UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA "TOR VERGATA"
DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA
LABORATORIO DI ONCOLOGIA SPERIMENTALE E ISTOLOGIA

CARCINOMA DELLA PROSTATA

Sommario

Parecchi studi indicano che alto stress ossidativo è associato con varie malattie degenerative, tra cui i tumori. Gli alti livelli dei radicali liberi presenti in molti pazienti derivano dalla mancanza cronica di antiossidanti, causata da una dieta sempre più povera e artificiale. Lo studio presentato in questa ricerca, condotta su 50 vo- lontari maschi, portatori di Carcinoma prostatico (PCa) nelle diverse fasi di sviluppo e nell'ambito della tera- pia attuale, ha dimostrato che l'assunzione giornaliera di antiossidanti contenuti in due integratori alimentari, Citozym e Propulzym, induce una significativa riduzione del PSA e anche di diversi parametri clinici correlati con PCa. Questo risultato suggerisce un potenziale rallentamento della progressione della malattia. Questo studio è stato progettato sulla base di una recente prova preliminare che ha evidenziato l'attività positiva di Citozym in un modello dell'ipertrofia prostatica benigna. Gli studi sono in corso per identificare i componenti presenti in questi integratori alimentari che colpiscono di segnali biochimici. Ciò non significa che l'assunzio- ne di antiossidanti è una cura per la PCa, ma che lo stress ossidativo non diagnosticato, molto meno corretto dagli approcci oncologici standard, contribuisce all'evoluzione della malattia tumorale. In altre parole, l'onco- logia attuale si concentra correttamente sulla riduzione della massa del tumore, ma non interviene sul mezzo biologico che l'ha prodotta. Ecco perché c'è ancora una drammatica incidenza di recidive.

1. Introduzione PCa è riconosciuto come uno dei principali problemi medici della popolazione maschile. In Europa, è di gran lunga la più frequente neoplasia, con un'incidenza annuale di 214 casi ogni 1000 uomini per circa 2,6 milioni nuovi casi ogni anno, e la seconda causa di morte per neoplasia. Per circa 20 anni con l'introduzione nella pratica clinica di PSA (antigene specifico della prostata), c'è stato infatti un notevole aumento nella diagnosi di neoplasia, a cui, tuttavia, ha corrisposto solo un lieve aumento della mortalità, che propone il problema della PCa clinicamente non significativo e il rischio di sovra-trattamento. Parecchi studi indicano che uno stress ossidativo è associato con molte malattie degenerative, tra cui i tumori. Agli alti livelli dei radicali liberi sono stati trovati nei pazienti con una carenza cronica di antiossidanti, causati da una dieta sempre più povera e artificiale. Uno studio effettuato nel 2015 ha evidenziato che il quotidiano apporto di antiossidanti nei pazienti con PCa induce una riduzione significativa del PSA [1]. Secondo i ricercatori indica un vero e proprio rallentamento della progressione della malattia. Recentemente, i ricercatori hanno identificato alcuni componenti antiossidanti di piante che sembrano in gra- do di inibire il movimento delle cellule tumorali e indebolire i loro segnali chimici, elementi che sono alla base della capacità del tumore di generare metastasi [2]. Questo non è per dire che l'assunzione di antiossidanti è una cura per la PCa, ma che un alto indice ossidativo non diagnosticato, contribuisce all'evoluzione della malattia tumorale. Ecco perché c'è ancora una drammatica elevata incidenza di recidive. Ad oggi, i principali strumenti dia- gnostici per il tumore della prostata includono l'esplorazione digito-rettale

