS e Catalona WJ hanno evidenziato la presenza di tumore della prostata nel 47% di uomini con una PSA velocità > di 0,75 ng/ml per anno rispetto ad un 11% di riscontro di neoplasia in pazienti con PSA velocity < a 0.75 ng/ml. L'impiego di almeno tre dosaggi consecutivi di PSA in un arco temporale di circa 18 mesi è considerato il metodo migliore per un corretto calcolo della PSA velocity (Smith DS e Catalona WJ 1995; Carter HB 1993). Tuttavia, mentre la PSA velocity è impiegata di routine nella valutazione e follow-up dei pazienti affetti da tumore della prostata e sottoposti a terapia chirurgica o radioterapia, il suo impiego nella diagnosi precoce della neoplasia della prostata non si è ancora diffuso nella pratica clinica.

È noto che il PSA tende ad aumentare con l'età anche nei pazienti non affetti da neoplasia e quest'aumento non presenta una relazione lineare con l'aumento di volume ghiandolare. Sono disponibili in letteratura delle tabelle (Oesterling JE 1996) (Tabella VIII) in cui il valore soglia del PSA viene modificato in relazione all'età del paziente; questo metodo dovrebbe portare a una maggiore sensibilità del metodo nei pazienti più giovani (ove la diagnosi precoce di forme iniziali è più importante) favorendo invece la specificità nei soggetti più anziani riducendo i falsi positivi ed il numero di biopsie inutili.

TABELLA VIII: Cut-off del PSA in base all'età del paziente

<b>ETA' (anni)</b>	<b>PSA: cut-off (ng/ml)</b>
<b>40 – 49</b>	<b>0 – 2.5</b>
<b>50 – 59</b>	<b>0 - 3.5</b>
<b>60 – 69</b>	<b>0 - 4.5</b>
<b>70 - 79</b>	<b>0 - 6.5</b>

In uno studio di 4600 uomini, impiegando gli intervalli di PSA età-specifici è stato possibile identificare 74 ulteriori tumori negli uomini con

60 anni o meno. Nell'80% dei tumori la malattia era organo confinata e con un Gleason Score <a 7. Negli uomini più giovani, l'accuratezza diagnostica è aumentata del 18% con una riduzione del 22% nei soggetti più anziani (Partin AW, 1996).

Uno dei limiti dell'impiego dei range di PSA età-specifico è quello di ridurre la possibilità di diagnosticare neoplasie della prostata clinicamente significative nei pazienti più anziani. Per tale motivo i range di PSA età specifici non sono attualmente approvati dalla FDA americana.

### **2.3.: ECOGRAFIA TRANS RETTALE**

L'impiego della ecografia prostatica trans-rettale (TRUS) nella diagnosi precoce del tumore della prostata è stato ampiamente valutato soprattutto in Italia. Tuttavia, l'iniziale entusiasmo per l'utilizzo dell'ecografia nella diagnosi precoce di carcinoma prostatico grazie all'identificazione di lesioni ipoecogene non è stato confermato dalle numerose ricerche eseguite negli ultimi anni. Flaningan RC e coll. (1994) hanno evidenziato che solo il 18% di 855 lesioni ecografiche sospette risultavano poi confermate da una successiva biopsia della prostata, mentre nel 65% dei casi si rilevava la presenza di neoplasia in aree della prostata ecograficamente normali. Un altro limite della TRUS è nello scarso potere di risoluzione su lesioni non evidenziabili alla esplorazione rettale e di

diametro inferiore ad 1 cm (Carter HB, 1989). L'assunto tradizionale che il carcinoma prostatico si esprimesse con aree ipoecogene all'ecografia transrettale non ha retto la prova del tempo; è oggi ben noto che le aree ipoecogene possono essere aree prive di neoplasia, e che tra il 25% ed il 50% delle neoplasie non sarebbe diagnosticato se fossero sottoposti a biopsie solo i pazienti con lesioni ipoecogene (Ellis WJ, 1994; Hammer P, 1994); inoltre il 40% dei carcinomi presenta un pattern ecografico di tipo isoecogeni e più raramente iperecogeno. Attualmente l'ecografia transrettale non aggiunge pressoché nulla alla sensibilità-specificità della combinazione PSA - ER per la diagnosi precoce di carcinoma.

Resta uno strumento fondamentale nella valutazione delle dimensioni e della morfologia della ghiandola (pianificazione di trattamenti locali) e nell'esecuzione delle biopsie prostatiche ecoguidate della prostata che rappresentano comunque l'unico metodo per una diagnosi certa di neoplasia prostatica; la TRUS permette di misurare in maniera sufficientemente precisa il volume della prostata e di visualizzarne la morfologia, l'aspetto ecografico interno della ghiandola, nonché quello della sua capsula e delle strutture adiacenti.

In conclusione, la sensibilità, la specificità e l'accuratezza diagnostica della TRUS (< 10% di positività delle biopsie eseguite solo sulle aree ipoecogene) sono così basse, che il suo uso non può essere consigliato nella

diagnosi precoce, nello screening o nel follow-up delle neoplasie della prostata (Corner WH, 1990).

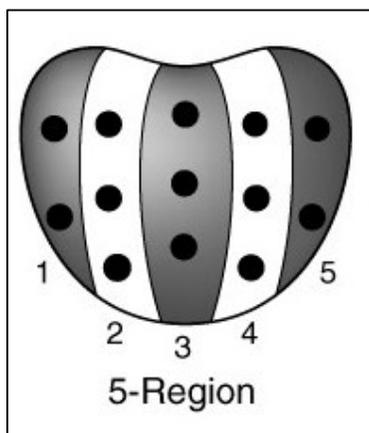
#### **2.4- BIOPSIA PROSTATICA**

Attualmente in presenza di un sospetto diagnostico sulla base di un PSA elevato e di una ER viene eseguita una biopsia della prostata per confermare o smentire il sospetto diagnostico. L'esame dei campioni bioptici prelevati è l'unico esame che permette di eseguire una diagnosi di certezza per la presenza di neoplasia della prostata. La biopsia prostatica viene eseguita mediante una tecnica di prelievo transrettale o transperineale, impiegando comunque l'ecografia prostatica transrettale per identificare la ghiandola prostatica e mirare i prelievi bioptici.

La biopsia prostatica transperineale, sotto guida digitale, è stata la principale tecnica adoperata fino al 1980 per ottenere campioni di tessuto e poter, quindi accertare l'esistenza del tumore. Nel 1989, anno in cui venne introdotta la biopsia a sei campioni (*sextant biopsy*), si è osservato un significativo incremento delle diagnosi di neoplasia prostatica, soprattutto per le forme iniziali e localizzate alla ghiandola (Hodge KK, 1989). La tecnica originalmente descritta da Hodge, prevedeva il prelievo di sei campioni di tessuto prostatico sotto guida ecografica trans-rettale. I prelievi vengono eseguiti nel piano parasagittale a metà tra il margine laterale e

l'asse verticale della prostata all'altezza della base, della porzione media e dell'apice su entrambi i lati destro e sinistro. Il campionamento avveniva in modo random e simmetrico. La tecnica di Hodge è stata impiegata per oltre un decennio come tecnica gold-standard per l'esecuzione di biopsie della prostata. Recentemente tale metodica è considerata sub-ottimale e diversi schemi biopistici sono stati proposti da diversi autori con l'intento di incrementare il potere diagnostico della biopsia prostatica che presenta secondo le casistiche una percentuale di falsi negativi del 30% circa. Stamey TA nel 1995 suggerì di spostare più lateralmente le biopsie per biopistizzare anche le ali della ghiandola.

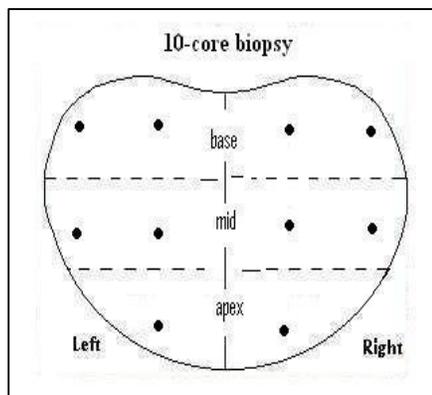
Attualmente meno del 17% degli urologi usa lo schema biopistico proposto da Hodge (Davis M, 2002), preferendo altri schemi finalizzati a minimizzare il numero di falsi negativi attraverso un maggior numero di campioni e di prelievi nella parte più laterale della zona periferica. Uno dei primi studi per valutare l'utilità di schemi biopistici più estesi nella zona



periferica, giunge da Eskew LA e coll. (1997), che riportarono il loro schema a cinque regioni (*five-region biopsy*).

Questo schema include lo schema a sei campioni standard (regioni 2 e 4) associato a due prelievi nelle ali (regione 1 e 5) e tre lungo l'asse

sagittale (regione 3) rispettivamente sull'apice, sulla porzione intermedia, e sulla base della prostata. Dei 119 pazienti esaminati, ben il 40% aveva un tumore, di cui solo il 35% era stato individuato nella regioni 1,3 e 5, e solo due tumori (2% circa) erano stati individuati nella sola regione 3. Tuttavia, questo schema è gravato da una percentuale elevata di complicanze in particolare macroematuria presente in circa l'80% dei pazienti, probabilmente per i prelievi nella regione 3 che possono facilmente interessare l'uretra.



Presti e coll (Presti JC, 2000).hanno recentemente proposto uno schema di biopsia a 10 (*10-core biopsy*) Nello schema proposto da Presti et al non vengono inclusi nel campionamento i prelievi della zona di transizione. Si ottiene così una

schema che include la biopsia a sei campioni standard più altri quattro prelievi effettuati medialmente all'estremità laterale della prostata all'altezza della porzione intermedia e della base. Questo schema ha permesso di individuare circa il 20% delle neoplasie in più rispetto alla tecnica standard proposta da Hodge.

Recentemente uno schema biptico a 12 prelievi (*12-core biopsy*).è stato ampiamente valutato Questo schema è molto simile allo schema a 10-

prelievi, ma con 2 prelievi sull'apice anziché uno soltanto (Presti JC, 2003). Gore e coll. (2001) hanno valutato questo schema in 396 pazienti; in 264 pazienti (il 67%) sottoposti a biopsia per la prima volta, la percentuale di tumori individuati in questo sottogruppo è stata del 42%; impiegando la tecnica di prelievo standard a 6 prelievi si sarebbero identificati solo il 71% dei tumori, mentre se associando i prelievi laterali venivano individuati tutti i tumori. Dati simili sono stati riprodotti in uno studio retrospettivo comprendente 167 centri specialistici (Presti JC, 2003).

Il numero di prelievi da eseguire è inoltre in relazione al volume ghiandolare in esame. Maggiore è il volume, più numerosi devono essere i frammenti biopsizzati, allo scopo di garantire un completo mapping del tessuto prostatico. Recentemente Remzi M (2005) ha proposto un nomogramma (nomogramma di Vienna) che prende in considerazione il volume della prostata e l'età del paziente per decidere quanti prelievi effettuare durante la biopsia, da un minimo di 6 a un massimo di 18 garantendo una accuratezza diagnostica che si avvicina al 90%.

In caso di negatività della prima biopsia ma di persistenza dei sospetti clinici o di laboratorio per la presenza di neoplasia della prostata, è in generale indicato ripetere la procedura non prima che siano trascorsi tre mesi dalla precedente; in genere nella seconda seduta biopsica vengono eseguiti prelievi anche sulla zona di transizione che generalmente non

viene campionata nella prima seduta per la maggior morbilità che questa procedura comporta.

La biopsia della prostata purtroppo non è una metodica diagnostica priva di complicanze e di solito è scarsamente tollerata dal paziente. Le complicanze più frequenti sono rappresentate da dolore intenso 60-80%, ematuria 12-70%; ematospermia 5-45%, rettorragia 2.8-37%, febbre 0-4.2%, infezioni urinarie 1.2-53%, crisi vagale 5.3-9%, ritenzione urinaria 0-1%, sepsi 0-0.6%, disuria 6-20% (Terris KM, 1991) L'impiego di metodiche con un numero sempre maggior di prelievi, ha marcatamente ridotto la compliance del paziente per la procedura biopistica soprattutto per la sintomatologia dolorosa associata. Per tale motivo diverse tecniche di analgesia loco-regionale sono state proposte come il blocco periprostatico con lidocaina o carbocaina o l'impiego di gel anestetico endorettale. (Trucchi A 2004, Desgrandchamps F, 1999). Queste tecniche hanno permesso di rendere la biopsia prostatica una procedura priva di dolore, ben tollerata dai pazienti senza ulteriore morbilità associata all'impiego degli anestetici locali. (Alavi AS, 2001).

## **2.5 TISSUE RESONANCE INTERACTION METHOD PROBE (TRIMprob)**

Recentemente la Galileo Avionica, una Società Finmeccanica operante nel campo della ricerca militare, avvalendosi di competenze e tecnologie militari avanzate, ha industrializzato una nuova strumentazione diagnostica, portatile e non invasiva, denominata TRIMprob (Tissue Resonance Interaction Method Probe), che consente di evidenziare in tempo reale e in maniera decisamente precoce diverse patologie, dagli stati infiammatori alle formazioni tumorali. Lo strumento, di semplicissimo utilizzo, consente di esaminare i diversi distretti del corpo umano in pochi minuti, senza provocare il minimo disagio per il paziente. L'apparecchiatura è composta da una maser ibrido: sottile sonda cilindrica della lunghezza di circa 30 centimetri alimentata a batterie ed in grado di emettere onde elettromagnetiche di circa 0.2 radianti di ampiezza e di frequenza compresa tra i 460-466, 930-932 ed 1380-1398 MHz e da un ricevitore. Un applicativo software appositamente elaborato da Galileo Avionica è deputato all'acquisizione, alla lettura e alla gestione dei dati diagnostici. Il segnale elettromagnetico, di debole intensità, emesso dalla sonda del TRIMprob si autosintonizza su frequenze caratteristiche delle strutture esaminate ed il suo potere di penetrazione dipende dalle caratteristiche dielettriche dei tessuti. La capacità penetrativa, del fascio di radiazioni elettromagnetiche con frequenza pari a 465Mhz che attraversa i tessuti

superficiali del perineo e la prostata, è di circa 20 cm. Quando questo campo elettromagnetico incontra sulla propria linea di propagazione un aggregato in stato biologico alterato, s'innescano un fenomeno di interferenza con la struttura in analisi che in base alle sue caratteristiche strutturali può in parte o completamente annullare l'intensità delle onde elettromagnetiche emesse. Tale fenomeno, interpretato attraverso algoritmi proprietari, consente di identificare differenti patologie: neoplasie, fibromi, calcificazioni, stati infiammatori, problemi circolatori, lesioni osteo-articolari, muscolari e tendinee. Interamente sviluppato in Italia il prodotto, basato sulla tecnologia HSM (Hybrid State Maser) ideata dal fisico Clarbruno Vedruccio, all'inizio della nostra sperimentazione è già presente in alcuni esemplari prototipi dallo stesso realizzati, ed è stato sperimentato e sviluppato dalla Galileo Avionica al fine di rilevare la disomogeneità nel terreno per la localizzazione di ordigni esplosivi interrati e solo successivamente si è osservata un'interferenza dello strumento anche con la "materia" biologica. Il prototipo del TRIMprob è stato testato nella valutazione dei pazienti con sospetta neoplasia prostatica presso la divisione di urologia dell'Ospedale San Carlo Borromeo di Milano dal gruppo del Dr Bellorofonte. Nella loro esperienza le onde elettromagnetiche a 465 MHz emesse dalla sonda del TRIMprob in presenza di neoplasia prostatica vengono quasi completamente assorbite

mentre la presenza di tumore non altera il fascio di onde elettromagnetiche di frequenza maggiore e permettono di differenziare pazienti sani da pazienti con neoplasia della prostata localizzata.

