

LEONARDO CARDILI

**Resposta patológica e marcadores imuno-histoquímicos
no câncer de próstata localizado de alto risco tratado com
terapia neoadjuvante e prostatectomia radical**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Pós-Graduação em
Urologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kátia Ramos
Moreira Leite

São Paulo

2023

LEONARDO CARDILI

**Resposta patológica e marcadores imuno-histoquímicos
no câncer de próstata localizado de alto risco tratado com
terapia neoadjuvante e prostatectomia radical**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Pós-Graduação em
Urologia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kátia Ramos
Moreira Leite

São Paulo

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cardili, Leonardo
Resposta patológica e marcadores imuno-
histoquímicos no câncer de próstata localizado de alto
risco tratado com terapia neoadjuvante e
prostatectomia radical / Leonardo Cardili. -- São
Paulo, 2023.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Urologia.
Orientadora: Kátia Ramos Moreira Leite.

Descritores: 1.Neoplasias da próstata 2.PTEN
fosfo-hidrolase 3.Regulador transcricional ERG
4.Terapia neoadjuvante 5.Imuno-histoquímica

USP/FM/DBD-299/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

*Aos meus pais e meus avós (in memoriam),
que desde cedo me ensinaram o valor
do trabalho e da educação.*

Agradecimentos

À minha esposa Carolina e às minhas filhas Sofia e Catarina pelo amor cotidiano.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Katia Ramos Moreira Leite pela confiança e pelos ensinamentos em pesquisa.

Aos membros da equipe de Oncologia Clínica do ICESP, em especial ao Dr. Diogo Assed Bastos pela confiança e parceria ao longo de todo o projeto.

Aos membros da equipe de Urologia do ICESP, em especial ao Prof. Dr. William Carlos Nahas pelo apoio em diversas etapas do projeto.

Aos membros do Laboratório de Investigação Médica – LIM14, em especial ao Prof. Dr. Venâncio Avancini Ferreira Alves e à Sr^a. Aline Assato pela dedicada colaboração técnico-científica.

Aos membros do Laboratório de Investigação Médica – LIM55, em especial à Prof.^a Dr^a. Sabrina Faria e ao Sr. Iran Amorim da Silva pelo apoio em diversas etapas do projeto.

Aos membros do Setor de Patologia do ICESP, em especial ao Prof. Dr. Evandro Sobroza de Mello e à Sr^a Marina Alessandra Pereira pelo apoio em diversas etapas do projeto.

Aos membros do Centro Translacional em Oncologia (CTO) do ICESP, em especial ao Prof. Dr. Roger Chammas e à Sr^a Allane dos Santos Ferreira pelo apoio técnico-científico.

Aos membros do setor de Pesquisa Clínica do ICESP, em especial à Sr^a Ingrid Pereira Rodrigues Barbosa e à Sr^a Larissa Aparecida Gonçalves pelo apoio técnico-administrativo.

Aos membros do setor de Projetos e Pesquisa da Fundação Faculdade de Medicina, em especial ao Sr. Alexandre Almeida pelo apoio técnico-administrativo.

Aos membros do setor de pesquisa e desenvolvimento da empresa Janssen-Cilag Farmacêutica LTDA pelo apoio financeiro para aquisição de insumos de pesquisa.

SUMÁRIO

Dedicatória	iii
Agradecimentos	iv
Lista de figuras	vii
Lista de tabelas	viii
Lista de quadros	ix
Lista de gráficos	x
Lista de siglas	xi
Resumo	xii
Abstract	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Histórico	1
1.2. Princípios do tratamento do CaP localizado na era do PSA	4
1.3. Biomarcadores imuno-histoquímicos	6
1.3.1. Marcadores relacionados às vias de sinalização androgênica	6
1.3.2. Marcadores relacionados a genes supressores tumorais	7
1.3.3. Marcadores relacionados ao metabolismo glicolítico	8
1.3.4. Marcadores relacionados à família ETS	8
1.3.5. Outros marcadores	9
2. OBJETIVOS	10
2.1. Objetivo principal.....	10
2.2. Objetivos secundários.....	10
2.3. Hipóteses	10
3. METODOLOGIA	11
3.1. Visão geral do ensaio clínico PCR2044	11
3.1.1. Determinação do tamanho amostral.....	12
3.1.2. Fases do ensaio clínico 2044	12

