

## References

1. Kroon BK, Horenblas S, Lont AP et al. Patients with penile carcinoma benefit from immediate resection of clinically occult lymphnode metastasis, *J Urol* 173, 3: 816-819; 2005
2. Ficarra V, Zattoni F, Artibani W et al. Nomogram predictive of pathological inguinal lymphnode involvement in patients with squamous cell carcinoma of the penis, *J Urol* 175, 5: 1700-5. 2006
3. Culkun DJ and Beer TM. Advanced penile carcinoma, *J Urol* 170, 2: 359-365, 2003

## Abstract n. 70 Poster

**ESPRESSIONE ED ATTIVAZIONE DI EPIDERMAL GROWTH FACTOR (EGFR) NEI TUMORI TESTICOLARI**

Toncini C.<sup>1</sup>, Sola S.<sup>2</sup>, Ninotta G.<sup>3</sup>, Ruggiero G.<sup>3</sup>, Gaggero G.<sup>4</sup>, Fornarini G.<sup>5</sup> e Corbu C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Struttura Complessa Anatomia Patologica Ospedaliera, Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino, Genova; <sup>2</sup>Struttura Complessa Anatomia ed Isto-citopatologia, Azienda Ospedaliera Santa Corona, Pietra Ligure (Savona); <sup>3</sup>Clinica Urologica, Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino, Genova; <sup>4</sup>Dipartimento di Discipline Chirurgiche, Morfologiche e Metodologie Integrate (Di.C.M.I.), Sezione di Anatomia e Istologia Patologica, Università di Genova; <sup>5</sup>Struttura Complessa di Oncologia Medica, Azienda Ospedaliera Universitaria San Martino, Genova

**Introduzione e Obiettivi:** L'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR), quale fattore prognostico e/o correlato ad eventuali target therapy, è stato ampiamente indagato a livello di neoplasie di varie sedi, in particolare mammella, polmone e intestino, ma non ancora nei tumori del testicolo.

Ne abbiamo pertanto valutato l'espressione e l'attivazione in 55 tumori testicolari primitivi pervenuti alla nostra osservazione nel periodo compreso tra Gennaio 2000 e Dicembre 2004 e abbiamo poi correlato il risultato con l'istotipo, la stadiazione patologica e il follow up degli stessi tumori.

**Metodi:** Dopo adeguato campionamento della neoplasia e fissazione dei prelievi in formalina, l'EGFR è stato evidenziato mediante indagini immunostochimiche con immunocoloritore automatizzato e sistema di rilevazione streptavidina-biotina coniugata con perossidasi. La valutazione effettuata nel nostro studio è stata di positività/negatività di membrana di tale anticorpo. I tumori sono stati suddivisi secondo la classificazione OMS 2004 e comprendono 42 tumori a cellule germinali (28 puri e 14 misti), 7 tumori a cellule di Leydig, 5 tumori ematopoietici e 1 tumore adenomatode. La stadiazione patologica è stata effettuata secondo i criteri dell'UICC 2002. Tutti i casi sono stati controllati con follow up sino al Giugno 2005.

**Risultati:** Dal nostro studio emerge che l'EGFR nei tumori del testicolo è indipendente dalla stadiazione patologica e dall'esito del follow up. Occorre invece evidenziare che: 1) le lesioni tumorali benigne, ovvero il tumore adenomatode e 6 tumori di Leydig su 7, sono EGFR positivi; 2) le neoplasie intratubulari a cellule germinali non classificate (IGCNU), eventualmente associate ai tumori a cellule germinali, sono EGFR negative; 3) i tumori a cellule germinali sono EGFR negativi eccettuate le componenti epiteliali ben differenziate, mature, microcistiche dei teratomi e le strutture microcistiche dei tumori del sacco vitellino, nonché le cellule sinciziotrofoblastiche; 4) i seminomi puri sono EGFR negativi; 5) i carcinomi embrionali puri sono EGFR negativi; 6) i linfomi e il mieloma sono EGFR negativi.