### 2.5.1 INTERAZIONI DELLE ONDE ELETTROMAGNETICHE CON I TESSUTI BIOLOGICI

Negli ultimi venti anni, la possibile relazione tra l'esposizione alla

energia prodotta dai campi

elettromagnetici e gli effetti nocivi

sulla salute umana, ha suscitato un

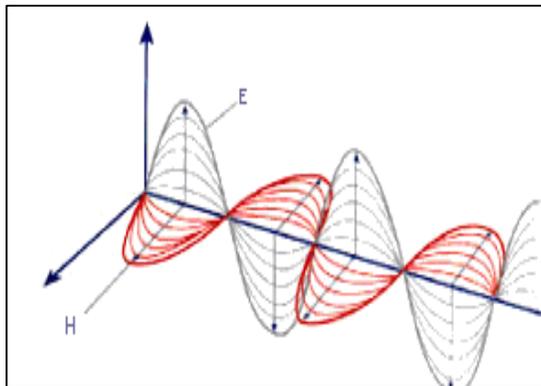
significativo interesse sia nella

comunità scientifica che nella

popolazione generale. Le onde

elettromagnetiche sono una

**Figura 1:** oscillazione perpendicolare del campo elettrico e magnetico



forma di propagazione dell'energia nello spazio e, a differenza delle onde

meccaniche, si possono propagare anche nel vuoto. Il campo elettrico (E) e

il campo magnetico (H) oscillano perpendicolarmente alla direzione

dell'onda. La velocità di propagazione delle onde elettromagnetiche è di

300.000 Km/s (chilometri per secondo), variabile però in relazione alla

densità del mezzo attraversato (minore per i mezzi più densi). Ogni onda

elettromagnetica è definita dalla sua frequenza, cioè il numero di

oscillazioni compiute in un secondo, e si misura in cicli al secondo o Hertz

(Hz); maggiore è la frequenza di un'onda, maggiore è l'energia che trasporta. L'onda elettromagnetica è caratterizzata, inoltre, da altre tre grandezze fisiche: l'intensità del campo elettrico misurata in volt/metro (V/m); l'intensità del campo magnetico misurata in ampere/metro (A/m); e l'intensità dell'energia trasportata misurata in Joule. L'insieme di tutte le onde elettromagnetiche, classificate in base alla loro frequenza, costituisce lo spettro elettromagnetico (Tabella IX). Lo spettro può essere diviso in due sezioni, a seconda che le onde siano dotate o meno di energia sufficiente a ionizzare gli atomi della materia con la quale interagiscono:

- radiazioni non ionizzanti (NIR = Non Ionizing Radiations), comprendono le radiazioni fino alla luce visibile; vengono ulteriormente divise in radiazioni a bassa (ELF) e alta frequenza (radiofrequenze (RF) e (MW) microonde). La classificazione si basa sulla diversa interazione che i due gruppi di onde hanno con gli organismi viventi e i diversi rischi che potrebbero causare alla salute umana.
- radiazioni ionizzanti (IR = Ionizing Radiations), coprono la parte dello spettro dalla luce ultravioletta ai raggi gamma.

Lo studio degli effetti biologici prodotti dalle onde elettromagnetiche ha fondamentalmente due finalità principali: capire quale sia l'effettivo rischio per la salute dell'uomo ed esser in grado così di determinare standard di sicurezza nell'uso delle comuni apparecchiature elettriche (telefonini e forni a microonde per esempio), e consentire lo sviluppo di apparecchiature mediche per la diagnosi e la terapia delle malattie. Il rischio per la salute umana viene valutato, fondamentalmente, attraverso tre categorie di studi: epidemiologici (in cui i ricercatori cercano di stabilire se esista un'associazione statistica tra esposizione a campi elettromagnetici e incidenza di una specifica patologia, o di altri specifici effetti nocivi), in vivo (su modelli sperimentali animali, al fine di rilevare il livello dose-risposta), e in vitro (su sistemi cellulari al fine di comprendere i meccanismi attraverso cui una forza fisica viene convertita in un'azione biologica all'interno del corpo). Ciascuna categoria presenta, però, delle limitazioni e delle validità che dovrebbero essere considerate in ogni interpretazione dei dati (McCormick D, 2004).

Gli effetti biologici generati dalle onde elettromagnetiche non ionizzanti sull'organismo umano sono correlati alla quantità di energia assorbita dal tessuto; tale quantità, definita in fisica come potenza specifica assorbita o SAR (SPECIFIC ABSORPTION RATE), è proporzionale alle proprietà fisiche delle onde incidenti (frequenza, intensità, polarizzazione, e

posizione relativa della sorgente e del tessuto) ed alle caratteristiche del tessuto (permittività, conduttività, permeabilità). Da un punto di vista elettrico, i tessuti biologici si comportano, a seconda del loro contenuto idrico e della frequenza del campo elettromagnetico, come dielettrici o come conduttori più o meno buoni; il loro comportamento è descritto da due grandezze fondamentali: *conduttività*  $\sigma$  (l'attitudine di un conduttore ad essere percorso da corrente elettrica, riferita ad una unità dimensionale del conduttore; si misura siemens/metro) e *permittività*  $\epsilon$  (polarizzabilità di un materiale non conduttore, cioè la tendenza di cariche legate a separarsi sotto l'azione di un campo elettrico esterno); *permeabilità*  $\mu$  magnetica esprime l'attitudine di una sostanza a lasciarsi magnetizzare, è un concetto molto simile alla permittività, in quanto descrive la relazione tra i dipoli magnetici e il campo magnetico. Sebbene non sono conosciuti a fondo le modalità attraverso le quali l'energia elettromagnetica interagisca con l'organismo, attualmente esiste la generale tendenza ad accettare l'ipotesi che esse agiscano per mezzo di microcorrenti indotte (*azione magnetoelettrica*) o per azione magnetica diretta (*azione magnetomeccanica*). La prima, consiste nella capacità dei campi magnetici di mettere in moto delle cariche elettriche nei tessuti buoni conduttori inducendo la formazione di microcorrenti; queste rivestirebbero particolare importanza a livello delle membrane cellulari, ove, favorendo lo scambio

ionico fra ambiente intra ed extracellulare, indurrebbero una depolarizzazione e quindi la trasmissione di segnali nucleari. L'azione magneto-meccanica consiste nella capacità dei campi magnetici di provocare la migrazione e l'orientamento degli elementi cellulari mobili, di modificare l'orientamento dei dipoli elettrici e delle proteine cellulari a struttura filamentosa (mRNA) e a doppia elica (DNA) (Blank M, 1995).

Attraverso tali ipotesi di interazione, e dall'eventuale "incapacità" dei meccanismi di protezione dell'organismo, che le onde elettromagnetiche producono fondamentalmente due importanti effetti biologici: gli effetti termici e non termici. Il primo, l'effetto termico, rappresenta certamente quello più conosciuto ed impiegato in ambito medico (termoterapia ablativa e riabilitativa); viene prodotto da onde elettromagnetiche con energia sufficiente a riscaldare i tessuti attraversati. I tessuti subiscono quest'aumento di temperatura come conseguenza dell'effetto Joule provocato dalle correnti elettriche indotte dal campo magnetico, e per incapacità dei meccanismi termoregolatori ad eliminare un tale incremento di calore. Sopra i  $45^{\circ} \text{C}^{\circ}$ , i meccanismi termoregolatori non sono più sufficienti per dissipare il calore, si realizza così la necrosi coagulativa. Il principale rischio, dimostrato, per la salute dell'uomo che può derivare da tali effetti, è la necrosi del tessuto irradiato, rischio che risulta maggiore per quegli organi più sensibili al rialzo termico. La

particolare situazione anatomica del cristallino, per esempio, rende ragione della sua estrema vulnerabilità; infatti, come è noto, esso è privo di irrorazione vascolare, quindi di un sistema di termoregolazione. La cataratta lenticolare che ne consegue è evento irreversibile.

L'effetto non termico, così chiamato in quanto le onde elettromagnetiche che lo generano non hanno un livello energetico abbastanza elevato da indurre aumenti di temperatura, è si caratterizza per alterazioni legate ad orientamento dei dipoli elettrici, modificazione della permeabilità della membrana cellulare, e (solamente in vitro) incremento della mitosi, alterazioni dei sistemi enzimatici, e modifiche nel tenore di calcio nelle cellule (Cleary SF, 1995). Per quanto riguarda la possibile tossicità degli effetti non termici, giova ricordare che valori di una soglia di tolleranza per le cellule viventi, nonostante una vasta sperimentazione in vitro e in vivo, non sono ancora stati definiti con sicurezza. Che esista un'intensità-soglia sembra indubbio; anche se la complessità dei meccanismi di interazione e la gran variabilità dei possibili bersagli rende oggi impossibile fissarne un valore. La recente sperimentazione biologica sta dimostrando l'esistenza di effetti non termici per valori di campo e di frequenza sempre più bassi, effetti che non necessariamente corrispondono ad azioni lesive. Si può comunque affermare che i valori di intensità di

campo magnetico ad uso clinico sono enormemente inferiori ai valori finora riconosciuti di tossicità (Foster KR, 1986).

### **2.5.3 DIAGNOSI ELETTROMAGNETICA DELLE NEOPLASIE**

L'effetto non termico viene sfruttato da parecchi anni in ambito diagnostico per produrre immagini di sezioni corporee (Risonanza Magnetica Nucleare) e per la determinazione dei parametri fisici costituenti la materia biologica.

Nel 1926, Fricke e Morse scoprirono che i tumori hanno delle caratteristiche dielettriche differenti rispetto ai tessuti sani adoperando delle onde elettromagnetiche con frequenza intorno ai 20 KHz. Fricke e Morse hanno dimostrato che i tessuti tumorali presentano *permittività*  $\epsilon$  diverse dai tessuti sani. Gli studi sono stati condotti su campioni tessutali di tumore mammario. La permittività risultava di circa 10 volte maggiore nel campione tumorale versus il controllo, con risultati intermedi in caso di tumori benigni. La *conduttività*  $\sigma$  presentava invece sempre lo stesso valore.

Nel 1959 Rajewsky e Schwan analizzano le proprietà del sangue e di altri tessuti a frequenze sino a 30 GHz e successivamente Burdette EC (1980) sviluppò un metodo per misurare la costante dielettrica di materiali

liquidi adoperando frequenze tra 100 MHz - 2 GHz, dimostrando che l'acqua che circonda i tessuti le proteine nel siero del sangue non dà valori identici tra persone sane e malate. Le differenze possono spiegarsi come effetto delle radiazioni elettromagnetiche di frequenza compresa tra i 3 KHz e i 30 MHz sulla membrana plasmatici delle cellule che costituiscono i tessuti biologici. L'esposizione di cellule ad un campo magnetico, induce cambiamenti di carica elettrica su entrambi i lati della membrana cellulare, con conseguente formazione di un nuovo campo elettrico che tende a ripristinare la situazione iniziale ed è manifestazione degli effetti di risonanza. L'aumentata permittività osservata nei tessuti tumorali può essere spiegata come secondaria ad un aumento della superficie di membrana per unità di volume legata alla maggiore attività delle strutture mitocondriali e del reticolo endoplasmatico. Nei tessuti tumorali, caratterizzati da una intensa angiogenesi è inoltre fondamentale considerare l'effetto polarizzante dell'esposizione ad un campo magnetico sulla membrana dei capillari, sul fluido plasmatico facilmente polarizzabili (Rouard P et al 1977, Folkman J 1976, Foster Kr 1989, Tanabe E 1979).

Chaudhary SS (1983) hanno valutato i parametri  $\epsilon$  ed  $\sigma$  nel tumore della mammella e tessuto normale dopo esposizione a onde elettromagnetiche a frequenza tra i 3 MHz ed i 3 GHz. Sia  $\epsilon$  ed  $\sigma$  sono sempre più alte nel tessuto tumorale rispetto al tessuto normale, ed in particolare il valore di  $\epsilon$

tende ad aumentare verso frequenze più basse ( inferiori a 30 MHz) mentre  $\sigma$  su frequenze più alte (300 MHz). Questo fenomeno è stato attribuito all'aumentato contenuto di acqua nelle cellule tumorali oltre che a fenomeni di polarizzazione della membrana citoplasmatica. Joines WT et al. (1984) hanno inoltre confermato che l'assorbimento di onde elettromagnetiche è maggiore nell'ambito di frequenza tra i 30 MHz ed i 2 GHz nel tessuto tumorale e si evidenzia soprattutto per frequenze dell'ordine dei 400 MHz. Se si considera che la frequenza di risonanza dell'acqua libera a 37 C° è di 25 GHz è evidente che questa non può spiegare l'aumento assorbimento nei tessuti tumorali a frequenze inferiori ad 1 Ghz. Si è quindi ipotizzato che questa particolare caratteristica del tessuto tumorale sia legata a particelle di acqua legate a proteine di membrana che nelle cellule tumorali che presentano un maggiore superficie d'esposizione permettendo di legare un maggior numero di molecole d'acqua (Joines WT 1984, Purdom L 1958, Van Lamsweerde-Gallez D 1975). La diversa risposta delle cellule tumorali a campi elettromagnetici è stata inoltre associata ad un diverso metabolismo delle cellule neoplastiche, alla diversa disposizione e tipo delle proteine di membrana e dei meccanismi di adesività cellulare (Jossinet J 1996, Jossinet J 1998, Rogers JA 1983, Burdette E 1980)

Negli ultimi anni, molti lavori sono stati compiuti per comprendere e valutare quali sono gli effetti dell'esposizione a campi elettromagnetici (Valobra GN, 2000, Adair RK, 2002). Inoltre, si stanno sviluppando anche modelli teorici in grado di fornire una base biofisica capace di comprendere gli effetti indotti da onde elettromagnetiche non ionizzanti. Dal punto di vista diagnostico, minori sforzi sono stati dedicati all'analisi della reazione elettromagnetica di un tessuto malato, quando esposto a una radiazione elettromagnetica di basso livello energetico.

Quando una sorgente elettromagnetica è posta in vicinanza di un tessuto corporeo, il campo elettromagnetico medio al suo interno e in punti esterni, dipende dalle caratteristiche elettriche, dalle dimensioni, dalla forma del tessuto attraversato e dalla vicinanza di altri oggetti. Tali caratteristiche possono influenzare le componenti del campo disperso per il corpo, o trasmesso al suo interno o attraverso esso. Misurazioni esterne del campo, in punti adeguatamente scelti, possono essere usate per dedurre le proprietà elettriche della sostanza che compone il tessuto, e rilevare aspetti della sua struttura. Se l'interazione è sufficientemente debole per produrre solo una temporanea condizione di equilibrio nella struttura microscopica, è possibile osservare una modificazione nella stabilità del campo elettromagnetico esterno; è attraverso la misurazione di questa "perturbazione" che si possono dedurre le proprietà elettriche del tessuto.