3.1.3. Critérios clínicos de inclusão	16
3.1.4. Critérios clínicos de exclusão	17
3.2. Eixo translacional	18
3.2.1. Avaliação macroscópica	19
3.2.2. Processamento histológico	21
3.2.3. Análise histopatológica	21
3.2.3.1. Biópsias de próstata por agulha	21
3.2.3.2. Peças cirúrgicas	22
3.2.4. Imuno-histoquímica.....	24
3.3. Análise Estatística	25
3.4. Considerações éticas	26
3.5. Financiamento.....	26
4. RESULTADOS.....	27
4.1. Caracterização clínico-patológica pré-tratamento	27
4.2. Resultados histopatológicos pré-tratamento	29
4.3. Resultados histopatológicos pós-tratamento.....	30
4.4. Resultados imuno-histoquímicos	40
4.5. Recorrência bioquímica.....	49
4.6. Análise comparativa com coorte concorrente	51
4.7. Acometimento de linfonodos regionais	53
5. DISCUSSÃO	55
6. CONCLUSÕES	67
7. ANEXOS	68
Anexo A. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	68
Anexo B. Emenda do investigador principal: ensaio PCR2044.....	76
Anexo C. Protocolo institucional de pesquisa clínica (capa)	77
8. REFERÊNCIAS.....	78

Lista de figuras

Figura 1. Esquema geral ilustrando as etapas do ensaio clínico PCR2044.

Figura 2. Diagrama mostrando as perdas de indivíduos nas diferentes etapas do estudo.

Figura 3. Foto de cortes macroscópicos seriados do parênquima prostático ilustrando a sistematização da amostragem de fatias do ápice (fatia 1 – F1) em direção à base (fatia 9 – F9).

Figura 4. Caso 30. Vista panorâmica do leito tumoral com indicação da maior dimensão linear cruzada. HE, 40x.

Figura 5. Fotomicrografias referentes ao caso ID 30.

Figura 6. Fotomicrografias referentes ao caso ID 19.

Figura 7. Fotomicrografias referentes ao leito tumoral prostático do caso ID 17.

Figura 8. Fotomicrografias referentes ao linfonodo metastático do caso ID 17.

Figura 9. Imunoexpressão de ERG no caso ID 45.

Figura 10. Imunoexpressão de ARV7 e PTEN nos casos ID 20 e ID 31, respectivamente.

Lista de tabelas

Tabela 1. Características demográficas e clínico-patológicas iniciais.

Tabela 2. Parâmetros pré-tratamento em função de resposta patológica (RCB<0,25).

Tabela 3. Parâmetros pós-tratamento em função de resposta patológica (RCB<0,25).

Tabela 4. Análise multivariada entre parâmetros pré ou pós-tratamento selecionados e resposta patológica satisfatória.

Tabela 5. Resultados imuno-histoquímicos por indivíduo de pesquisa.

Tabela 6. Resultados imuno-histoquímicos por marcador e carga tumoral residual.

Tabela 7. Parâmetros pré-tratamento em função do status pré-operatório das proteínas PTEN e ERG.

Tabela 8. Parâmetros pós-tratamento em função do status pré-operatório das proteínas PTEN e ERG.

Tabela 9. Taxa de resposta satisfatória (RCB<0,15) em diferentes grupos categorizados por cor e status PTEN/ERG.

Tabela 10. Variáveis clínicas e patológicas selecionadas em função da recorrência bioquímica.

Tabela 11. Análise multivariada entre parâmetros pré e pós-tratamento selecionados e a recorrência bioquímica.

Tabela 12. Parâmetros clínico-patológicos selecionados entre duas coortes comparáveis (PCR2044 versus coorte concorrente PR primária).

Tabela 13. Correlação linear entre diferentes parâmetros de quantificação da carga tumoral nodal e a sobrevida livre de recorrência bioquímica.

Lista de quadros

Quadro 1. Marcadores imuno-histoquímicos e suas respectivas especificações técnicas.

Quadro 2. Marcadores imuno-histoquímicos e seus respectivos padrões de imunexpressão.