della prostata (DRE), ecografia transrettale e PSA. Il DRE deve essere sempre il primo approccio diagnostico ed ha lo scopo di apprezzare la forma, la consistenza, la tenerezza e circa il volume della ghiandola, così come la presenza di noduli so- spetti. Ecografia trans- rettale esegue principalmente il compito di evidenziare le zone di ultrasuono dubbioso e migliorare l'accuratezza della biopsia della prostata, che è l'unica indagine che permette di effettuare una determinata diagnosi di neoplasia. Il PSA è ancora oggi il più utilizzato marcatore serico. Si tratta di una glico- proteina prodotta quasi esclusivamente dalle cellule epiteliali della prostata e, dati fondamentali, costituisce un indicatore di organo e non del cancro; pertanto un'elevazione dei suoi valori può verificarsi anche in presenza di altre patologie prostatiche (iperplasia prostatica benigna, prostatite). Si tratta di una proteasi della serina della famiglia callicreine tessuto umano, codificato da un gene localizzato sul cromosoma 19, che è prodotto dalle cellule epiteliali colonnari secretorie ed è contenuto nel liquido seminale. La funzione del PSA è di man- tenere il liquido spermatico che coagula, permettendo lo spostamento dello sperma, il PSA è altamente speci- fico per il tessuto della prostata, come nessun altro tessuto lo produce. Il PSA libero si trova libero nel plasma, mentre il PSA rilegato è complessato a proteine come alfa-1-antichimotripsina e alfa-2-macroglobulina. La frazione legata all'alfa-1-anti - chimotripsina può essere valutata nel siero. Nei primi anni dell'uso clinico del PSA libero le principali linee guida internazionali avevano adottato un valore di soglia di 4 ng / ml, poi abbas- sato da alcuni autori a 2,5 ng / mL. Infatti, per alcuni anni è stato ampiamente dimostrato che non è possibile stabilire una soglia minima che si può tranquillamente escludere la presenza di un carcinoma prostatico.

Uno studio americano ben noto [3], condotto su circa 3000 uomini hanno mostrato un rischio di neoplasia

di circa il 25% per i valori di PSA fra 2 e 4 ng / ml e circa l'8% per i valori inferiore a 1 ng / ml.

Pertanto il PSA libero ha mostrato una bassa specificità diagnostica ed è scarsamente affidabile per selezionare i tumori clinicamente significativi. Per questo motivo, nel corso degli anni che è stato provato per migliorare la specificità del PSA con alcune delle sue varianti come il rapporto tra PSA libero e totale, che trova la sua ragion d'essere nel fatto che cellule neoplastiche della prostata producono meno PSA in forma libera rispetto ai beni cellule di GN. La valutazione di queste due frazioni di PSA, ha mostrato che le alterazioni che interes- sano il PSA libero si trovano principalmente in ipertrofia prostatica benigna, mentre le alterazioni nei livelli di PSA collegato sono spesso causa di malattie maligne. Pertanto più basso è il rapporto, più il rischio di cancro aumenta. Ad esempio, quando il valore scende sotto 0,10 (< 0.10) il rischio di PCa è stimato al 56%. Negli ultimi mesi, tra le varie isoforme PSA, il - 2proPSA ha suscitato un certo interesse. È un precursore del PSA free ed è tipicamente associato con carcinoma della prostata. L'uso di questo marcatore migliora significati- vamente la specificità diagnostica del PSA libero totale / rapporto di PSA in pazienti con valori di PSA libero tra 2,5 e 10 ng / ml. In passato quasi tutti i medici considerati normali valori di PSA uguali a o inferiore a 4.0 ng / mL, quindi sarebbe indicata biopsia della prostata per PCaresearch in un soggetto con valori sopra 4.0 ng

/ mL. A complicare la situazione, ricordate che il servizio sanitario nazionale identifica il valore

3.0 ng / ml, l'Università di Havard imposta proporzionale all'età i limiti normali.