Queste rappresentano soltanto alcune delle tappe che hanno condotto allo sviluppo del TRIMprob (1992), cioè alla possibilità di sfruttare onde elettromagnetiche per determinare lo stato patologico dei tessuti. Partendo dall'ipotesi che l'atipia cellulare (alterazioni metaboliche e di membrana, perdita di adesività, incremento di mobilità e del contenuto idrico) presente nei tumori potesse determinare un diverso comportamento elettromagnetico nel tessuto quando questo è esposto a onde elettromagnetiche di bassa frequenza; nel 1992 Clarbruno Vedruccio, un fisico italiano, inventò un sistema elettronico per la diagnosi elettromagnetica di anomalie patologiche presenti nei tessuti biologici e dopo anni di esperimenti realizzò e brevettò un prototipo di questo dispositivo clinico, attualmente conosciuto, appunto, come TRIMprob.

Il dispositivo è composto da una sonda a batterie, un ricevitore, e un display. La sonda è un generatore di deboli onde elettromagnetiche, di frequenza variabile (465, 930, 1395 MHz) ma con un alto grado di coerenza spaziale e temporale. Il campo elettromagnetico stimola delle minute oscillazioni all'interno del tessuto; quando queste entrano in risonanza un trasferimento di energia può essere individuato (dal ricevitore separato), nelle onde emesse dal generatore, a causa della "Non Linear Resonance Interaction". Questo peculiare processo è stato solo recentemente chiarito, e i modelli fisici e matematici sono anch'essi di recente pubblicazione

(Vedrucio C, 2004). Il campo elettromagnetico indotto dalle onde elettromagnetiche emesse dalla sonda induce minute oscillazioni nel tessuto che entra in risonanza. L'entrata in risonanza di una o più linee spettrali determina un trasferimento di radiofrequenza dalla sonda al tessuto tumorale se presente che assorbe parte del segnale ad una specifica lunghezza d'onda (accoppiamento dinamico). Il secondo effetto è legato alle modificazioni del campo elettromagnetico emesso dalla sonda ad opera del campo elettrico limitrofo generato dal tessuto biologico entrato in risonanza che è in grado di deviare le onde elettromagnetiche emesse. Un analizzatore spettrale (contenuto nel ricevitore), attraverso un'antenna posta a circa 2 metri dal generatore, visualizza in tempo reale l'intensità della risonanza indotta nel tessuto biologico esaminato come risposta alla stimolazione del campo elettromagnetico nelle tre differenti frequenze quando la sonda è posta in vicinanza al paziente. I valori di risonanza sono rappresentativi del logaritmo dell'intensità misurata, ma vengono espressi in una scala arbitraria compresa tra 0-255. Quando la sonda è a contatto o vicino ad un tessuto biologico, l'intensità generalmente stabile, tende a ridursi, drasticamente, in una o più delle tre frequenze a seconda della condizione patologica del tessuto esaminato e della conseguente risonanza non lineare generata.. L'improvvisa variazione del segnale in senso negativo, costituisce la base per diagnosticare i tessuti irradiati (Figura 2).

La Non Linear Resonance Interaction alla frequenza di 465 MHz sembrerebbe in grado di distinguere il tessuto prostatico maligno da quello benigno.

Bellorofonte, Vedruccio e coll. (2005) hanno recentemente sperimentato la possibilità di una diagnosi elettromagnetica del tumore della prostata, osservando che una scansione extracorporea del perineo con il TRIMprob, permette di identificare i pazienti con più alta probabilità di avere un tumore, e riconoscere quelli in cui il rischio è più basso.

### **3. SCOPO DELLO STUDIO**

Il tumore della prostata è oggi una delle più comuni neoplasie diagnosticate nell'uomo. In Europa si stimano circa 2,6 milioni di nuovi casi l'anno, rappresentando così l'11% di tutti i tumori maschili in Europa (Bray F 1995). Dalla sua introduzione nel 1980, il dosaggio del PSA ha prodotto profondi cambiamenti nella diagnosi e nel trattamento del carcinoma prostatico tanto da essere attualmente considerato come il singolo esame con più alto valore predittivo positivo per la malattia (Catalona WJ, 1982). Inoltre, mentre l'esplorazione rettale e l'ecografia trans-rettale dipendono dall'esaminatore, il PSA è una misura obiettiva del rischio di carcinoma prostatico direttamente proporzionale al suo livello sierico. Aumenti nella concentrazione sierica del PSA e dei suoi derivati (PSA totale, PSA libero, e rapporto libero/totale) sono adoperati, assieme all'esplorazione rettale, per sospettare la presenza del tumore prostatico. La certezza diagnostica, tuttavia, è possibile solo ricorrendo alla biopsia prostatica ecoguidata. Inoltre, sebbene il PSA abbia notevolmente migliorato la diagnosi precoce del tumore, rimane, purtroppo, un marker solo organo specifico, e non specifico per la diagnosi del tumore. Molte altre patologie possono indurre un aumento del PSA: prostatiti, iperplasia prostatica benigna sono solo alcune delle più frequenti. Esiste infine una cosiddetta gray-zone (PSA tra 4-10ng/ml), reperto di comune riscontro

clinico, entro cui il PSA ha un valore predittivo positivo pari a 12-32% (Catalona WJ 1994); questo comporta un elevato rischio di eseguire biopsie in persone sane, sottoponendole al rischio di complicanze, seppur lievi. E' stato dimostrato come solo una persona su quattro con questi livelli di PSA abbia un tumore alla biopsia. Recentemente il gruppo di Bellorofonte et al dell'Università di Milano ha impiegato nella diagnosi precoce del tumore della prostata l'apparecchiatura TRIMprob in circa 700 pazienti. Il TRIMprob ha dimostrato una sensibilità diagnostica per la diagnosi di tumore della prostata del 95% con una specificità del 42%, un valore predittivo positivo del 63% e negativo del 89%. Al fine di confermare la validità medico/diagnostica di questa nuova, innovativa tecnologia diagnostica e di identificarne gli eventuali limiti ci proponiamo quanto segue:

- Obiettivo primario: valutare l'accuratezza del TRIMprob in termini di sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e valore predittivo negativo nella diagnosi precoce del tumore della prostata; versus metodiche di diagnosi tradizionali come il dosaggio del PSA totale, la valutazione del rapporto PSA libero/PSA totale, la ER, l'ecografia transrettale.

- Obiettivi secondari:
  - Valutare la variabilità inter-observer and intra-observer di questa nuova metodica di diagnosi del tumore della prostata;
  - Sperimentare l'ipotesi che il livello di risonanza a 465 MHz valutato con il TRIMprob, permetta di differenziare pazienti affetti da tumore della prostata versus pazienti sani.

#### **4 METODO**

Dai circa 600 pazienti che si sono rivolti ai nostri ambulatori per la diagnosi precoce del tumore prostatico, tra Gennaio 2004 ed Agosto 2005, ottantadue pazienti con età media pari a  $67 \pm 7$  anni (range 60-74 anni), esplorazione rettale nella norma e valori sierici di PSA inferiore a 1 ng/ml sono stati considerati come gruppo di controllo. Tutti i pazienti sono stati valutati attraverso una anamnesi completa, ecografia trans-rettale, dosaggio del PSA ed esame TRIMprob. Il dosaggio del PSA è stato eseguito nei nostri laboratori impiegando il kit diagnostico IMMULITE DPC system (Medical System SPA, Genova, Italia). Un valore di PSA superiore ai 4 ng/ml è stato considerato anormale. L'esplorazione rettale è stata eseguita contemporaneamente ad una ecografia prostatica trans-rettale con un ecografo Falcon (B-K Medical, Milano, Italia) equipaggiato con un trasduttore biplanare di 5-10 MHz. Tutti i pazienti con una esplorazione rettale sospetta per neoplasia della prostata sono stati classificati come ER sospetta. I pazienti con una lesione ipoecogena nella zona periferica della ghiandola, sono stati descritti come positivi all'ecografia trans-rettale (TRUS). L'apparecchiatura TRIMprob (Galileo Avionica, Torino Italia) (Figura 3), è stata impiegata per l'analisi della risonanza tissutale. L'esame TRIMprob è stato eseguito in cieco rispetto le caratteristiche cliniche del paziente e sempre dallo stesso operatore. L'esame TRIMprob è stato

considerato positivo quando l'ampiezza del segnale a 465 MHz era < di 50 unità in una scala arbitraria da 0-255 unità. Tutti i pazienti in terapia con finasteride o sottoposti in precedenza a terapia chirurgica prostatica o pelvica sono stati esclusi dallo studio. Cento undici pazienti con presenza di un sospetto alla ER o TRUS positiva, con un PSA > 4 ng/ml o di un rapporto PSA libero/ PSA totale <18% o con TRIMprob test positivi sono stati arruolati nello studio e sottoposti a biopsia prostatica ecoguidata. La biopsia prostatica trans-rettale ecoguidata, ecografo Falcon (B-K Medical, Milano, Italia) con sonda convex endocavitaria biplana di 5-10 MHz, è stata eseguita in regime ambulatoriale impiegando lo schema bioptico a 12 prelievi da noi sviluppato (Trucchi et al 2005) e un blocco analgesico periprostatico con carbocaina al 2%. La biopsia è stata eseguita mediante ago da 16 G per biopsia (Magnum 1000, BARD, Roma, Italia) e una pistola bioptica a scatto (MG 1522, BARD, Roma, Italia) dedicata. L'esame istologico è stato eseguito sempre dallo stesso uro-patologo. Lo studio è stato realizzato in accordo ai criteri della STARD Iniziative ([www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org))

#### **4.1.: TECNICA DI SCANSIONE CON IL TRIMPROB**

La scansione dell'area prostatica è stata eseguita in accordo alle tecniche proposte e valutate da Bellorofonte e coll. Il ricevitore è sistemato, alla stessa altezza della prostata, a circa 120 centimetri dal paziente. Il paziente viene sottoposto all'esame senza i pantaloni, con i soli indumenti intimi aderenti il più possibile al corpo e con le gambe divaricate, per permettere alla sonda di aderire al piano perineale. Il paziente deve rimuovere dalle eventuali tasche (o comunque dalle zone vicine del corpo) tutti gli oggetti di natura metallica (chiavi, portamonete). L'esame deve essere eseguito in un luogo privo di interferenze elettromagnetiche come quelle determinate da altri emettitori di onde elettromagnetiche (telefonini). Tutte le apparecchiature elettroniche, nel raggio di 3 metri dalla sonda, ad eccezione del computer di rilevazione, devono essere disattivate prima di eseguire il test. L'ambulatorio dove viene eseguito l'esame è stato valutato per la presenza di eventuali interferenze di campi elettromagnetici con frequenza tra i 400-1000 Mhz. L'operatore si posiziona lateralmente al paziente per evitare interferenze tra la propria persona ed il segnale elettromagnetico emesso dalla sonda. La sonda viene posizionata tra le gambe del paziente a contatto con il perineo, la scansione della prostata si esegue su un piano definito come finestra anatomica. L'operatore può far compiere alla sonda delle rotazioni lungo il suo asse, compiendo angoli non

maggiori di 15°, rispetto alla posizione centrale dove è presente la linea di emissione del fascio di radiazioni elettromagnetiche che è rivolta verso l'alto (Figura 4), la sonda viene successivamente inclinata sul piano sagittale in modo da valutare la porzione ventrale o dorsale della ghiandola. Questo tipo di scansione è definito rispettivamente come rotazione longitudinale e movimento perineale. Per scannerizzare ogni porzione di ghiandola prostatica, la sonda compie anche movimenti trasversali caratterizzati da spostamenti della sonda lungo il piano paralleli al pavimento, in una regione che si estende per circa 45° verso destra e sinistra del perineo del paziente. In alcuni pazienti è necessario eseguire un “massaggio elettromagnetico” della zona perineale attraverso movimenti della sonda lungo il perineo del paziente, con circa 15-20 passaggi con frequenza di una scansione al secondo. Tale misura serve per far reagire le cariche elettriche presenti nel tessuto della ghiandola prostatica allo stimolo elettromagnetico proveniente dalla sonda. L'operatore deve ricercare sul display durante la scansione un abbassamento graduale (maggiore dell'80% del segnale registrato) della prima linea spettrale (frequenza a 465 MHz), quella identificata come un istogramma di colore rosso (Figura 5 ) e che identifica un quadro elettromagnetico sospetto per la presenza di una neoplasia della prostata. La stabilità della prima linea spettrale identifica un soggetto normale o un suo decremento non graduale o parziale (inferiore

all'80% del segnale) identifica un quadro di normalità elettromagnetica (Figura 6). In 25 pazienti l'esame è stato eseguito a distanza di 24 ore dallo stesso operatore e consecutivamente da due operatori per la valutazione della variabilità inter e intra-observer.

#### **4.2 ANALISI STATISTICA**

I dati, sono stati inseriti in un database Access (Access XP, Microsoft, Milano, Italia) ed analizzati mediante il software S-PSS versione 10.0 (SPSS, Milano, Italia). Sensibilità, specificità accuratezza diagnostica e valore predittivo negativo e positivo per la diagnosi del carcinoma prostatico sono stati calcolati sia per il TRIMprob test che per il PSA, la ER, la TRUS, ed il rapporto PSA libero/totale. E' stata inoltre valutata l'associazione in serie (due tests eseguiti in successione ed entrambi positivi per determinare la positività al test di associazione) o in parallelo (due test eseguiti in modo consecutivo, la positività di uno solo dei due tests determina la positività del test di associazione) dei tests impiegati nello studio. L'analisi della varianza per la media e la mediana dei livelli di risonanza nei due gruppi di pazienti è stata eseguita mediante test non parametrico Mann Whitney test e mediante test di Student quando appropriato. Un valore di alfa di 0.05 è stato usato come livello di significatività. La accuratezza diagnostica dei diversi parametri diagnostici è stata anche valutata mediante analisi ROC (Receiver Operator

Characteristics). Lo studio è stato condotto in accordo con le linee guida per gli studi sulle procedure e sui test diagnostici sviluppate dalla “STARD Initiative”.

## **5.: RISULTATI**

### **5.1.: GRUPPO DI CONTROLLO**

Tutti i pazienti (82 soggetti) con PSA totale  $\leq 1.0$  ng/ml (gruppo di controllo) sono valutabili. L'età dei pazienti arruolati nel gruppo di controllo è statisticamente non differente da quella dei pazienti sottoposti a biopsia della prostata (64 $\pm$ 8 vs 67 $\pm$ 7, p =0.07). L'esplorazione digito-rettale della prostata è risultata negativa in tutti i soggetti esaminati. L'esame elettromagnetico eseguito in questo gruppo di soggetti non ha evidenziato alcuna riduzione significativa della prima linea spettrale (465 MHz) ne delle restanti linee a 930 e 1396 MHz. I valori medi del PSA sono descritti, insieme agli altri parametri, nella Tabella seguente.

**Tabella X: Caratteristiche del gruppo di controllo**

	<b>Media</b>	<b>Mediana</b>	<b>DS</b>	<b>Range</b>
<b>Età</b>	<b>64</b>	<b>67</b>	<b>8</b>	<b>50-87</b>
<b>PSA totale</b>	<b>0.290</b>	<b>0.00</b>	<b>0.456</b>	<b>0.00-1.0</b>

## 5.2.: PAZIENTI SOTTOPOSTI A BIOPSIA DELLA PROSTATA

Centoundici pazienti sottoposti a biopsia prostatica sono valutabili. L'Età media era di  $67 \pm 7$ ; la concentrazione media di PSA totale è risultata di  $8.4 \pm 3.6$  ng/ml, e il rapporto PSA libero/totale di  $15 \pm 7$  % (Tabella XI).