Quadro 3. Resultados histopatológicos (pré-tratamento) em biópsia de próstata por agulha por indivíduo de pesquisa.

Quadro 4. Resultados histopatológicos (pós-tratamento) de avaliação da resposta patológica por indivíduo de pesquisa.

Quadro 5. Caracterização patológica dos indivíduos ypN1 com seus respectivos intervalos livres de recorrência bioquímica.

Lista de gráficos

Gráfico 1. Diagrama de caixa (*boxplot*) demonstrando a distribuição dos valores de RCB.

Gráfico 2. Gráfico de barras exibindo a frequência de resposta satisfatória (RCB<0,15) em três diferentes grupos categorizados pela cor/raça e perfil PTEN/ERG.

Gráfico 3A. Gráfico de barras exibindo a celularidade residual média em três diferentes grupos categorizados pelo perfil imuno-histoquímico PTEN/ERG.

Gráfico 3B. Gráfico de barras exibindo as médias de parâmetros patológicos de carga tumoral residual em três diferentes grupos categorizados pelo perfil imuno-histoquímico PTEN/ERG.

Gráfico 4. Sobrevida livre de recorrência bioquímica por grupos de resposta patológica.

Gráfico 5. Diagrama de dispersão entre a carga tumoral nodal através da relação LN positivos / LN totais em função do intervalo livre de recorrência bioquímica.

Lista de siglas

AR	Receptor de andrógeno
ARV7	Sítio recombinação 7 (splice 7) do receptor de andrógeno
CaP	Câncer de próstata
CaPLAR	Câncer de próstata localizado de alto risco
DAB	3,3'-diaminobenzidina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio-padrão
ERG	Proto-oncogene relacionado à família ETS
ETS	Família de genes específicos de transformação eritroblástica
FFPE	Fixado em formol e incluída em parafina
FISH	Hibridização <i>in situ</i> fluorescente
GnRH	Hormônio liberador de gonadotropinas
HE	Hematoxilina-eosina
HRLPC	High risk localized prostate cancer
ICESP	Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
ISUP	Sociedade Internacional de Patologia Urológica
IMC	Índice de massa corpórea
LH	Hormônio Luteinizante
LSN	Limite superior da normalidade
NKX3.1	Locus 1 do fator de transcrição relacionado ao gene <i>NKX3</i>
PCR2044	Protocolo de pesquisa clínica nº 2044
PET	Imagem por emissão de pósitrons
PR	Prostatectomia radical
PSA	Antígeno prostático específico
PSAi	Antígeno prostático específico (coleta inicial)
PSMA	Antígeno específico de membrana prostática
PTEN	Gene Homólogo da Fosfatase e Tensina-símile
RCB	Carga tumoral residual
TDA	Terapia de deprivação androgênica
TDA-I	Terapia de deprivação androgênica intensa
TMA	Microarranjo tecidual (<i>tissue microarray</i>)

Resumo

CARDILI L. *Resposta patológica e marcadores imuno-histoquímicos no câncer de próstata localizado de alto risco tratado com terapia neoadjuvante e prostatectomia radical* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução. A maioria dos casos de câncer de próstata (CaP) é diagnosticada na fase localizada da doença. Ao redor de 20% desses pacientes apresentam alto risco para progressão sistêmica. Esse subgrupo possui maior chance de recidiva bioquímica e maior mortalidade câncer-específica. O tratamento do câncer de próstata localizado de alto risco (CAPLAR) é primordialmente voltado ao controle local da doença e geralmente envolve a prostatectomia radical (PR). Evidências recentes apontam que o uso de terapia de deprivação androgênica intensa (TDA-I) antes da PR poderia elevar as chances de controle local no grupo CAPLAR. Nesse sentido, a busca por biomarcadores capazes de prever a resposta patológica tem se tornado mais relevante.