Protocollo sperimentale 2.1**.** soggetti e trattamenti per i pazienti osservati in questa indagine sono stati reclutati dopo aver dato il loro consenso informato presso la clinica di Urologia Oncologica AIMI. **50 soggetti di sesso maschile invecchiati 60 a 75 con una chiara diagnosi di PCa, sotto terapia ufficiale del cancro**, sono stati divisi in due gruppi, **il primo gruppo (gruppo I) non trattato e il secondo gruppo (gruppo II) trattati giornalmente per via orale con un specifico CIZ / protocollo PRZ ed esaminati per un periodo o f circa quattro mesi**. Durante lo studio i seguenti dati clinici raccolti ogni settimana, sono stati analizzati in tut- ti i pazienti,: libero e totale PSA, densità PSA, PHI, PCA3, testosterone, fibrinogeno, fosfatasi acida prostatica e zinco. Questi parametri clinici sono stati confrontati con i dati iniziali ottenuti prima del trattamento. CIZ e PRZ sono stati ottenuti da CITOZEATEC, s.r.l. (Peschiera Borromeo, Milano, Italia). I componenti principali di CIZ sono come segue (unità/100 g): 500 mg di vitamina C; 56 mg di vitamina B5; 56 ìg di vitamina D; 3, 3 mg di vitamina B9; 222 mg di acido piruvico; 120 mg di acido citrico; 250 mg di acido tartarico. PRZ è una miscela di acido glutammico (24,5 mg/mL), cisteina dell'acetile (19,3 mg/mL), carbonato di calcio (18 ìg/ mL), acido citrico (140 mg/mL), acido tartarico (122,5 mg/mL), sorbitolo (28 mg/mL) e mannitolo (14 mg/ mL). 2.2. analisi biologiche Il PSA è ancora oggi il marcatore più utilizzato. Si tratta di una glicoproteina prodotta quasi esclusivamente dalle cellule epiteliali della prostata e, dati fondamentali, costituisce un indi- catore di organo e non del cancro; pertanto un'elevazione dei suoi valori può verificarsi anche in presenza di altre patologie prostatiche (iperplasia prostatica benigna, prostatite). È una proteasi della serina della famiglia callicreine tessuto umano, codificato da un gene localizzato sul cromosoma 19, che è prodotto dalle cellule epiteliali colonnari secretorie ed è contenuto nel liquido seminale. **La funzione del PSA è di mantenere il liquido spermatico che coagula, permettendo lo sperma spostarsi.** PSA è altamente specifico per il tessu- to della prostata, come nessun altro tessuto lo produce. PSA libero si trova libero nel plasma, mentre il PSA rilegato è complessato a proteine come alfa-1-antichimotripsina e alfa-2-macroglobulina. La frazione legata all'alfa-1-antichimotripsina possa essere valutata in siero. Nei primi anni di utilizzo clinico del PSA libero le principali linee guida internazionali avevano adottato un valore di soglia di 4 ng / ml, poi abbassato da alcuni autori a 2,5 ng / mL. Infatti, per alcuni anni è stato ampiamente dimostrato che non è possibile stabilire una soglia minima che si può tranquillamente escludere la presenza di un carcinoma prostatico. **PCA3: PCA3** è un gene sovraespresso nel 95% dei casi di carcinoma della prostata. Il valore del RNA messaggero (mRNA) di PCA3 ricercato nelle cellule urinarie, dopo il massaggio della prostata, è aumentato a 60 - 100 volte nel 95% dei tumori della prostata rispetto a ciò che è osservato in cellule normali della prostata. Inoltre, il valore è indipendente del volume della prostata, infiammazione, il tasso del sangue PSA e il numero di biopsie già effettuate. La densità di PSA: PSA densità esprime il rapporto tra il PSA e la dimensione misurata ecografia della ghiandola e si basa sul fatto che la quantità di PSA prodotto per grammo di tessuto è molto maggiore nel cancro rispetto a ipertrofia. La densità di PSA, infatti, aumenterebbe l'accuratezza diagnostica del PSA nei pazienti in cui il valore del marcatore è fra 4 e 10 ng / ml. Indice **PHI**: i problemi derivanti dalla limitata ca- pacità del PSA, suggeriscono la presenza di un tumore della prostata clinicamente significativo, ha permesso di inserire un indicatore chiamato PHI (Prostate Health Index), che deriva da un'elaborazione matematica dei

dati relative a tre analisi: totale PSA, PSA libero e - 2proPSA. -2proPSA è una frazione della molecola del PSA è misurata nel sangue dopo un campione normale (p2PSA / PSA free radice quadrata PSA totale).