**Tabella XI:**Caratteristiche pazienti sottoposti a biopsia prostatica

	<b>Media</b>	<b>Mediana</b>	<b>DS</b>	<b>Range</b>
<b>Età (anni)</b>	<b>67</b>	<b>66.5</b>	<b>7.4</b>	<b>53-85</b>
<b>PSA totale (ng/ml)</b>	<b>8,4</b>	<b>7.6</b>	<b>3.6</b>	<b>3.5 – 36,7</b>
<b>PSA libero/totale %</b>	<b>15</b>	<b>13</b>	<b>7</b>	<b>4 - 41</b>

Il PSA totale era nella norma in 15 pazienti su 111 (13.6%) e  $>4.0$  ng/ml in 96 (86.4%). Il rapporto PSA libero/totale era nella norma in 25 pazienti su 85 (29.5%) e  $<18\%$  in 60 (70.5%). L'esplorazione digito rettale della prostata era positiva in 26 pazienti su 111 (23.4%) e negativa nei rimanenti 85 (76.6%). Due soli pazienti sono stati biotizzati perché l'esplorazione digito-rettale della prostata era positiva a fronte di un PSA normale. L'ecografia prostatica transrettale è stata considerata sospetta di tumore della prostata in 27 pazienti su 111 (27,3%).

Per quanto riguarda l'esame TRIMprob: 63 pazienti (57%) presentavano un completo assorbimento della onda elettromagnetica a 465 MHz emessa dal TRIMprob (positivi al test) e in questo gruppo 38 (61%) presentavano una diagnosi di adenocarcinoma prostatico (2 pazienti un adenocarcinoma somma 9 di Gleason , un paziente Gleason score 10, 24 pazienti Gleason score 7 and 11 pazienti Gleason score 6). 48 pazienti non presentavano alterazioni elettromagnetiche al TRIMprob ed in 42 (86%) la biopsia della prostata risultava negativa, mentre in 6 pazienti era presente una neoplasia della prostata (4 pazienti con un Gleason score 7 e due con Gleason score 6) (Tabella XII). In totale sono stati identificati 44 neoplasie della prostata.

Il TRIMprob ha dimostrato una elevata sensibilità diagnostica con una accettabile specificità (84% e 63%). L'accuratezza diagnostica è del 72% con un valore predittivo positivo del 60% e negativo del 87%.

La esplorazione rettale (ER) è risultata alterata in 26 pazienti (23%) ed in 18 (74%) la biopsia della prostata ha evidenziato la presenza di una neoplasia. La ER non ha evidenziato alterazioni in 85 pazienti (76%) con successiva conferma istologica mediante biopsia della prostata in 59 pazienti (53%).

L'ecografia della prostata transrettale (TRUS) ha evidenziato la presenza di lesioni sospette per neoplasia in 27 pazienti (24%), ed in 14

(52%) la successiva biopsia della prostata ha evidenziato la presenza di una neoplasia. In 84 pazienti (76%) non si rilevavano alterazioni alla TRUS e 54 (64%) presentavano una biopsia prostatica negativa per neoplasia.

Il PSA risultava  $> 4$  ng/ml in 96 pazienti (86%) ed in 40 (42%) la biopsia della prostata evidenziava la presenza di neoplasia; 15 pazienti (14%) presentavano un valore di PSA  $< 4$  ng/ml ed in 11 pazienti (73%) la biopsia della prostata non ha evidenziato la presenza di lesioni di tipo neoplastico.

Il rapporto PSA libero/PSA totale è stato eseguito in 85 pazienti era  $< 18\%$  in 60 pazienti (70%) con presenza di neoplasia alla biopsia in 25 (41%) pazienti. Il rapporto Free/Total PSA, è stato maggiore del  $18\%$  in 25 (30%) pazienti ed in 18 (72%) non si rilevavano lesioni di tipo neoplastico alla biopsia.

La valutazione dei dati, mediante analisi ROC (Receiver Operator Characteristics) dimostra la superiorità diagnostica del TRIMprob rispetto ai rimanenti test con un valore della “area sotto la curva” (AUC) pari a 0.723 (Tabella XIII). L’analisi degli intervalli di confidenza al 95% dimostra come in realtà non esista una differenza significativa tra le cinque curve anche se la differenza tra la curva del TRIMprob e quella del PSA totale mostra una sovrapposizione modesta e certamente inferiore a quella osservata per altri test diagnostici. In particolare la AUC del PSA per la

diagnosi del tumore della prostata è del 0.53, cioè la probabilità che un paziente con tumore della prostata abbia un PSA diverso da un paziente sano è del 50%, la capacità diagnostica del PSA nella nostra casistica sembra sovrapponibile a quella legata al caso (50%).

L'accuratezza diagnostica della esplorazione digito-rettale della prostata, dell'ecografia trans-rettale, del PSA totale e del rapporto PSA libero/totale e del TRIMprob sono riassunti nella Tabella XIV. Tutte le metodiche valutate presentano una accuratezza diagnostica per la diagnosi del tumore della prostata inferiore a quella ottenuta con il TRIMprob. (Tabella XIV). Anche l'impiego di più tests diagnostici in serie o in parallelo non determina un aumento della sensibilità o specificità diagnostica del TRIMprob. In particolare l'associazione del PSA e della DRE, tests comunemente impiegati in associazione, non risultano superiori al TRIMprob (Tabella XV)

I valori della prima linea spettrale (465 MHz) sono risultati significativamente ridotti nei pazienti con diagnosi di tumore prostatico alla biopsia rispetto a quelli con biopsia negativa e rispetto ai controlli L'analisi dei dati ottenuti con il TRIMprob ha evidenziato una differenza statisticamente significativa nei valori di risonanza rilevati a 465 Mhz (25.6 +/- 36 vs 80.7 +/- 48; p= 0,03. Nessuna differenza si è osservata tra il

gruppo affetto da tumore della prostata ed i controlli per le frequenze a 930 e 1395 Mhz.(Tabella XVI).

Per quanto riguarda la variabilità inter-observer in tutti i pazienti il risultato al test è sovrapponibile nelle due misurazioni eseguite dallo stesso operatore a distanza di 24 ore l'una dall'altra. Mentre in 2 pazienti su 25 (8%) si sono osservati risultati non sovrapponibili quando il test veniva eseguito da due diversi operatori, in particolare in due pazienti con diagnosi di ipertrofia prostatica uno dei due operatori ha diagnosticato una neoplasia prostatica con il TRIMprob.

## **6.: DISCUSSIONE**

L'analisi dei dati sembra evidenziare anche nella nostra esperienza la possibilità di identificare con l'ausilio di onde elettromagnetiche la presenza di neoplasia prostatica. Il TRIMprob presenta un'accuratezza diagnostica superiore a tutte le metodiche ed agli esami impiegati nella diagnosi del tumore della prostata. E' importante rilevare, come gli studi sull'accuratezza diagnostica di un test sono validi solo sulla popolazione studiata e non necessariamente possono essere applicati ad altre popolazioni. Uno dei bias del nostro studio è rappresentato dalla scelta di una popolazione a rischio di tumore della prostata con un'incidenza di tumore della prostata del 40%, più elevato rispetto al 15% che è quello riscontrabile in una popolazione sana. Inoltre anche impiegando tecniche di biopsia a 12 prelievi una percentuale non quantificabile di falsi negativi alla biopsia della prostata è ipotizzabile. Un altro problema che abbiamo dovuto affrontare è stato quello di identificare una popolazione di "veri negativi" da usare come gruppo di controllo. Il gruppo di Bellorofonte et al. aveva impiegato come gruppo di controllo una popolazione di giovani adulti (età < 40 anni) valutati per problemi d'infertilità. Una differenza statisticamente significativa è stata rilevata per l'intensità del segnale TRIMprob a 465 Mhz tra questo gruppo di pazienti ed i pazienti con diagnosi di tumore della prostata. Tuttavia, in questo modo non è possibile una corretta valutazione

sulle caratteristiche elettromagnetiche di pazienti con la stessa età e con caratteristiche biologiche diverse solo per la presenza o assenza di tumore della prostata. Nel nostro studio per ovviare a questa osservazione abbiamo impiegato come gruppo di controllo una popolazione di pazienti con la stessa età del gruppo in esame ma con un PSA < 1 ng/ml. In questo gruppo di pazienti l'incidenza di tumore della prostata è valutabile nel 7%. I nostri dati sembrano chiaramente dimostrare come il TRIMprob sia in grado di rilevare la presenza di caratteristiche elettromagnetiche peculiari del tumore della prostata che non sono invece rilevabili nella popolazione sana.

Per quanto riguarda, invece, l'accuratezza diagnostica del TRIMprob, i risultati del nostro studio confermano quelli precedentemente ottenuti da Bellorofonte e collaboratori. Il valore dell'accuratezza misurato nei due studi è interessante. In questo studio, una lieve riduzione nella sensibilità del TRIMprob (dal 95% al 89%) è stata compensata da un aumento nella specificità (dal 43% al 62%). Le differenze rispetto ai risultati ottenuti dal gruppo dell'Università di Milano possono essere in parte legate a bias di apprendimento della metodica di scansione tant'è che la maggior parte dei casi falsi negativi e falsi positivi si sono rilevati nei primi 25 pazienti arruolati. La differenza osservata nell'accuratezza degli altri parametri diagnostici sono inoltre frutto della differente popolazione studiata e della numerosità della stessa. Tuttavia, in entrambi gli studi il test

elettromagnetico ha fornito il miglior valore predittivo negativo, dato importante perché consente di escludere dalla biopsia prostatica soggetti con valori di PSA fino > a 4 ng/ml ma con basso rischio di carcinoma prostatico. I differenti risultati riguardanti la ecografia transrettale possono dipendere dal tipo di interpretazione data alle immagini ecografiche.

I risultati del nostro studio aggiungono una ulteriore evidenza alla possibilità di utilizzare le onde elettromagnetiche per la diagnosi non invasiva dei tumori.. Assumendo come valore positivo del TRIMprob una ampiezza del segnale a 465 MHz <di 50 unità, la presenza del tumore può essere sospettata con una sensibilità del 89% e una specificità del 63%. Il basso valore della specificità osservata, è anche legato alle limitazioni intrinseche della biopsia prostatica. Negli ultimi anni, infatti, si è presa coscienza che anche un ago per biopsia da 16 G, in uno schema a 6 o 12 prelievi, non è in grado di esaminare più di 0.1 cm<sup>3</sup> in prostate che hanno un volume medio >40 ml. e quindi una biopsia negativa non esclude completamente la presenza di un tumore.

Al momento l'impiego dell'analisi elettromagnetica della prostata mediante il TRIMprob non preclude l'impiego di altre metodiche diagnostiche come il PSA o la ER, ma rappresenta un ulteriore tentativo per migliorare le capacità diagnostiche del tumore della prostata. Tuttavia nella nostra esperienza, l'impiego di due test diagnostici eseguiti

contemporaneamente od in modo consecutivo non ha permesso di migliorare le capacità diagnostiche del solo TRIMprob. L'associazione in parallelo del PSA e del TRIMprob permette di ottenere un'elevata sensibilità diagnostica (99%) ma con una specificità inaccettabile (10%). L'associazione in serie di ER e TRIMprob fornisce invece un'elevata specificità diagnostica (95%) ma con una ridotta sensibilità (37%). L'impiego in associazione di ulteriori test diagnostici al TRIMprob non permette di migliorare la capacità diagnostica ottenibile mediante l'impiego del solo TRIMProb.

Dai risultati ottenuti si possono trarre le seguenti considerazioni:

- ❖ Sebbene la ridotta numerosità del campione, essa è comunque rappresentativa della popolazione generale; lo dimostrano i valori di sensibilità, specificità ottenuti per PSA, %fPSA, e ER in linea con i dati disponibili in letteratura (Schodrer FH, 1998)
- ❖ Il TRIMprob test fornisce una accuratezza diagnostica apparentemente non inferiore, per non dire superiore, rispetto al PSA totale, al %fPSA, alla ER, o all'ecografia trans-rettale, nella diagnosi del carcinoma prostatico.
- ❖ Il livello di risonanza a 465 MHz sembra in grado di distinguere il tessuto prostatico maligno da quello benigno

- ❖ Il possibile ruolo del TRIMprob diviene più chiaro considerando i dati del PCPT Trial (Thompson I, 2003) riguardo l'incidenza del carcinoma prostatico nei pazienti con un livello di PSA di 4 ng/ml o inferiore: quando pazienti con un PSA tra 2.1-3 ng/ml o 3.1-4 ng/ml sono biopsizzati, il 75% di loro risulterà negativo. Grazie al suo alto valore predittivo negativo il TRIMprob test potrebbe aiutare a ridurre le biopsie non necessarie, migliorando l'accuratezza diagnostica in quei pazienti con basso livello di PSA.
- ❖ Il TRIMprob presenta quattro delle cinque caratteristiche richieste ad un test di screening:
  - facile da somministrare e accettabile dal paziente
  - di breve durata (pochi minuti)
  - non è invasivo
  - è economico e sicuro (stesso costo di una ecografia transrettale, impiega onde elettromagnetiche di bassissima energia).

Attualmente, la diagnosi del tumore prostatico rappresenta una vera sfida per i medici. Il risultato di questo studio aggiunge un'ulteriore evidenza alla possibilità di sfruttare le onde elettromagnetiche per la diagnosi non invasiva dei tumori. Le interazioni delle onde elettromagnetiche con i tessuti biologici, sono oggetto di ricerca sin dai primi anni del precedente secolo, diventando un argomento molto dibattuto

in seguito alla diffusione del sospetto di una possibile relazione tra l'esposizione a onde elettromagnetiche prodotte dalle sempre più diffuse apparecchiature elettroniche e l'insorgenza di effetti dannosi per la salute umana. Attualmente la tecnologia su cui si basa il TRIMprob è ben conosciuta, infatti i maser sono stato decritti per la prima volta da Nikolay Basov e Alexander Prokhorov, premi Nobel per la Fisica nel 1952 (Singer JR, 1959) e gli effetti non termici delle radiazioni elettromagnetiche sono quelli che vengono impiegati per la diagnosi del tumore della prostata. Il brevetto del TRIMprob risale al 2000 e successivamente diversi studi sono stati eseguiti per ottenere la sua commercializzazione. Tuttavia uno dei limiti è relativo alla mancanza di dati sperimentali in vitro o su animali da esperimento precedenti alle sperimentazioni cliniche.

La diagnosi elettromagnetica del tumore prostatico sembra, tuttavia, essere una tecnologia promettente per la diagnosi del tumore della prostata e per aprire nuove prospettive nella diagnosi dei tumori solidi. Ulteriori lavori sono in fase di svolgimento per valutare l'uso del TRIMprob anche nella diagnosi delle neoplasie del rene, della vescica e della mammella.

I prossimi obiettivi della ricerca sul TRIMprob saranno incentrati soprattutto sul tentativo di migliorare la sua specificità diagnostica senza riduzione della sua sensibilità. I falsi negativi identificati nel nostro studio possono essere legati ad un limite della tecnologia o dell'operatore, visto

che trattasi di una metodica operatore dipendente Per quanto riguarda il numero di falsi positivi rilevati possiamo considerare che una percentuale di questi pazienti è affetta da tumore della prostata non evidenziato dalla biopsia ma che un eventuale secondo set di biopsie può rilevare soprattutto nei pazienti con diagnosi istologica di neoplasia intraepiteliale di alto grado (HGPIIN) o di proliferazione acinare atipica (ASAP). Altri falsi positivi riscontrati possono essere spiegati come conseguenza della curva di apprendimento del TRIMprob o come limite della metodica. Lo sviluppo di algoritmi diagnostici computerizzati con l'ausilio di reti neurali permetterà di ridurre l'influenza dell'operatore nella diagnosi elettromagnetica del tumore della prostata mediante esame TRIMporb.