**Conclusioni:** Nei tumori testicolari da noi valutati sono emerse significative correlazioni tra l'EGFR e l'istotipo neoplastico. Le correlazioni evidenziate sono peraltro inaspettate, soprattutto se confrontate con tumori di altre sedi. Nel nostro studio si è infatti evidenziato che anche i tumori benigni come quelli a cellule di Leydig sono EGFR positivi, mentre i tumori a cellule germinali, biologicamente e soprattutto morfologicamente più

maligni, come ad esempio i carcinomi embrionali, sono EGFR negativi. La negatività dell'EGFR in tali tumori è comunque confortata nella nostra indagine anche dalla netta negatività di tale reperto nelle IGCNU, spesso localizzate nel tessuto didimario adiacente ai tumori da noi valutati. E' inoltre assai importante rilevare che nell'ambito dei teratomi le aree EGFR positive sono risultate quelle epiteliali mature e ben differenziate che, a fronte di una morfologia apparentemente non aggressiva, posseggono spesso capacità molto elevata sia di metastatizzazione che di resistenza alla terapia. Proprio la positività dell'EGFR nell'ambito di una componente neoplastica spesso refrattaria alla terapia, come quella teratomatosa matura, appare un reperto di per sé meritevole di ulteriori approfondimenti per eventuali target therapy correlate.

## Bibliografia

Moroni M, Veronese S, Schiavo R, Carminati O, Sorensen Boe S, Gambacorta M, Siena S. Epidermal growth factor receptor expression and activation in nonseminomatous germ cell tumors. *Clin. Cancer Research* vol. 7. 2770-2775, 2001

## Abstract n. 71 Poster

**LA RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE (MR) CON BOBINA ENDORETTALE E ANALISI SPETTROSCOPICA (MRS) NELLA VALUTAZIONE DEL CANCRO PROSTATICO**

Milan G.L.<sup>1</sup>, Cucchiareale G.<sup>1</sup>, Liberale F.<sup>1</sup>, Graziano M.E.<sup>1</sup>, Varvello F.<sup>1</sup>, Petracchini M.<sup>2</sup>, Cirillo S.<sup>2</sup>, Ferrando U.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Urologia 3 Ospedale San Giovanni Battista, Torino; <sup>2</sup>Radiologia IRCC, Candiolo (TO)

**Introduzione ed Obiettivi:** La MR con bobina endoretale associata all'analisi spettroscopica (MRS) consente di valutare in "vivo" e in modo non invasivo il comportamento di alcune biomolecole presenti a livello prostatico quali il citrato (normale morfologia e funzione ghiandolare) e la colina (indicativo di proliferazione cellulare e di alterazione delle membrane cellulari). In condizioni normali il rapporto tra i due metaboliti risulta conservato e rappresentato dal picco del citrato nettamente superiore a quello della colina; in caso di neoplasia prostatica tale rapporto è invertito con valori della colina superiore a quelli del citrato. La combinazione della MR con Spettroscopia (MRS) si è dimostrata utile come guida nell'identificazione di carcinoma prostatico (CaP) in corso di re-biopsie. Inoltre, tale procedura risulta interessante nella stadiazione pre-operatoria nei pazienti con CaP indirizzati verso interventi chirurgici nerve sparing (NS) e non. Presentiamo la nostra casistica confrontando i risultati della MRS nella individuazione e localizzazione delle neoplasie prostatiche con i rilievi anatomo-patologici.

**Metodi:** Tra il giugno 2005 e l'aprile 2006, 30 pazienti con CaP clinicamente localizzato sono stati valutati pre-operatoriamente con tale tecnica, almeno 40 giorni dopo l'esecuzione delle biopsie prostatiche. Età media: 64 aa (range 52-75 aa). PSA medio pre-operatorio: 6,5 ng/ml (range 1,9-18 ng/ml). I risultati della MRS sono stati correlati con quelli della stadiazione patologica in modo da definirne l'accuratezza globale della metodica (confronto tra interessamento capsulare, apicale e vescicolare). Un secondo gruppo di 8 pazienti (età media 67 anni) con persistenza di valori elevati di PSA (medio di 7,5 ng/ml) e già sottoposti a precedenti biopsie prostatiche sono stati valutati, prima della re-biopsia, con la MRS al fine di correlare il dato istopatologico con il rilievo radiologico.