Testosterone: una connessione tra il livello di testosterone e l'insorgenza di PCahas è stato istituito, a partire dal fatto che PCacells sono inizialmente ormono-sensibile. **Bassi livelli di testosterone sono associati con i tumori più aggressivi** in pazienti che hanno sviluppato la PCa [4]. Tuttavia, ciò non significa che avere bassi livelli di testosterone costituisce un rischio o che correggere i livelli di testosterone in quei soggetti porta ad un ridotto rischio di sviluppare il cancro della prostata. Questa associazione può darci un'indicazione impor- tante di come si evolverà il tumore prima di sottoporre un paziente a chirurgia e quindi aiutarci a scegliere la migliore terapia per il singolo caso. **L'argomento è ancora controverso**, infatti, anche se il testosterone è storicamente considerato un nemico della prostata, recenti evidenze cliniche e precliniche hanno invertito questa visione. Un grande studio prospettico [5] potrebbe dimostrano chiaramente che non esiste alcuna asso- ciazione tra la concentrazione di testosterone del sangue e il rischio di carcinoma della prostata. **Fibrinogeno**: globulina che interviene con altri fattori di coagulazione per promuovere la coagulazione del sangue, come si trasforma in fibrina. Valori di 200-400 mg/100 mL sono considerati normali. Valori inferiori a quelliconside- rati normali può essere determinati da carcinoma della prostata. **Fosfatasi acida prostatica**: fosfatasi acida è un enzima che può essere misurato nel sangue, prodotto dalla prostata, milza, fegato, globuli rossi, piastrine e midollo osseo. Il dosaggio della frazione prostatica serve in particolare per confermare o non il sospetto di carcinoma della prostata. Sono considerati valori normali della fosfatasi acida prostatica fino a 4,2 mU / mL. Valori superiori a quelli considerati normali possono essere determinati da carcinoma della prostata e l'ipertro- fia della prostata. **Zinco**: elemento essenziale per la normale crescita, lo sviluppo del organi genitali, attività normale della prostata, la guarigione della ferita, produzione di proteine; Controlla l'attività di più di 100 enzimi ed è coinvolto nel funzionamento dell'insulina. Piccole quantità di questo elemento sono presenti in molti alimenti come carne magra, pane e cereali integrali, fagioli secchi e gli alimenti marini. Valori normali: 80-160mg / 100mL.

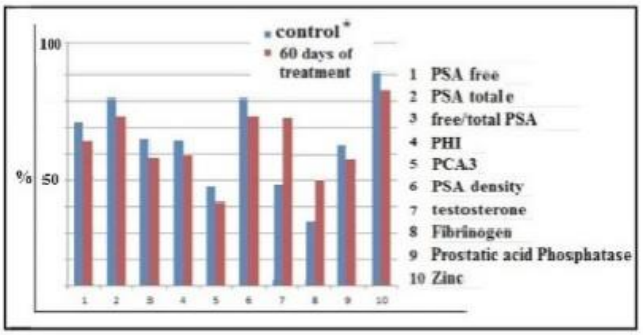


Figura 1. *Percentuale di variazione dei parametri clinici osservati in 50 soggetti di età 60-75 con una chiara diagnosi di PCa, sotto terapia ufficiale del cancro, sono stati divisi in due gruppi. Il primo gruppo (gruppo I) non trattata e il secondo gruppo (gruppo II) trattati oralmente per 60 giorni, con un specifico CIZ / protocollo PRZ ed esaminati per un periodo* di circa quattro mesi. I dati osservati hanno mostrato variazioni di meno del 15%.