## **7.: CONCLUSIONI**

Il TRIMprob rappresenta una nuova e promettente tecnologia per la diagnosi del tumore della prostata. Nella nostra esperienza l'accuratezza diagnostica del TRIMprob è risultata superiore a quella delle metodiche diagnostiche tradizionali ed in particolare la bassa percentuale di falsi negativi con conseguente elevato valore predittivo negativo del test permetterà di ridurre il numero di biopsie eseguite esclusivamente sul reperto di un PSA o di una DRE alterata. Tuttavia, attualmente l'esame TRIMprob non è alternativo al PSA od alla ER nello screening del cancro della prostata ma con essi s'integra aumentando le possibilità di una diagnosi precoce. La semplicità e scarsa invasività dell'esame ne facilitano il suo impiego routinario nella diagnosi precoce del tumore della prostata.

Sono tuttavia necessari ulteriori studi per migliorare i limiti della metodica, tecnica operatore dipendente e con una percentuale elevata di falsi positivi.

In questi 3 anni abbiamo valutato con entusiasmo il possibile impiego del TRIMprob nella diagnosi del tumore della prostata, convinti di percorrere un nuovo sentiero per la diagnosi del tumore della prostata e di entrare a pieno titolo nell'era del post PSA, tuttavia, solo il tempo ed ulteriori ricerche ci diranno se abbiamo intrapreso il corretto sentiero.

## APPENDICE

- *STARD initiative*

**PUNTO 1. Identificare l'articolo come uno studio sull'accuratezza diagnostica (titolo raccomandato "accuratezza diagnostica")**

I database elettronici sono diventati uno strumento indispensabile per la divulgazione di lavori scientifici. Al fine di rendere più facile l'individuazione del proprio lavoro, la STARD initiative, consiglia agli autori di indicarlo esplicitamente come uno studio sull'accuratezza diagnostica. Si raccomanda, infatti, l'uso del termine "accuratezza diagnostica" nel titolo di un lavoro che confronta i risultati di uno o più test, con quelli di un test standard di riferimento. Nel 1991 il database *National Library of Medicine's* MEDLINE introdusse una specifica parola chiave per i studi diagnostici: "sensibilità e specificità". L'uso di questa parola chiave per la ricerca di studi di accuratezza diagnostica rimane, tuttavia, problematica: identifica solo il 51% di tutti i lavori sull'accuratezza diagnostica pubblicati tra il 1992 e il 1995 sui giornali della Medline, includendo, inoltre, anche articoli che non riguardano test diagnostici .

**PUNTO 2. Indicare i quesiti oggetto di ricerca o gli scopi dello studio**

La dichiarazione di Helsinki stabilisce che le ricerche biomediche condotte su esseri umani dovrebbero essere basate su un'accurata conoscenza della letteratura scientifica. Nell'introduzione gli autori dovrebbero descrivere tutte le precedenti conoscenze del problema nonché i dubbi ancora irrisolti, e infine il perché del loro studio. Una chiara esposizione a riguardo, aiuta il lettore a giudicare l'appropriatezza dello studio e i risultati ottenuti. Una descrizione generale come "valore diagnostico" o "utilità clinica" generalmente non è molto utile al lettore.

**PUNTO 3. Descrivere la popolazione di studio: i criteri di inclusione e esclusione, i contesti e i luoghi dove sono stati raccolti i dati**

Il lettore dovrebbe conoscere se lo studio ha escluso o no pazienti con una specifica condizione ritenuta capace di alterare il risultato del test. Un esempio è l'esclusione di pazienti in terapia con beta bloccanti in studi di elettrocardiografia, o pazienti con precedenti pneumopatie in studi sul rapporto ventilazione-perfusione mediante scintigrafia.

Lo svolgimento del test potrebbe variare a seconda se viene eseguito in un contesto ambulatoriale (a fine di screening per esempio) o in una condizione di urgenza (al fine di confermare o escludere un sospetto diagnostico come può succedere in pronto soccorso per esempio). La stessa sintomatologia di una malattia può variare a secondo di quali meccanismi entrino in gioco per provocarla, per queste ragioni viene consigliato agli autori di descrivere minuziosamente dove i pazienti sono stati reclutati e dove il test di studio e di riferimento sono stati svolti.

**PUNTO 4. Descrivere il reclutamento dei partecipanti: è basato sulla sintomatologia attuale, sui risultati di test già eseguiti, o sul fatto che i partecipanti erano già stati sottoposti al test in studio o a quello di riferimento ?**

Un importante elemento della descrizione è come sono stati identificati i pazienti eleggibili. Il reclutamento negli studi diagnostici può avvenire in differenti modi. Frequentemente lo studio arruola consecutivamente tutti i pazienti con il sospetto clinico della condizione che si è interessati a studiare, e successivamente ricevono sia il test di studio che il test di riferimento. Il sospetto può derivare sia da una sintomatologia clinica ma anche da un precedente esame. Sono possibili, comunque, altri metodi per il reclutamento. In alcuni studi i pazienti vengono arruolati dopo esser stati sottoposti al

test di studio, o dopo che lo standard di riferimento abbia stabilito la presenza o meno del target d'indagine. La scelta del metodo di arruolamento può influenzare lo spettro delle malattie presenti nei pazienti arruolati e allo stesso modo, il range e la relativa frequenza delle condizioni che saranno rinvenute nei pazienti senza il target di studio.

**PUNTO 5. Descrivere il campionamento dei partecipanti: è stato eseguito su una serie consecutiva di pazienti definiti con i criteri di selezione (3) e (4)? Se no, specificare come i pazienti sono stati selezionati ulteriormente**

Per definizione, la popolazione di studio è composta da tutti i pazienti che soddisfano i criteri di inclusione e non rispondono a uno o più criteri di esclusione. I pazienti arruolati potrebbero essere sia una serie consecutiva di pazienti che si sono rivolti al centro dello studio, sia una sottoselezione. La sottoselezione potrebbe essere fatta o in modo random o no (dividendo i pazienti arruolati in base al loro numero in una tabella, per esempio).

È importante per il lettore poter conoscere lo schema adoperato per il campionamento, poiché questo potrebbe risultare utile nel giudicare la possibilità di generalizzare i risultati.

**PUNTO 6. Descrivere la raccolta dei dati: l'identificazione dei partecipanti e la raccolta dati sono state effettuate prima che il test in studio e il riferimento fossero eseguiti (studio prospettico) o dopo (studio retrospettivo)?**

Se gli autori definiscono i quesiti dello studio prima che avvenga l'arruolamento e la raccolta dei dati, essi possono facilitarli la raccolta dei dati, adoperando speciali database.

Lo studio prospettico (detto anche «di coorte») ha lo svantaggio di richiedere più tempo, in quanto si deve seguire nel tempo la comparsa degli eventi. Inoltre, esso non è applicabile a malattie rare per la difficoltà nel reperimento di un numero di casi sufficiente.

Gli studi prospettici sono superiori a quelli retrospettivi perché meno soggetti ad «errori sistematici», in quanto essi non dipendono da dati raccolti in precedenza magari con modalità poco affidabili. Infatti, il ricercatore è in grado di valutare personalmente la qualità dei dati raccolti, soprattutto per quanto riguarda l'esposizione, cosa che invece può essere aleatoria negli studi retrospettivi. Un altro punto a favore degli studi prospettici è che essi possono fornire una stima della incidenza.

Uno studio retrospettivo ha il vantaggio di fornire un risultato relativamente rapido, in quanto all'inizio dello studio *il tempo necessario all'accadimento degli eventi è già trascorso*. È però da notare che, proprio per la loro stessa natura, gli studi retrospettivi forniscono - in linea di massima - risultati meno affidabili rispetto agli studi prospettici.

#### **PUNTO 7. Descrivere lo standard di riferimento e il suo fondamento logico**

In uno studio riguardante l'accuratezza diagnostica, lo standard di riferimento viene usato per distinguere i pazienti che presentano il target d'indagine da quelli che ne sono privi. Tuttavia, la definizione del test di riferimento, è una delle principali difficoltà nella valutazione dei test diagnostici. Nella maggior parte dei casi, il test di riferimento è di difficile somministrazione, è caratterizzato da un costo elevato e comporta dei rischi per il paziente (biopsie o indagini radiologiche con mezzo di contrasto per esempio). Quando il test di riferimento è rappresentato da un test con queste caratteristiche, esiste la possibilità di non poter giungere all'evidenza definitiva per tutti i soggetti che

vengono sottoposti al test di studio: è possibile che una parte dei soggetti risultati negativi al test non venga sottoposta al test di riferimento perché troppo invasivo. Inoltre molte volte il test di riferimento richiede una interpretazione soggettiva che può produrre una discordanza tra diversi clinici. Gli autori dovrebbero quindi descrivere chiaramente il test di riferimento e il perché è stato scelto come “gold standard” per verificare la presenza del target d’indagine.

**PUNTO 8. Descrivere le specifiche tecniche dei materiali e dei metodi impiegati, includendo particolari sul come e quando le misure sono state eseguite (e/o citare i riferimenti per il test in studio e il gold standard)**

Gli autori dovrebbero descrivere i metodi impiegati nell’esecuzione del test di studio e nel test di riferimento, in modo tale da consentire ad altri ricercatori di poter riprodurre lo stesso studio o di consentire ai lettori di giudicare essi stessi la validità del test di studio. Differenze nell’esecuzione dei due test (di studio e di riferimento) sono una fonte potenziale di differenza nell’accuratezza diagnostica. La descrizione dovrebbe comprendere anche i particolari su come è stato eseguito il test (sede anatomica della misurazione, eventuali preparazioni del paziente, per esempio)

**PUNTO 9. Descrivere e spiegare il perché delle unità, dei cut-off e/o delle categorie di risultati del test in studio e del test di riferimento**

I risultati del test possono essere espressi in modo dicotomico (presenza o assenza), oppure avere multiple categorie. Il lettore ha bisogno di conoscere come gli autori hanno espresso i risultati del test di riferimento e del test di studio. Se l’autore decide di adottare diverse categorie di risultati, il lettore deve sapere come ciascuna di esse viene definita e se i diversi risultati sono stati scelti prima o dopo aver ottenuto i risultati.

Nell'ultimo caso esiste la possibilità che l'autore selezioni quel valore soglia che aumenti una particolare caratteristica di un test, e che riduca la possibilità di riprodurre i risultati in un altro studio.

**PUNTO 10. Descrivere il numero, l'addestramento e l'esperienza delle persone (/a) che eseguono e interpretano il test in studio e il gold standard**

Variabilità nell'esecuzione e nella lettura del test di studio e di riferimento, potrà influire nel calcolo dell'accuratezza diagnostica. Molti studi hanno dimostrato una variabilità intra-osservatore, specialmente nel campo dell'imaging. Conoscere il grado di esperienza di chi esegue i test, aiuta il lettore a giudicare se i risultati sono attendibili nei loro ambienti. Un background professionale e un precedente addestramento per migliorare l'interpretazione e ridurre la variazione intra-osservatore, sono requisiti che migliorano la qualità della lettura.

**PUNTO 11. Precisare se l'interpretazione dei test è avvenuta in "cecità", altrimenti descrivere quali informazioni erano note.**

La conoscenza dei risultati del test di riferimento può influenzare l'interpretazione del test di studio, e viceversa. Una tale informazione potrebbe aumentare la concordanza tra il test di studio e il test di riferimento, influenzando la misura della accuratezza diagnostica. Viene consigliato di mantenere l'interprete dei risultati dei test all'oscuro di qualsiasi informazione riguardante il paziente.

**PUNTO 12. Descrivere quali sono i metodi adoperati per calcolare o per confrontare i parametri dell'accuratezza diagnostica, e i metodi statistici impiegati per quantificare l'incertezza statistica (es. intervallo di confidenza al 95%).**

Esistono diversi metodi per valutare l'accuratezza diagnostica di un test. Gli autori dovrebbero riportare in modo sufficiente, quali sono stati i metodi usati per calcolarla. Le stime dell'accuratezza diagnostica sono soggette a possibili variazioni, nei studi con campioni più numerosi la stima dell'accuratezza risulta più precisa. Gli autori dovrebbero quindi valutare l'incertezza statistica nei valori osservati. Si possono, quindi, adoperare dei test statistici per saggiare specifiche ipotesi, come la superiorità di un test rispetto ad un altro.

**PUNTO 13. Descrivere i metodi impiegati per calcolare la riproducibilità del test, se impiegata.**

L'affidabilità di un test diagnostico è determinata dalla sua capacità di fornire in prove ripetute risultati sovrapponibili tra di loro (*riproducibilità del test*) e simili al valore reale (*validità del test*). Il test di studio e il test di riferimento raramente sono perfetti. La loro riproducibilità può variare, e una scarsa riproducibilità influisce negativamente sull'accuratezza diagnostica del test. Una strategia usuale per valutare la riproducibilità di un test diagnostico è quella di valutare, in un certo numero di prove, il grado di accordo o concordanza, de risultati ottenuti. Se le prove sono effettuate dallo stesso clinico sugli stessi pazienti, si valuta la concordanza intra osservatori,; se diversi clini esaminano gli stessi pazienti, viene valutata la concordanza tra osservatori. Un test diagnostico può essere definito riproducibile se conduce diversi clinici (o lo stesso clinico in diverse sedute) allo stesso risultato sullo stesso paziente.

**PUNTO 14. Riportare il periodo in cui si è svolto lo studio, includendo la numerosità del campione all'inizio e alla fine dello studio**

La tecnologia su cui si basano molti test è in continua evoluzione, migliorando l'accuratezza diagnostica. Potrebbe esistere un notevole gap tra la il periodo in cui si è eseguito lo studio e la data di pubblicazione dello stesso. Inoltre il lettore potrebbe voler conoscere la numerosità del campione all'inizio e alla fine dello studio.

**PUNTO 15. Riportare le caratteristiche cliniche e demografiche (es. età, sesso, spettro dei sintomi, patologie intercorrenti, trattamenti in corso, centro di reclutamento)**

Un'adeguata descrizione delle caratteristiche demografiche e cliniche dei partecipanti, permettono al lettore di giudicare se i risultati ottenuti, siano estendibili ad un'altra popolazione. Molti autori preferiscono descrivere queste caratteristiche in una tabella.

**PUNTO 16. Riportare quanti partecipanti risultati idonei ai criteri di inclusione sono o non sono stati sottoposti al test in studio e/o al test di riferimento; spiegare perché alcuni partecipanti sono stati eventualmente esclusi da entrambi i test. (può essere utile servirsi di un diagramma di flusso).**

Un esempio di un diagramma di flusso è fornito in appendice, esso serve a illustrare il disegno dello studio e a fornire l'esatto numero dei partecipanti ad ogni fase dello studio. Un diagramma, inoltre, può comunicare in modo trasparente gli elementi chiave del disegno dello studio.

**PUNTO 17. Riportare quanto tempo è trascorso tra l'esecuzione del test in studio e del test di riferimento, ed eventuali trattamenti somministrati in tale periodo.**

Quando intercorre parecchio tempo tra l'esecuzione dei due test, la condizione del paziente potrebbe cambiare, determinando un peggioramento o un miglioramento nel

target dell'indagine o nelle altre condizioni. Questo rischio potrebbe sopraggiungere anche se viene somministrata una terapia dopo che il test di studio è stato eseguito, ma prima che il test di riferimento venga effettuato.