**Risultati:** 16 pazienti a basso rischio sono stati sottoposti a prostatectomia radicale (RP NS). In 14 pazienti lo studio pre-operatorio con MRS risultava negativo per infiltrazione capsulare o vescicolare, mentre in due pazienti riscontrava un interessamento apicale. 14 dei 16 pazienti sono risultati di stadio patologico T2a-c (Gleason score 6-7). Di questi 12 possedevano

marginari chirurgici negativi. 2 pazienti risultavano pT3a. L'interessamento capsulare era presente in 3 pazienti, mentre il margine apicale risultava positivo in 2.

14 pazienti sono stati sottoposti a RP extraponeurotica. In 9 pazienti la MRS segnalava un'infiltrazione capsulare o vescicolare che era confermato in 5 pazienti. Dei 6 pazienti con diagnosi radiologica di malattia intracapsulare 5 risultavano di stadio patologico T2a-c, mentre 1 risultava pT4. Degli 8 pazienti sottoposti a re-biopsia sulla guida della MRS 3 risultavano positivi per CaP e in 2 vi era corrispondenza tra la sede della neoplasia sospettata dall'indagine radiologica e il referto istopatologico.

**Conclusioni:** In questa preliminare esperienza la MRS si è dimostrata una metodica efficace nel rilevare le neoplasie prostatiche intracapsulari nei pazienti candidati alla RP NS bilaterale. Inoltre, in caso di re-biopsia questo strumento offre una miglior guida nell'indirizzare prelievi biotipi multipli in aree prostatiche con maggior probabilità di riscontrare CaP.

Abstract n. 72 Comunicazione Selezionata

**DETERMINANTI MOLECOLARI PREDITTIVI DI RISPOSTA AL TRATTAMENTO INTRAVESICALE CON GEMCITABINA PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA DELLA VESCICA SUPERFICIALE**

Spitaleri G.<sup>1</sup>, Curigliano G.<sup>1</sup>, de Braud F.<sup>1</sup>, Verweij F.<sup>2</sup>, Mey V.<sup>3</sup>, Matei V.<sup>2</sup>, Rocco B.<sup>2</sup>, Follini M.L.<sup>2</sup>, Scardino E.<sup>2</sup>, Danesi R.<sup>3</sup>, De Cobelli O.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unità di Farmacologia Clinica e Sviluppo Nuovi Farmaci, Istituto Europeo di Oncologia Milano; <sup>2</sup>Divisione di Urologia Istituto Europeo di Oncologia Milano; <sup>3</sup>Divisione di Farmacologia e Chemioterapia, Dipartimento di Medicina Interna, Università di Pisa, Facoltà di Medicina e Chirurgia

**Introduzione e Obiettivi:** Lo scopo di questo studio è quello di determinare la correlazione tra la risposta patologica al trattamento intravesicale con gemcitabina e l'espressione genica degli enzimi responsabili del metabolismo del farmaco nei campioni tissutali di carcinoma della vescica: la deossicitidina chinasi (dCK), deossicitidina deaminasi (CdA), endo-5'-nucleotidasi (5'-NT), le subunità M1 e M2 della ribonucleotide reductasi (RR) e dei human concentrative and equilibrative nucleoside transporter (hCNT1 and hENT1).

**Metodi:** I pazienti con diagnosi istologica di carcinoma della vescica superficiale (stadio Ta, T1, G1 multifocale e/o recidivante e/o > 3 cm, o G2-G3) sono sottoposti a resezione transuretrale (TUR) di tutte le lesioni tumorali con risparmio della lesione marker (LM). I pazienti ricevono successivamente un ciclo di somministrazione di gemcitabina endovesicale (sei instillazioni settimanali di gemcitabina 2000 mg della durata di 60' seguite da due settimane di riposo). Alla fine del ciclo si valuta la risposta della LM con TUR. L'espressione genica di dCK, CdA, 5'-NT, RR, hCNT1, hENT1 viene valutata su mRNA estratto dalle cellule tumorali mediante real time-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Risultati:** Dall'aprile 2004 a luglio 2006 sono stati arruolati 40 pazienti con carcinoma della vescica superficiale. I pazienti sono stati sottoposti a 173/186 instillazioni (media 5,6, range 0-6). La durata delle instillazioni per paziente è stata di 286,4 minuti (media 47.74 per instillazione, range 0-60). Undici risposte complete patologiche della ML sono state osservate nei 29 pazienti valutabili. I pazienti valutabili per fattori predittivi di farmacogenomica sono 24: sette con remissione patologica e diciassette con stabilità di malattia. Nei pazienti con risposta patologica alla gemcitabina si è osservata una elevata espressione di dCK (mediana 1.021) e bassi livelli di RRM2 (valore mediano 0.778), rispetto ai pazienti non responsivi al trattamento. Il rapporto calcolato dell'espressione dCKhENT/RR è un fattore potenziale farmacogenetico predittivo di risposta patologica al trattamento ( $p=0.0015$ ).