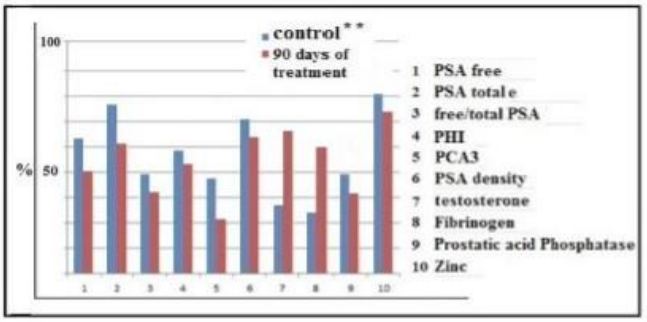


Figura 2. La variazione percentuale dei parametri clinici osservati in 50 soggetti di età compresa tra 60 e 75 con una diagnosi chiara di PCa, sotto terapia oncologica ufficiale, è stata divisa in due gruppi. Il primo gruppo (gruppo I) non trattato e il secondo gruppo (gruppo II) trattati per via orale per 90 giorni, con un protocollo specifico CIZ / PRZ ed esaminati per un periodo di circa quattro mesi. I dati osservati hanno mostrato variazioni inferiori al 15%.

3. risultati

Questo studio è stato progettato sulla base di una prova preliminare che ha evidenziato l'attività positiva di Citozym in un modello dell'ipertrofia prostatica benigna [6]. Dal confronto dei parametri clinici dei 40 pa- zienti esaminati dopo 60, 90 e 120 giorni di somministrazione, dei due integratori in questione, emerge che la terapia antitumorale, a cui sono sottoposti, Mostra un netto miglioramento. Trattamento dei dati è stata effet- tuata confrontando i parametri riportati nella sezione per i valori del gruppo I. PHI è ridotto del 14%, PCA3 del 30% e PAP del 25%. I valori di

zinco e la densità di PSA è rimasta invariati. È interessante sottolineare il mantenimento dei livelli di testosterone hanno esercitato solo tramite la terapia antitumorale, contrastata dal contemporaneo trattamento con antiossidanti, con un evidente aumento totale da tempo 0 di circa il 46%.

4. Discussione

Parecchi studi indicano che alto stress ossidativo è associato con molte malattie degenerative, tra cui i tumori. Alti livelli dei radicali liberi sono stati trovati nei pazienti con una carenza cronica di antiossidanti causati da una dieta sempre più povera e artificiale. Uno studio effettuato nel 2015 ha evidenziato il quotidiano apporto di antiossidanti dai pazienti con PCa induce una riduzione significativa del PSA [1]. **Secondo i ricercatori indica un vero e proprio rallentamento della progressione della malattia.** Recentemente, altri ricercatori hanno identificato **alcuni componenti del melograno** che sembrano in **grado di inibire il movimento delle cellule tumorali e indebolire i loro segnali chimici**, elementi che sono alla base della capacità del tumore della prostata e di generare metastasi fino all'osso. Questo non è per dire che l'assunzione di antiossidanti è una cura per la PCa, ma che un alto sress ossidativo non diagnosticato, contribuisce all'evoluzione della ma- lattia tumorale. **In altre parole, attuale oncologia** si concentra correttamente sulla riduzione del tumore della massa ma non interviene sul terreno biologico che l'ha prodotta. **Ecco perché c'è ancora una drammatica- mente elevata incidenza di recidive**. Sulla base di queste considerazioni, il successo di terapia può essere condizionato dagli antiossidanti presenti nel nostro corpo, che può essere sintetizzato de novo (endogeno) o incorporate attraverso la dieta ed i supplementi nutrizionali (esogeni). Anche se le cellule possiedono un vasto repertorio di enzimi e antiossidanti, a volte questi agenti sono insufficienti per normalizzare lo stato redox, prodotto da un intenso stress ossidativo [7]. **In questi casi, i supplementi dell'antiossidante esogeno** posso- no essere necessari per ripristinare l'omeostasi redox cellulare [8]. È stato suggerito che l'azione antiossidante può proteggere contro lo stress ossidativo connesso con lo sviluppo di determinate malattie o che può inibirne la formazione di molecole ossidanti. Cancro e antiossidanti stanno acquisendo grande importanza, si ritiene che gli antiossidanti possono impedire lo sviluppo di cancro dovuto i loro effetti sulla regolazione del ciclo cellulare, infiammazione, l'inibizione della proliferazione delle cellule tumorali e dell'invasività, l'induzione di apoptosi.