**PUNTO 18. Riportare lo spettro di gravità della malattia indagata (definendone i criteri) in coloro che ne sono affetti, descrivere le altre diagnosi nei partecipanti che invece ne sono esenti.**

Molti target d'indagine non sono delle condizioni dicotomiche, ma coprono un continuum, comprendendo piccoli cambiamenti patologici fino a malattie clinicamente diffuse in tutto il corpo. La sensibilità dei test è spesso più alta nei studi con una percentuale più grande di pazienti con uno stadio avanzato della malattia in studio. Tuttavia, in presenza di patologie intercorrenti, risultati falsi positivi o falsi negativi potrebbero sopraggiungere più spesso. È importante, quindi, descrivere la severità della malattia nel gruppo di studio.

**PUNTO 19. Riportare una tabella dei risultati del test in studio e del test di riferimento (incluso anche i risultati mancanti e indeterminati); per serie continue di risultati (non dicotomici) riportare la distribuzione del test in studio in confronto a quelli del test di riferimento.**

La riproducibilità dei risultati ottenuti è un aspetto importante del metodo scientifico. Per facilitare questo processo, gli autori dovrebbero presentare i risultati in forma numerica. Tabelle riassuntive i risultati ottenuti dai test così come grafici sulla distribuzione dei risultati sono essenziali per permettere al lettore di ricalcolare le misure dell'accuratezza diagnostica o di eseguire ulteriori calcoli. È importante che gli

autori riportino tutti i risultati ottenuti, includendo anche quelli indeterminati in entrambi i test.

**PUNTO 20. Riportare qualsiasi effetto avverso avuto in seguito all'esecuzione del test di studio o del test di riferimento.**

Non tutti i test sono sicuri. La misura degli effetti collaterali negli studi di accuratezza diagnostica, possono fornire ulteriori informazioni riguardo l'utilizzo clinico di un particolare test. Il bisogno di riportare gli effetti avversi si applica ugualmente sia alle ricerche diagnostiche che alle ricerche terapeutiche. Infine, può essere anche importante descrivere quali sono i rischi e l'invasività del test di riferimento che viene utilizzato.

**PUNTO 21. Riportare le stime dell'accuratezza diagnostica e le misure dell'incertezza statistica (es. intervallo di confidenza del 95%)**

L'obiettivo finale di uno studio sull'accuratezza diagnostica è quello di fornire una misura di quanto il test in studio è in accordo con i risultati ottenuti con il test di riferimento. Il valore indicato dallo studio dovrebbe comunque essere considerato una stima. Diversi fattori possono modificare la riproducibilità del test nella stessa popolazione di studio. Gli autori dovrebbero quindi riportare il range entro cui si colloca la stima dell'accuratezza diagnostica. Molte riviste mediche richiedono o incoraggiano fortemente l'uso dell'intervallo di confidenza come misura dell'attendibilità del risultato. Un valore del 95% per l'intervallo di confidenza viene convenzionalmente adoperato.

**PUNTO 22. Riportare come i risultati indeterminati, i risultati mancanti e fuori scala del test di studio sono stati amministrati.**

La causa di questi risultati può essere diversa: di natura tecnica, come nel caso di un campione biotico insufficiente per valutare la presenza di un tumore; di natura medico-terapeutica come la presenza di una comorbilità o l'assunzione di un farmaco beta-bloccante che altera un test da sforzo. La presenza di questi risultati rappresenta un problema nella valutazione di un test. Da un parte, essi rappresentano un importante indice dell'utilità generale del test, ma contemporaneamente si possono produrre delle stime errate dell'accuratezza diagnostica se tali risultati ricorrono più frequentemente nei pazienti con il target d'indagine rispetto a quelli senza o viceversa.

**PUNTO 23. Riportare le stime della variabilità dell'accuratezza diagnostica tra sottogruppi di partecipanti, tra gli interpreti dei risultati e tra i centri di studio (se effettuata)**

Poiché la variabilità è la regola piuttosto che l'eccezione, i ricercatori dovrebbero esplorare le possibili fonti dell'eterogeneità dei risultati entro i limiti della numerosità del campione. Il miglior modo è quello di programmare un'analisi per sottogruppi prima di iniziare lo studio.

**PUNTO 24. Riportare la stima della riproducibilità del test (se effettuata)**

Viene consigliato agli autori di riportare tutte le misure della riproducibilità del test che essi hanno eseguito durante lo studio.

**PUNTO 25. Discutere l'applicabilità clinica dei risultati ottenuti nello studio**

A causa della variabilità nelle caratteristiche del test dovute alle differenze tra i pazienti e nelle procedure, i risultati di un particolare studio potrebbero non rispondere al problema decisionale che interessa il lettore. Si consiglia, pertanto, agli autori di puntualizzare quali sono le differenze tra il contesto in cui è stato condotto lo studio e le situazioni in cui probabilmente il test verrà adoperato.

# BIBLIOGRAFIA

- **Adair RK**, Vibrational Resonances in biological systems at microwave frequencies, Biophysical Journal, 2002, Vol 82.

- **Alavi AS**, Soloway MS, Vaidya A, Lynne CM, Gheiler EL: Local anesthesia for ultrasound guided prostate biopsy: a prospective randomized trial comparing 2 methods. J.Urol. 2001, 166:1343-1345
- **Allard WJ**, Zhou Z, Yeung KK: Novel immunoassay for the measurement of complexed prostate-specific antigen in serum. Clin.Chem. 1998, 44:1216-1223
- **Benson MC**, Whang IS, Olsson CA, McMahon DJ, Cooner WH: The use of prostate specific antigen density to enhance the predictive value of intermediate levels of serum prostate specific antigen. J.Urol. 1992, 147:817-821.
- **Bellorofonte C**, Vedrucio C, Tombolini P, Ruoppolo M, Tubaro A: A non invasive detection of prostate cancer by elettromagnetic interaction. Eur Urol, 2005, 47, 29-37.
- **Blank M**: Biological effects of environmental electromagnetic fields: molecular mechanisms. Biosystems 1995, 35:175-178.
- **Bjork T**, Piironen T, Pettersson K, Lovgren T, Stenman UH, Oesterling JE, Abrahamsson PA, Lilja H: Comparison of analysis of the different prostate-specific antigen forms in serum for detection of clinically localized prostate cancer. Urology 1996, 48:882-888
- **Bray F**, Sankila R, Ferlay J, Parkin DM: Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 1995. Eur.J.Cancer 2002, 38:99-166
- **Brawer MK**, Beatie J, Wener MH. Screening for prostatic carcinoma with prostate specific antigen : Results of the second year. J Urol, 1993, 150, 106-109

- **Brawer MK**, Cheli CD, Neaman IE, Complexed prostate specific antigen provides significant enhancement of specificity compared with total prostate specific antigen for detecting prostate cancer. J Urol 2000, 163, 1476
- **Burdette E**, Cain FL, Seals J. In vivo probe measurement technique for determining dielectric properties at VHF through microwave frequencies. IEEE Trans Microw Theory Techn 1980; 28, 414.
- **Carter HB**, Hamper UM, Sheth S, Sanders RC, Epstein JI, Walsh PC: Evaluation of transrectal ultrasound in the early detection of prostate cancer. J.Urol. 1989, 142:1008-1010.
- **Carter HB**, Pearson JD: PSA velocity for the diagnosis of early prostate cancer. A new concept. Urol.Clin.North Am. 1993, 20:665-670
- **Catalona WJ**, Smith DS, Ratliff TL, Basler JW: Detection of organ-confined prostate cancer is increased through prostate-specific antigen-based screening. JAMA 1993, 270:948-954.
- **Catalona WJ**, Stein AJ: Staging errors in clinically localized prostatic cancer. J Urol 1982; 127: 452-456
- **Catalona WJ**, Ramos CG, Carvalhal GF, Yan Y: Lowering PSA cut-offs to enhance detection of curable prostate cancer. Urology 2000, 55:791-795.
- **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, 277:1452-1455.

- **Catalona WJ**, Partin AW, Slawin KM, Brawer MK, Flanigan RC, Patel A, Richie JP, deKernion JB, Walsh PC, Scardino PT, Lange PH, Subong EN, Parson RE, Gasior GH, Loveland KG, Southwick PC: 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, 279:1542-1547
- **Catalona WJ**, Richie JP, deKernion JB, Ahmann FR, Ratliff TL, Dalkin BL, Kavoussi LR, MacFarlane MT, Southwick PC: Comparison of prostate specific antigen concentration versus prostate specific antigen density in the early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. J. Urol. 1994, 152:2031-2036
- **Catalona WJ**, Hudson MA, Scardino PT, Richie JP, Ahmann FR, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL, Selection of optimal prostate specific antigen cutoffs for early detection of prostate cancer: receiver operating characteristic curves. J.Urol. 1994, 152:2037-2042.
- **Chaudhary SS**, Mishra RK, Swarup A, et al. Dielectric properties of normal and malignant human breast tissue at radiowave and microwave frequencies. Indian J Biochem Biophys 1983; 21, 76.
- **Chen Z**, Stamey TA: Isolation and characterization of free form prostate specific antigen (f-PSA) in sera of men with prostate cancer. J.Urol. 1997, 158:1606-1609
- **Christensson A**, Bjork T, Nilsson O, Dahlen U, Matikainen MT, Cockett AT, Abrahamsson PA, Lilja H: Serum prostate specific antigen

complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. J.Urol. 1993, 150:100-105.

- **Christensson A**, Laurell CB, Lilja H: Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine proteinase inhibitors. Eur.J.Biochem. 1990, 194:755-763
- **Cleary SF**, Liu LM: Absorbed energy distribution from radiofrequency electromagnetic radiation in a mammalian cell model: effect of membrane-bound water. Bioelectromagnetics 1995, 16:160-171.
- **Cooner WH**, Mosley BR, Rutherford CL, Jr., Beard JH, Pond HS, Terry WJ, Igel TC, Kidd DD: Prostate cancer detection in a clinical urological practice by ultrasonography, digital rectal examination and prostate specific antigen. J.Urol. 1990, 143:1146-1152
- **Davis M**, Sofer M, Kim SS, Soloway MS: The procedure of transrectal ultrasound guided biopsy of the prostate: a survey of patient preparation and biopsy technique. J.Urol. 2002, 167:566-570.
- **Desgrandchamps F**, Meria P, Irani J, Desgrippes A, Teillac P, Le Duc A: The rectal administration of lidocaine gel and tolerance of transrectal ultrasonography-guided biopsy of the prostate: a prospective randomized placebo-controlled study. BJU.Int. 1999, 83:1007-1009
- **Ellis WJ**, Brawer MK: The significance of isoechoic prostatic carcinoma. J.Urol. 1994, 152:2304-2307.
- **Ellis WJ**, Chetner MP, Preston SD, Brawer MK: Diagnosis of prostatic carcinoma: the yield of serum prostate specific antigen, digital rectal examination and transrectal ultrasonography. J.Urol. 1994, 152:1520-1525

- **Epstein JI**, Carmichael MJ, Partin AW, Walsh PC: Small high grade adenocarcinoma of the prostate in radical prostatectomy specimens performed for nonpalpable disease: pathogenetic and clinical implications. *J.Urol.* 1994, 151:1587-1592.
- **Eskew LA**, Bare RL, McCullough DL: Systematic 5 region prostate biopsy is superior to sextant method for diagnosing carcinoma of the prostate. *J.Urol.* 1997, 157:199-202
- **Flanigan RC**, Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL. Accuracy of digital rectal examination and transrectal ultrasonography in localizing prostate cancer. *J.Urol.* 1994, 152:1506-1509.
- **Foster KR**, Schwan HP. Dielectric permittivity and electrical conductivity of biological materials. In: Polk C, Postow E, editors. *Handbook of biological effects of electromagnetic fields*. Boca Raton: CRC Press; 1986. p. 25.
- **Folkmann J**. The vascularization of tumors. *Scient Am* 1976; May: 56.
- **Foster KR**, Schwan HP. Dielectric properties of tissues and biological materials. *Crit Rev Biomed Eng* 1989; 17, 25
- **Fricke H**, Morse S. The electric capacity of tumors of the breast. *J Cancer Res* 1926; 10, 340
- **Gann PH**: Interpreting recent trends in prostate cancer incidence and mortality. *Epidemiology* 1997, 8:117-120
- **Hammerer P**, Huland H: Systematic sextant biopsies in 651 patients referred for prostate evaluation. *J.Urol.* 1994, 151:99-102

- **Hankey BF**, Feuer EJ, Clegg LX, Hayes RB, Legler JM, Prorok PC, Ries LA, Merrill RM, Kaplan RS: Cancer surveillance series: interpreting trends in prostate cancer--part I: Evidence of the effects of screening in recent prostate cancer incidence, mortality, and survival rates. J.Natl.Cancer Inst. 2002, 91:1017-1024
- **Haese A**, Graefen M, Noldus J, Hammerer P, Huland E, Huland H: Prostatic volume and ratio of free-to-total prostate specific antigen in patients with prostatic cancer or benign prostatic hyperplasia. J.Urol. 1997, 158:2188-2192.
- **Herschman JD**, Smith DS, Catalona WJ: Effect of ejaculation on serum total and free prostate-specific antigen concentrations. Urology 1997, 50:239-243.
- **Hodge KK**, McNeal JE, Stamey TA: Ultrasound guided transrectal core biopsies of the palpably abnormal prostate. J.Urol. 1989, 142:66-70
- **Jewett HI**. Significance of the palpable prostatic nodule. [J Am Med Assoc.](#) 1956 Mar 10; 160(10), 838-9.
- **Joines WT**, Jurtle RL, Rafal MD, et al. Microwave power absorption differences between normal and malignant tissue. Int J Radiol Oncol Biol Phys 1980; 6, 681.
- **Joines WT**. Frequency-dependent absorption of electromagnetic energy in biological tissue. IEEE Trans Biomed Eng 1984; 31, 17.
- **Jossinet J**. Variability of impeditivity in normal and pathological breast tissue. Med Biol Eng Comput 1996; 34, 346.
- **Jossinet J**. The impeditivity of freshly excised human breast tissue. Physiol Meas 1998; 19, 61.