Objetivo. Avaliar resposta patológica e marcadores imuno-histoquímicos selecionados em indivíduos portadores de CAPLAR tratados com terapia antiandrogênica neoadjuvante (TDA-I) seguida de PR. **Metodologia.** O presente estudo foi realizado a partir de um ensaio clínico prospectivo voltado à verificação de eficácia e segurança de modalidades de TDA-I neoadjuvante em portadores de CAPLAR elegíveis à prostatectomia radical. Nesse contexto, abordamos a expressão imuno-histoquímica de marcadores selecionados (PTEN, ERG, AR, AR-V7, Glico-R, PSMA, NKX3.1, p53 e Ki67) em biópsias de próstata por agulha. Em seguida, analisamos os resultados pré e pós-tratamento a fim de buscar associações dos parâmetros clínicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos com a resposta patológica encontrada no espécime cirúrgico e com a recidiva bioquímica após trinta meses de seguimento. **Resultados.** Sessenta e dois indivíduos atingiram a etapa cirúrgica do estudo. A taxa global de resposta patológica satisfatória ($RCB < 0,25 \text{ cm}^3$) foi de 22,5% (14/62). Indivíduos com perfil imuno-histoquímico desfavorável (PTEN-deficiente ou ERG-positivo) pré-tratamento (38,7%) exibiram maior quantidade de tumor residual no espécime cirúrgico. Esse perfil

mostrou estar associado ao grupo racial branco. A taxa de recorrência bioquímica foi de 48,3% após trinta meses de seguimento. Houve associação significativa entre os grupos de resposta patológica e o intervalo livre de recorrência bioquímica. Na análise multivariada, a carga tumoral foi o melhor preditor pré-tratamento de sucesso terapêutico enquanto que o acometimento linfonodal foi o melhor preditor pós-tratamento de recorrência bioquímica.

Conclusões. A neoadjuvância no cenário de CAPLAR é um recurso seguro e inovador que, para um subgrupo selecionado de indivíduos com menor carga tumoral inicial e perfil imuno-histoquímico favorável (PTEN-preservedo e ERG-negativo), pode exercer um papel terapêutico complementar ao da cirurgia a fim de otimizar o controle local.

Descritores. Neoplasias da próstata; PTEN fosfo-hidrolase; Regulador transcricional ERG; Terapia neoadjuvante; Imuno-histoquímica.

Abstract

CARDILI L. *Pathological response and immunohistochemical biomarkers in high risk localized prostate cancer treated with neoadjuvant therapy and radical prostatectomy* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

Introduction. Currently prostate cancer is mostly detected in localized stages. Twenty percent of patients present high risk of systemic progression. This subgroup shows higher chance of biochemical recurrence and cancer-specific mortality. High risk localized prostate cancer (HRLPC) treatment is primarily focused on local disease control and usually requires radical prostatectomy. In spite of the best local treatment, almost half of the patients will progress along their lifetime. Recent evidences point that the use of intense androgenic deprivation therapy before surgery would increase disease free survival rates on HRLPC subgroup. Thereby, the search for new biomarkers to predict therapeutic response is turning more relevant. **Objective.** Our aim is to study the pathological response and selected immunomarkers (PTEN, ERG, AR, AR-V7, Glico-R, PSMA, NKX3.1, p53 and Ki67) in HRLPC individuals ongoing a clinical trial based on neoadjuvant therapy followed by radical prostatectomy. **Methods.** This study is part of a prospective randomized controlled clinical trial which analyzes efficacy and safeness of neoadjuvant hormonal therapy modalities in HRLPC patients eligible for radical prostatectomy. In this context, we evaluated the immunohistochemical expression of selected markers in prostate needle biopsies. We then analyzed the pre and post-treatment results in order to search for clinical, histological and immunohistochemical associations with the pathological response found in the surgical specimen and with the biochemical recurrence after thirty months follow-up. **Results.** Sixty-two individuals reached the surgical stage of the study. The overall satisfactory pathologic response rate (RCB<0.25 cm³) was 22.5% (14/62). Individuals with an unfavorable immunohistochemical profile (PTEN-deficient or ERG-positive) in the pretreatment biopsy (38.7%) exhibited higher volume of residual tumor in the surgical specimen. This profile was also associated with the white racial group. The biochemical recurrence rate was 48.3% after thirty months of follow-up.

There was a significant association between the pathologic response and the biochemical recurrence-free interval. The multivariate analysis showed that the lower pretreatment tumor burden was the best predictor of therapeutic success, while lymph node involvement and perineural invasion were the best predictors of biochemical recurrence. **Conclusions.** Neoadjuvant therapy in HRLPC is safe and innovative resource that might play a complementary therapeutic role to radical surgery in a selected subgroup of patients with low initial cancer burden and a favorable immunohistochemical profile (PTEN-preserved and ERG-negative).