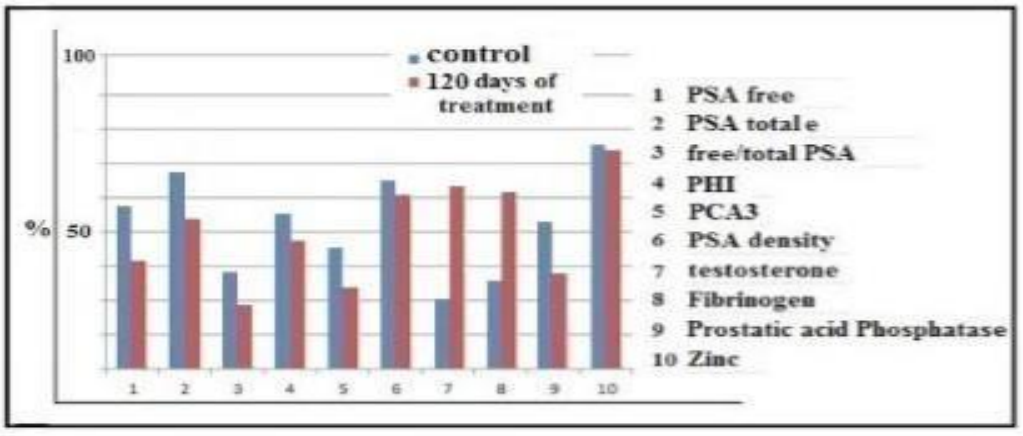


Figura 1. La variazione percentuale dei parametri clinici osservati in 50 soggetti di età compresa tra 60 e 75 anni con una diagnosi chiara di PCa, sotto terapia oncologica ufficiale, è stata divisa in due gruppi. Il primo gruppo (gruppo I) non trattato e il secondo gruppo (gruppo II) trattati per via orale per 120 giorni, con un protocollo specifico CIZ / PRZ ed esaminati per un periodo di circa quattro mesi. I dati osservati hanno mostrato variazioni inferiori al 15%.

La riduzione del PSA libero e totale ha aumentato il rapporto libero totale di PSA. Questi dati, oltre a rappresentare un'osservazione positiva, potrebbero spiegare la riduzione del PHI, e dell'attività della fosfatasi acida prostatica, oltre che alla riduzione di PCA3. È anche possibile disegnare da i valori ottenuti, l'osservazione del miglioramento della condizione generale del paziente, grazie all'aumento dei livelli di testosterone, noto protettore della salute della prostata [1]. Il testosterone è essenziale per la normale crescita, cito differenziazione e manutenzione del tessuto della prostata [10]. Livelli di testosterone alto precedentemente sono stati considerati per condurre allo sviluppo potenziale di PCa e più rapida crescita del tumore [11,12]. Tuttavia, gli studi sull'associazione fra testosterone e PCa rischio hanno prodotto risultati contrastanti [10,11]. Numerosi studi hanno dimostrato che valori di basso, piuttosto che alti, livelli di testosterone alla diagnosi sono stati associati con i vari indicatori di prognosi, tra cui stadio patologico avanzato, per alti punteggi di Gleason, i livelli elevati di PSA, vescichetta seminale invasione e margini chirurgici positivi [13,14]. Pochi studi hanno ulteriormente determinato se bassi livelli di testosterone predicono la prognosi. I dati sui 120 giorni di trattamento in sospeso è già possibile una deduzione preliminare, che la terapia adiuvante con CYZ e PRZ, sembra migliorare i parametri biochimici dei pazienti affetti da carcinoma della prostata. Di conseguenza, in precedenti studi, anno chiarito i meccanismi alla base dell'attività di questo nutraceutico, nel trattamento dei tumori della prostata e la riduzione degli effetti collaterali della chemioterapia. In conclusione i risultati del presente studio potrebbero avere importanti implicazioni cliniche per la gestione e il trattamento dei Pazienti con carcinoma prostatico.