- **La Vecchia C**, Paolo Bruzzi, Adriano De Carli: An estimate of prostate cancer prevalence in Italy. Tumori 2002Lange PH, Narayen MD: Understaging and undergrading of prostate cancer. Urology 1983; 21 (2): 113-118
- **Lilja H**, Norming U, Adolfsson J, Becker C, Abrahamsson PA, Diagnostic value of percent free prostate-specific antigen: retrospective analysis of a population-based screening study with emphasis on men with PSA levels less than 3.0 ng/mL. Urology 1999, 53:945-950
- **Lilja H**, Christensson A, Dahlen U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, Lovgren T: Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. Clin.Chem. 1991, 37:1618-1625
- **Luderer AA**, Chen YT, Soriano TF, Kramp WJ, Carlson G, Cuny C, Sharp T, Smith W, Petteway J, Brawer MK, Measurement of the proportion of free to total prostate-specific antigen improves diagnostic performance of prostate-specific antigen in the diagnostic gray zone of total prostate-specific antigen. Urology 1995, 46:187-194
- **Lundwall A**, Lilja H: Molecular cloning of human prostate specific antigen cDNA. FEBS Lett. 1987, 214:317-322
- **MCCormick D.**: Electromagnetic Fields, Health Impacts of. In Encyclopedia of Energy. 2004:309-318
- **McGee RS**, Herr JC: Human seminal vesicle-specific antigen is a substrate for prostate-specific antigen (or P-30). Biol.Reprod. 1988, 39:499-510
- **Mettlin C**, Murphy GP, Babaian RJ, Chesley A, Kane RA, Littrup PJ, Mostofi FK, Ray PS, Shanberg AM, Toi A: The results of a five-year early

prostate cancer detection intervention. Investigators of the American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project. *Cancer* 1996, 77:150-159

- **Mitchell ID**, Croal BL, Dickie A, Cohen NP, Ross I: A prospective study to evaluate the role of complexed prostate specific antigen and free/total prostate specific antigen ratio for the diagnosis of prostate cancer. *J.Urol.* 2001, 165:1549-1553.
- **Newcomer LM**, Stanford JL, Blumenstein BA, Brawer MK: Temporal trends in rates of prostate cancer: declining incidence of advanced stage disease, 1974 to 1994. *J.Urol.* 2002, 158:1427-1430
- **Nixon RG**, Wener MH, Smith KM, Parson RE, Strobel SA, Brawer MK: Biological variation of prostate specific antigen levels in serum: an evaluation of day-to-day physiological fluctuations in a well-defined cohort of 24 patients. *J.Urol.* 1997, 157:2183-2190.
- **Oesterling JE**: Age-specific reference ranges for serum PSA. *N.Engl.J.Med.* 1996, 335:345-346.
- **Oesterling JE**, Rice DC, Glenski WJ, Bergstralh EJ: Effect of cystoscopy, prostate biopsy, and transurethral resection of prostate on serum prostate-specific antigen concentration. *Urology* 1993, 42:276-282
- **Okegawa T**, Noda H, Nutahara K, Higashihara E: Comparison of two investigative assays for the complexed prostate-specific antigen in total prostate-specific antigen between 4.1 and 10.0 ng/mL. *Urology* 2000, 55:700-704

- **Okihara K**, Fritsche HA, Ayala A, Johnston DA, Allard WJ, Babaian RJ: Can complexed prostate specific antigen and prostatic volume enhance prostate cancer detection in men with total prostate specific antigen between 2.5 and 4.0 ng./ml. J.Urol. 2001, 165:1930-1936
- **Pannek J**, Marks LS, Pearson JD, Rittenhouse HG, Chan DW, Shery ED, Gormley GJ, Subong EN, Kelley CA, Stoner E, Partin AW: Influence of finasteride on free and total serum prostate specific antigen levels in men with benign prostatic hyperplasia. J.Urol. 1998, 159:449-453
- **Partin AW**, Carter HB, Chan DW, Epstein JI, Oesterling JE, Rock RC, Weber JP, Walsh PC: Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. J.Urol. 1990, 143:747-752.
- **Partin AW**, Catalona WJ, Southwick PC, Subong EN, Gasior GH, Chan DW: Analysis of percent free prostate-specific antigen (PSA) for prostate cancer detection: influence of total PSA, prostate volume, and age. Urology 1996, 48:55-61
- **Partin AW**, Criley SR, Subong EN, Zincke H, Walsh PC, Oesterling JE: Standard versus age-specific prostate specific antigen reference ranges among men with clinically localized prostate cancer: A pathological analysis. J.Urol. 1996, 155:1336-1339.
- **Presti JC**, Jr., Chang JJ, Bhargava V, Shinohara K: The optimal systematic prostate biopsy scheme should include 8 rather than 6 biopsies: results of a prospective clinical trial. J.Urol. 2000, 163:163-166.

- **Presti JC**, Jr., O'Dowd GJ, Miller MC, Mattu R, Veltri RW: Extended peripheral zone biopsy schemes increase cancer detection rates and minimize variance in prostate specific antigen and age related cancer rates: results of a community multi-practice study. J.Urol. 2003, 169:125-129
- **Purdom L**, Ambrose EJ, Klein G. A correlation between electrical surface charge and some biological characteristics during the stepwise progression of a mouse sarcoma. Nature 1958; 181, 1586
- **Rajewsky R** and Schwan H. Naturw., 1948,10, 315-16
- [Remzi M, Fong YK, Dobrovits M, Anagnostou T, Seitz C, Waldert M, Harik M, Marihart S, Marberger M, Djavan B.](#) The Vienna nomogram: validation of a novel biopsy strategy defining the optimal number of cores based on patient age and total prostate volume. J Urol. 2005 Oct; 174(4 Pt 1), 1256-60; discussion 1260-1; author reply 1261.
- **Rogers JA**. The dielectric properties of normal and tumour mouse tissue between 50 MHz and 10 GHz. Br J Radiol 1983; 56, 335.
- **Rouard P**, Meessen A. Optical properties of thin metal films. In: Wolf E, editor. Progress in Optics, vol. 15. Amsterdam: North-Holland; 1977. p. 77–137.
- **Schroder FH**, van der MP, Beemsterboer P, Kruger AB, Hoedemaeker R, Rietbergen J, Kranse R: Evaluation of the digital rectal examination as a screening test for prostate cancer. Rotterdam section of the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. J.Natl.Cancer Inst. 1998, 90:1817-1823

- **Schwan HP.** Electrical properties of tissue and cell suspensions. *Adv Biol Med Physics* 1957; 5, 147.
- **Seaman E,** Whang M, Olsson CA, Katz A, Cooner WH, Benson MC: PSA density (PSAD). Role in patient evaluation and management. *Urol.Clin.North Am.* 1993, 20:653-663.
- **Singer JR,** Masers, John Wiley and Sons Inc (1959)
- **Smith DS,** Catalona WJ: Interexaminer variability of digital rectal examination in detecting prostate cancer. *Urology* 1995, 45:70-74.
- **Stamey TA:** Making the most out of six systematic sextant biopsies. *Urology* 1995, 45:2-12.
- **Stenman UH,** Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O: A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res.* 1991, 51:222-226
- **Stephenson RA:** Prostate cancer trends in the era of prostate-specific antigen. An update of incidence, mortality, and clinical factors from the SEER database. *Urol.Clin.North Am.* 2002, 29:173-181
- **Tanabe E,** Joines WT. A non destructive method for measuring the complex permittivity of dielectric materials at microwave frequencies using an open transmission line resonator. *IEEE Trans Instr Meas* 1976; 25, 222.
- **Terris MK,** Stamey TA: Determination of prostate volume by transrectal ultrasound. *J.Urol.* 1991, 145:984-987

- **Thompson IM**, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, Minasian LM, Ford LG, Lippman SM, Crawford ED, Crowley JJ, Coltman CA, Jr.: Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level  $\leq$  4.0 ng per milliliter. *N.Engl.J.Med.* 2004, 350:2239-2246
- **Valobra G.N.**: Terapia con microonde. In *Trattato di Medicina Fisica e Riabilitazione*. Edited by UTET. 2000:1999-2017.
- **Van Lamsweerde-Gallez D**, Meessen A. The role of proteins in a dipole model for steady ionic transport through biological membranes. *J Membr Biol* 1975; 23,103.
- **Vedruccio C**. Electromagnetic analyzer of anisotropy in chemical organized systems. Patent WO 01/07909A1, 2000
- **Vedruccio C**, Meessen, A. EM cancer detection by means of nonlinear resonance interaction. In: *Extended Papers Book of PIERS2004—Progress in Electromagnetics Research Symposium*, Pisa, Italy, March 28–31, 2004. p. 909–912.
- **Vieira JG**, Nishida SK, Pereira AB, Arraes RF, Verreschi IT: Serum levels of prostate-specific antigen in normal boys throughout puberty. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 1994, 78:1185-1187

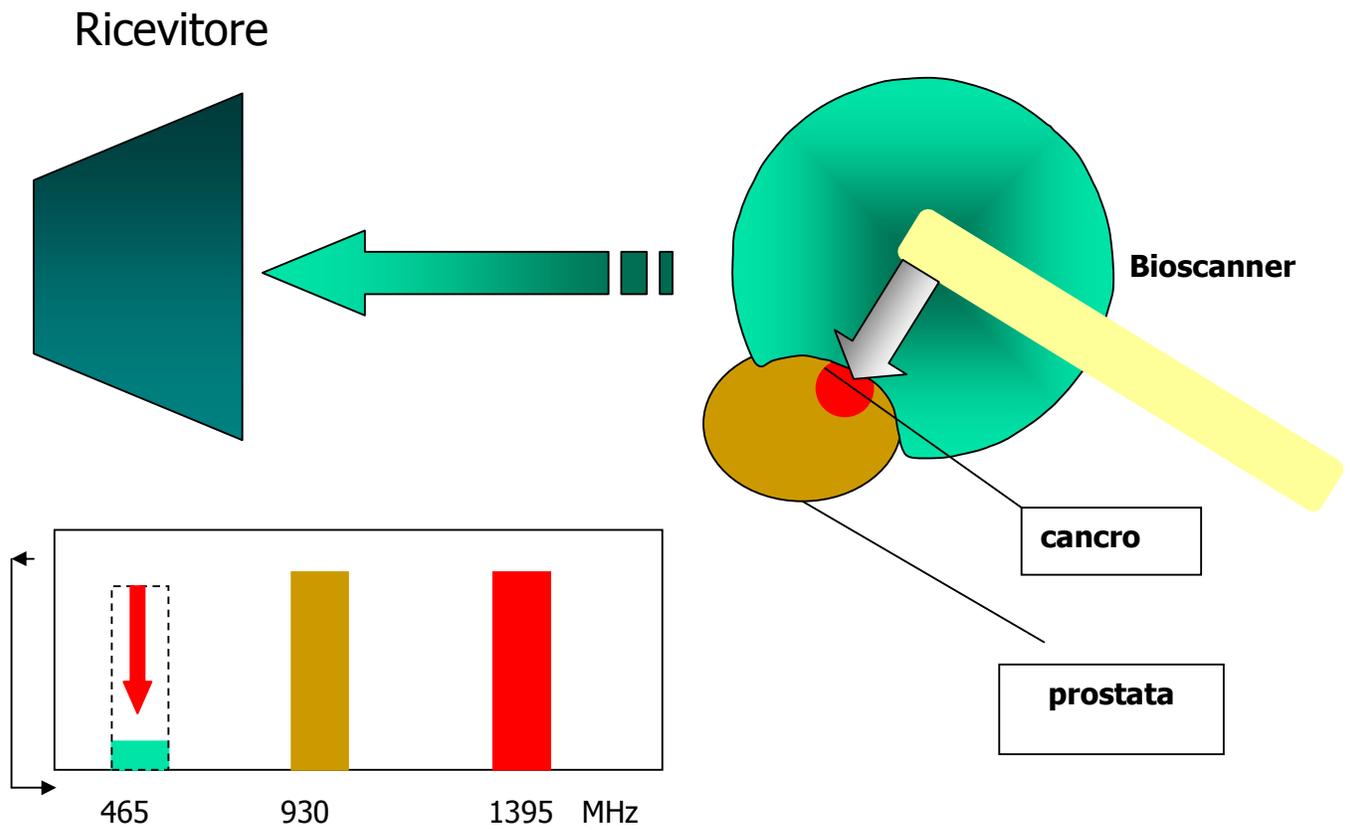
# ***ICONOGRAFIA***

**TABELLA IX:**  
**SPETTRO DELLE ONDE ELETTROMAGNETICHE**

<b>Frequenza</b>	<b>Lunghezza</b>	<b>Energia ( ev )</b>	<b>Denominazione</b>
Da <30 hz a 3 khz	da >10 000 km a 100 km	a $10^{-11}$	Telefonia
Da 3 khz a 30 khz	da 100 km a 10 km	da $10^{-11}$ a $10^{-10}$	VLF
da 30 khz a 300 khz	da 10 km a 1 km	da $10^{-10}$ a $10^{-9}$	LF
da 300 khz a 3Mhz	da 1 km a 100 m	da $10^{-9}$ a $10^{-8}$	MF
da 3 Mhz a 30 Mhz	da 100 m a 10 m	da $10^{-8}$ a $10^{-7}$	HF
da 30 Mhz a 300 Mhz	da 10 m a 1 m	da $10^{-7}$ a $10^{-6}$	VHF
da 300 Mhz a 3 Ghz	da 1 m a 100 mm	da $10^{-6}$ a $10^{-5}$	microonde UHF
da 3 Ghz a 30 Ghz	da 100 mm a 10 mm	da $10^{-5}$ a $10^{-4}$	microonde SHF
da 30 Ghz a 300 Ghz	da 10 mm a 1 mm	da $10^{-4}$ a $10^{-3}$	microonde EHF
da 300 Ghz a $4 \cdot 10^{14}$ hz	da 1 mm a 750 nm	da $10^{-3}$ a 1.5	infrarosso
da $4 \cdot 10^{14}$ hz a $8.5 \cdot 10^{14}$ hz	da 750 nm a 350 nm	da 1.5 a 3.5	luce visibile
da $8.5 \cdot 10^{14}$ hz a $3 \cdot 10^{16}$ hz	da 350 nm a 10 nm	da 3.5 a $10^2$	ultravioletto
Da $3 \cdot 10^{16}$ hz a $3 \cdot 10^{19}$ hz	da 10 nm a $10^{-2}$ nm	da $10^2$ a $10^5$	raggi X
Da $3 \cdot 10^{19}$ hz a $3 \cdot 10^{22}$ hz	da $10^{-2}$ nm a $10^{-5}$ nm	da $10^5$ a $10^8$	raggi $\gamma$
Da $3 \cdot 10^{22}$ hz a $3 \cdot 10^{23}$ hz	da $10^{-5}$ nm a $10^{-6}$ nm	da $10^8$ a $10^9$	radiazioni cosmiche

FIGURA 2

SCHEMA DI FUNZIONAMENTO DEL TRIMPROB IN PRESENZA DI UNA  
NEOPLASIA DELLA PROSTATA



**FIGURA 3**

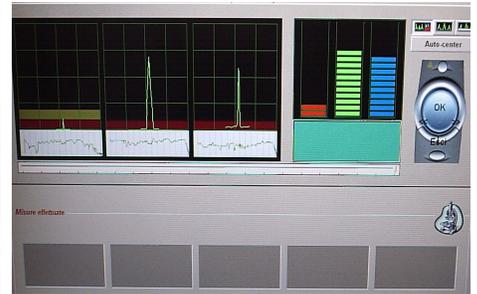
**IL TRIMPROB: SONDA (A), RICEVITORE (B) E DISPLAY PER  
INTERPRETAZIONE DATI (C)**



**A)**



**B)**



**C)**

**FIGURA 4:**  
**SCANSIONE TRASVERSALE DELLA PROSTATA MEDIANTE TRIMPROB**

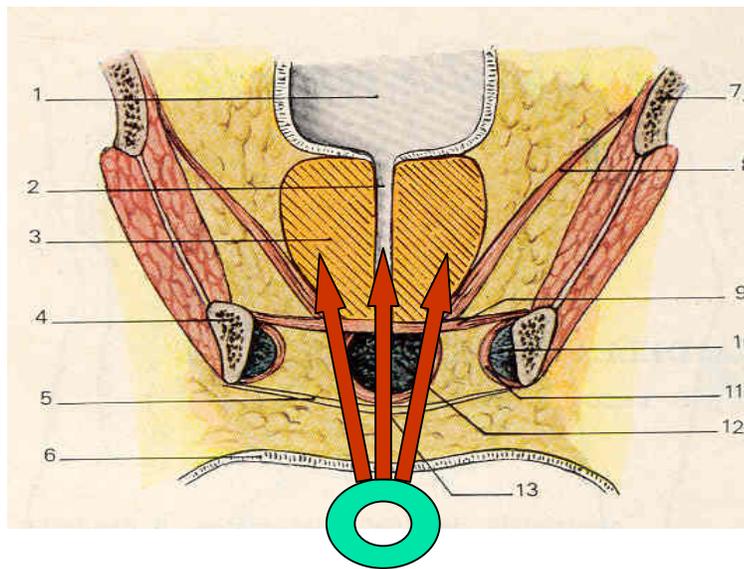


FIGURA 5

PAZIENTE CON SOSPETTO DI TUMORE DELLA PROSTATA: LA PRIMA LINEA SPETTRALE (BANDA ROSSA), VIENE COMPLETAMENTE AZZERATA. LA BIOPSIA DIMOSTRERÀ LA PRESENZA DI UN ADENOCARCINOMA DELLA PROSTATA