**Conclusioni:** Nel nostro studio si è dimostrato come alti livelli di espressione genica di un enzima attivante il farmaco (dCK) e bassi livelli di enzima inattivante (RRM2) possono essere considerati fattori predittivi di risposta al trattamento. Il rapporto calcolato dell'espressione dCKhENT/RR è un fattore potenziale farmacogenetico predittivo di risposta patologica alla gemcitabina endovesicale.

**Bibliografia**

1. Wong ML, Mediano JF *Biotechniques*. 2005 Jul;39(1):75-85
2. Giovannetti E, Mey V, Nannizzi S, Pasqualetti G, Marini L, Del Tacca M, Danesi R. *Pharmacogenomics J*. 2004;4(5):307-14
3. Gardmark T, Carringer M, Beckman E, Malmstrom PU. *Urology*. 2005 Sep;66(3):527-30

Abstract n. 73 Comunicazione

**INDUCTION OF GNRH RECEPTOR EXPRESSION BY A GNRH AGONIST, HORMONES, ANTI-HORMONES AND GROWTH FACTORS IN HUMAN PROSTATE CANCER CELLS**

Angelucci C., Lama G., Iacopino F., Urbano R., Bono A.V., Sica G.

Istituto di Istologia ed Embriologia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma; <sup>1</sup>Divisione di Urologia, Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese

**Introduction:** We have previously reported that GnRH receptor (GnRH-R), evaluated by immunocytochemistry, is expressed both in the cytoplasm and on the plasma membrane of androgen-sensitive (LNCaP) and -insensitive (PC-3) prostate cancer cells. We have also observed the effectiveness of Dihydrotestosterone (DHT) and of the anti-androgen Cyproterone acetate (CA) in enhancing GnRH-R immunoreactivity in LNCaP cells.

**Objectives:** In the present study, we investigated by immunoblotting, in LNCaP cells, the effect of a GnRH agonist (Leuprorelin acetate, LA), DHT and CA on GnRH-R protein expression at the plasma membrane level. We also studied the ability of LA and Epidermal Growth Factor (EGF) in modulating GnRH-R protein level in the membrane fraction of PC-3 cells.

**Methods:** LNCaP cells were exposed to LA (0.01 or 1000 nM) and DHT (1 nM), alone or associated, for 96 and 144 h. Cells were also treated with CA (100 nM), alone or combined with DHT. PC-3 cells were exposed to LA (0.01 or 1000 nM), EGF (10 ng/ml) or both, for 96 and 144 h. Membrane fraction was then isolated and GnRH-R protein expression evaluated by Western blot analysis.

**Results:** In LNCaP cells both concentrations of LA produced an increase (21-30%) in GnRH-R level after 96 h. A more pronounced up-regulation (66%) was obtained with the exposure to DHT. The combination LA/DHT did not determine an enhancement in receptor level higher than that observed with the single agents. After 144 h, the LA- and DHT-induced up-regulation of the receptor reached about 90% and 119% compared to control, respectively. Once again, LA/DHT association gave effects which did not significantly differ from those induced by LA or DHT alone. The effect of CA was always superimposable to that produced by DHT. The activity of CA/DHT combination was never significantly different from that of the single agents.

Low levels of GnRH-R expression were seen in androgen-independent PC-3 cells. Also in this model LA up-regulated GnRH-R expression after 96 (23-55%) and 144 h (71-91%) regardless to the concentration used. EGF slightly enhanced GnRH-R levels (24 %) after 96 h, while a prolonged treatment (144 h) determined a strong increase (113%). LA/EGF activi-