References

[1] Rahul K. Lall, Deeba N. Syed, Vaqar M. Adhami, Mohammad Imran Khan, and Hasan Mukhtar. Dietary Polyphenols in Prevention and Treatment of Prostate Cancer. Int J Mol Sci. 2015;16(2):3350–3376.

[2] Byeongsang Oh , Gemma Figtree , Daniel Costa , Thomas Eade , George Hruby , Stephanie Lim , Aymen Elfiky , Neil Martine , David Rosenthal , Stephen Clarke , Michael Back . Oxidative stress in prostate cancer patients: A systematic review of case control studies. Prostate Int. 2016; 4:71-87

[3] 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. N Engl J Med. 2004;350(22):2239-2246.

[4] Huakang Tu, Jian Gu, Qing H. Meng, Jeri Kim, Sara Strom, John W. Davis, Yonggang He, Elizabeth A. Wagar,Timothy C. Thompson, Christopher J. Logothetis, and Xifeng Wu. Low serum testosterone is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in prostate cancer. Oncol Lett. 2017 Mar; 13(3): 1949–1957.

[5] Roddam AW,Allen NE, Appleby P,Key TJ. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. J Natl Cancer Inst. 2008;100(3):170-183.

[6] Torricelli P., Ferorelli P., De Martino A. , Antonelli F., Beninati S. Preventive effects of a mixture of micronutrients with antioxidative properties on experimentally induced prostate hyperplasia American Journal of Life Sciences. 2013; 1(1) : 22-26

[7] Sadowska-Bartosz I, Bartosz G . Effect of antioxidants supplementation on aging and longevity. Biomed Res Int. 2014;2014:404680

[8] Jaouad Bouayed, Torsten Bohn. Exogenous antioxidants: Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. Oxid Med Cell Longev.

[9] Dietary Antioxidants and Prostate Cancer: A Review. Terrence M. Vance, Joseph Su, Elizabeth T. H. Fontham, Sung I. Koo,andOck K. Chun. Nutr Cancer. 2013; 65(6): 10.1080/01635581.2013.806672

[10] Isbarn H, Pinthus JH, Marks LS, Montorsi F, Morales A, Morgentaler A, Schulman C. Testosterone and prostate cancer: Revisiting old paradigms. Eur Urol. 2009;56:48–56.

[11] Klap J, Schmid M, Loughlin KR. The relationship between total testosterone levels and prostate cancer: A review of the continuing controversy. J Urol. 2015;193:403–413.

[12] Morgentaler A. Testosterone and prostate cancer: An historical perspective on a modern myth. Eur Urol. 2006;50:935–939. Paixão RL, Schramm FR. Ethics nd animal experimentation: what is debated? Cad Saude

Publica. 1999; 15 Suppl 1: 99-110.
[13] García-Cruz E, Piqueras M, Huguet J, Peri L, Izquierdo L, Musquera M, Franco A, Alvarez-Vijande R,
[14] Ribal MJ, Alcaraz A. Low testosterone levels are related to poor prognosis factors in men with prostate cancer prior to treatment. BJU Int. 2012;110:E541–E546.
[15] Botto H, Neuzillet Y, Lebret T, Camparo P, Molinie V, Raynaud JP. High incidence of predominant Gleason pattern 4 localized prostate cancer is associated with low serum testosterone. J Urol. 2011;186:1400– 1405.

Prof. Simone Beninati
Responsabile lab. Istologia-oncologia
Università di Roma “Tor Verg

Dott.Francesco Antonelli
assistente alla ricerca.