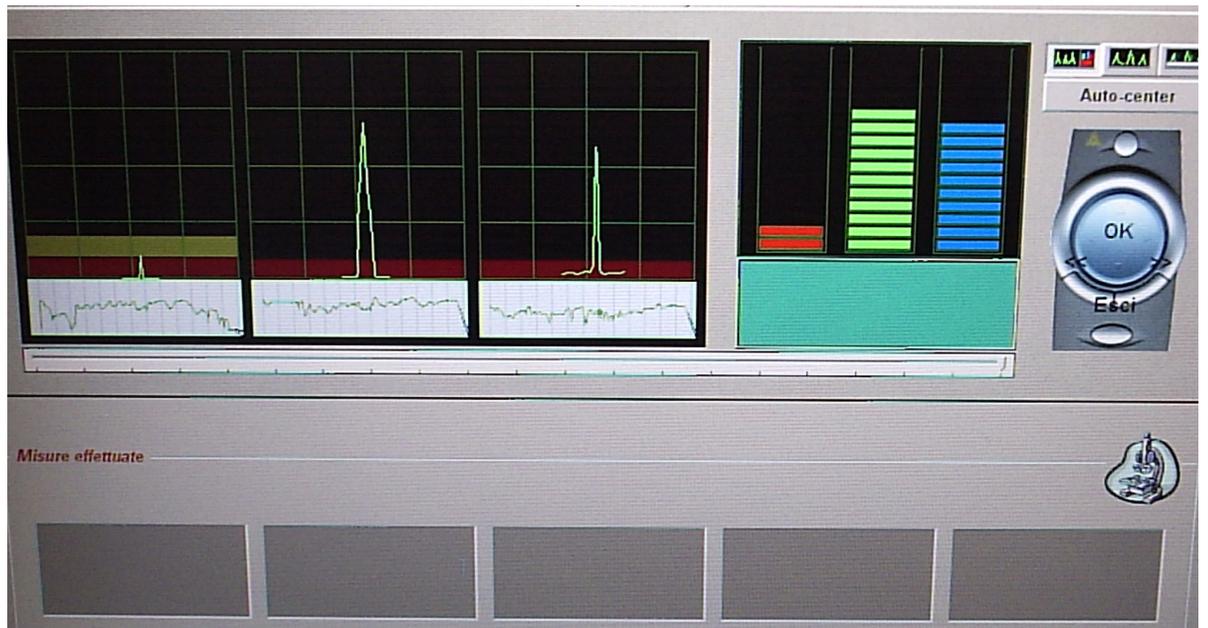
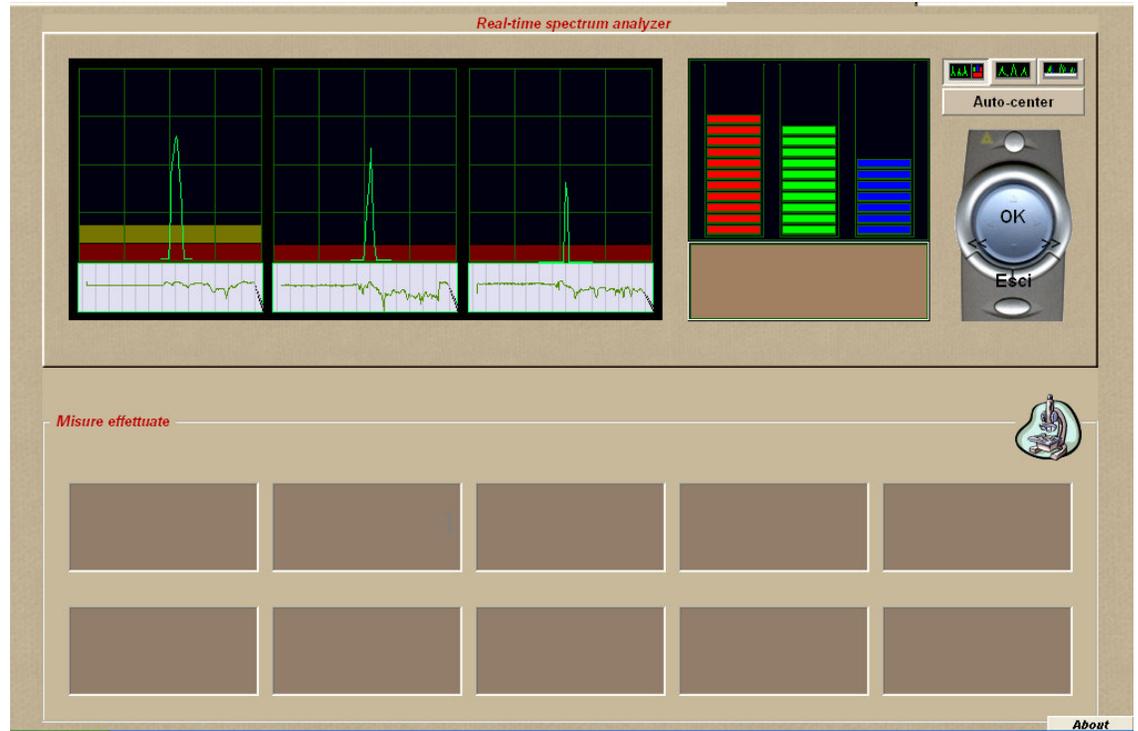


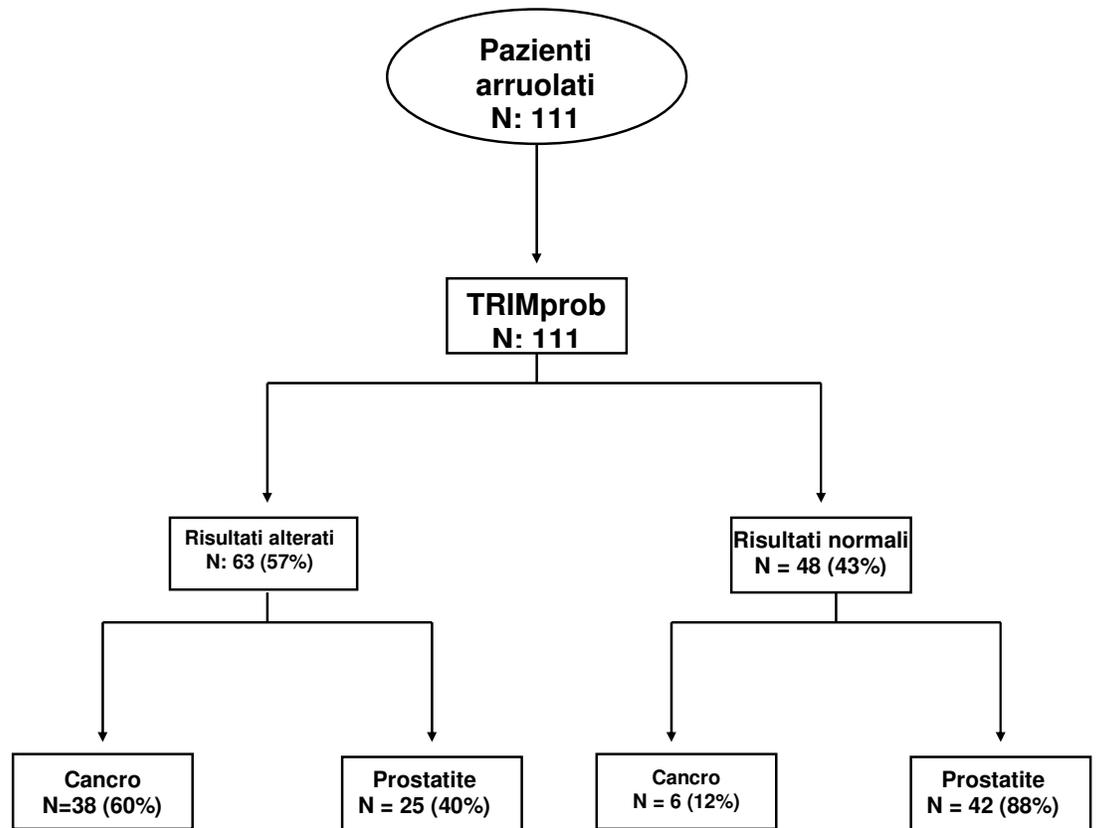
FIGURA 6

PAZIENTE CON PSA < 1 NG/ML DEL GRUPPO DI CONTROLLO  
(NON SONO EVIDENTI ALTERAZIONI LINEE SPETTRALI)



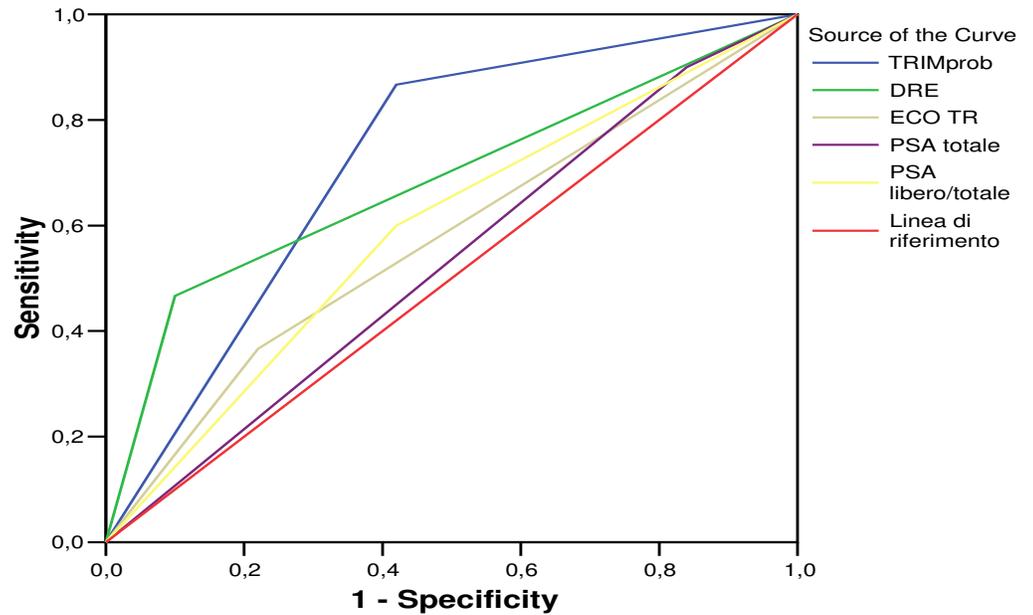
**TABELLA XII:**

**DIAGRAMMA DI FLUSSO DEL GRUPPO DI PAZIENTI DELLO STUDIO**



**TABELLA XIII**

ANALISI ROC (RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTICS) CHE MOSTRA I VALORI DELLA “AREA SOTTO LA CURVA” (AUC)



Test Result Variable(s)	Area	Std. Error(a)	Asymptotic Sig.(b)	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
TRIMprob	.723	.058	.001	.610	.836
DRE	.683	.065	.006	.556	.811
ECO TR	.573	.067	.274	.441	.705
PSA totale	.530	.066	.655	.400	.660
PSA libero/totale	.590	.066	.180	.461	.719

a Under the nonparametric assumption

b Null hypothesis: true area = 0.5

## TABELLA XIV

### ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DELLE DIVERSE METODICHE IN ESAME

	<b>Sensibilità</b>	<b>Specificità</b>	<b>PPV</b>	<b>NPP</b>	<b>Accuratezza</b>
<b>TRIMprob</b>	<b>0.84</b>	<b>0.63</b>	<b>0.60</b>	<b>0.87</b>	<b>0.72</b>
<b>Total PSA</b>	<b>0.90</b>	<b>0.16</b>	<b>0.41</b>	<b>0.73</b>	<b>0.45</b>
<b>Free/total PSA (&lt;15)</b>	<b>0.34</b>	<b>0.78</b>	<b>0.35</b>	<b>0.72</b>	<b>0.50</b>
<b>ER</b>	<b>0.40</b>	<b>0.88</b>	<b>0.69</b>	<b>0.69</b>	<b>0.69</b>
<b>TRUS</b>	<b>0.32</b>	<b>0.80</b>	<b>0.51</b>	<b>0.64</b>	<b>0.61</b>

## TABELLA XV

### ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DI DUE TESTS ESEGUITI IN ASSOCIAZIONE PER LA DIAGNOSI DI TUMORE DELLA PROSTATA

	Sensibilità	Specificità
TRIMprob e/o ER +	0,94	0,54
PSA e/o TRIMprob +	0,99	0,10
ER e/o PSA +	0,94	0,14
PSA e/o F/T +	0,93	0,10

**Test in parallelo (due test in contemporanea)**

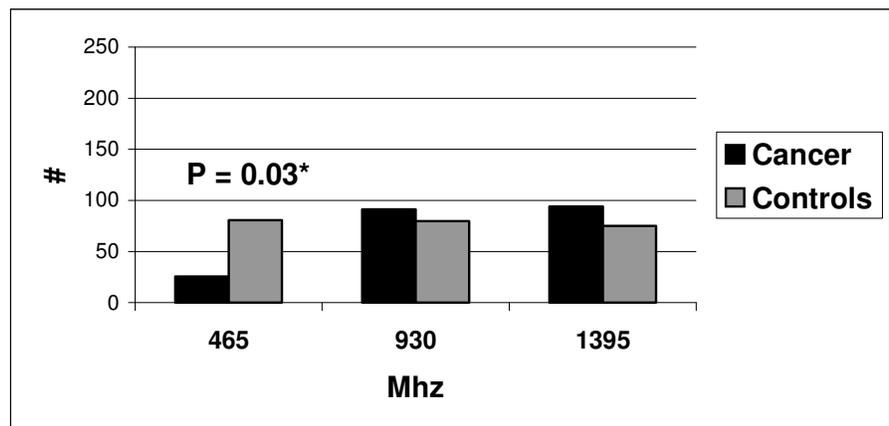
	Sensibilità	Specificità
TRIMprob + ER +	0,37	0,95
PSA + TRIMprob +	0,80	0,68
ER + PSA +	0,37	0,90
PSA + Free/PSA +	0,23	0,74

**Test in serie (test in successione)**

TABELLA XVI

VALORI MEDI E DEVIAZIONE STANDARD DELL'INTENSITÀ DEL SEGNALE A 465, 930 E 1395 MHZ NEI CONTROLLI, IN PAZIENTI CON DIAGNOSI ISTOLOGICA DI TUMORE PROSTATICO ED IN PAZIENTI CON DIAGNOSI ISTOLOGICA DI IPERPLASIA PROSTATICA BENIGNA, PROSTATITE CRONICA, HGPIN.

	Controlli	Ca. prostatico	IPB Prostatite cronica HGPIN	*p<
465 MHz	80.7 (48)	25.6 (37)	49.4 (59)	0.03
930 MHz	79.7 (34)	91.3 (54)	83.4 (45)	0.128
1395 MHz	85.0 (32)	94.2 (48)	99.1 (31)	0.32



\*Mann Whitney test