Descriptors. Prostate neoplasms; PTEN phosphohydrolase; Transcriptional regulator ERG; Neoadjuvant therapy; Immunohistochemistry.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Histórico

O câncer de próstata (CaP) representa a malignidade visceral mais frequente em homens adultos, com incidência atual estimada em 2020 para o Brasil de 65.850 novos casos / ano.¹ Apesar da elevada incidência nos dias de hoje, é preciso lembrar que a apresentação epidemiológica da doença nem sempre foi assim. Na ocasião da primeira descrição de um CaP reconhecida na literatura, atribuída ao cirurgião britânico J. Adams no ano de 1853 no *London Hospital*, o caso foi relatado pelo autor como um fenômeno inusitado naquele contexto epidemiológico.² Mesmo considerando as limitações inerentes ao conhecimento e à prática médica daquela época, as quais impossibilitavam o diagnóstico diferencial preciso dentre diferentes causas de obstrução pós-vesical, a incidência do CaP aumentou vertiginosamente desde então. Ao longo do século XX, com a sociedade progressivamente mais urbana e industrial, o perfil epidemiológico da doença naturalmente acompanhou as transformações sociais e econômicas. A longevidade e o estilo de vida progressivamente se modificaram de modo a compor um terreno favorável ao aumento da incidência do CaP.³

Apesar do relativo progresso com o desenvolvimento das primeiras técnicas cirúrgicas de prostatectomia radical por via perineal no início do século XX pelo cirurgião Hugh H. Young, pouco avanço terapêutico foi obtido até a Segunda Guerra Mundial.⁴ Na época, a maioria dos casos de CaP era diagnosticada em estadios avançados, geralmente na fase metastática.³ Para tais pacientes, não havia tratamento eficaz. O prognóstico era bastante reservado, limitando-se a menos de dois anos.³

Ainda no período entreguerras, apesar das limitações de investimentos relacionadas à Grande Depressão, o interesse em alternativas terapêuticas para o CaP permaneceu vigente. Foi em meio a esse período de crise econômica e instabilidade geopolítica que Charles B. Huggins, médico e fisiologista da Universidade de Chicago, realizou os primeiros estudos experimentais sobre terapia hormonal em CaP.⁵ O grupo de Huggins foi o

primeiro a propôr, em 1941, uma estratégia sistêmica para o tratamento do CaP metastático baseada no princípio de ablação androgênica.⁶ Eles demonstraram, de modo pioneiro, que o CaP é influenciado pela atividade androgênica e que sua forma metastática poderia ser inibida através da castração ou da neutralização androgênica decorrente da injeção de estrogênios, alternativa medicamentosa já acessível naqueles dias. Os estudos prospectivos subsequentes à sua proposição experimental comprovaram a eficácia clínica dessa modalidade terapêutica, a ponto de meritariamente render ao autor principal a láurea de Nobel em 1966 por suas descobertas referentes ao tratamento hormonal no CaP.⁷

Nos anos 1960, os efeitos deletérios de longo prazo relacionados à castração e / ou à terapia de privação androgênica tornaram-se evidentes, com aumento do risco cardiovascular e maior ocorrência de fenômenos tromboembólicos. Tais complicações foram atribuídas ao ganho de peso e à policitemia decorrentes dos baixos níveis de testosterona e altos níveis estrogênicos. Além disso, a cura definitiva não era alcançada e a maioria dos pacientes apresentava progressão no longo prazo.³

Tais eventos adversos fomentaram a busca por novas alternativas terapêuticas. Na década seguinte, Andrzej V. Schally e colaboradores determinaram a estrutura do hormônio gonadotrópico hipotalâmico – GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina) – e elaboraram agonistas sintéticos, descrevendo os efeitos favoráveis e desfavoráveis do uso crônico dessas drogas no contexto do CaP avançado.⁸⁻¹⁰ Ensaios clínicos posteriores revelaram que o uso de agonistas LHRH era equivalente em termos de eficácia à castração cirúrgica e à terapia estrogênica, porém com um perfil de toxicidade mais tolerável.¹¹ Em reconhecimento aos avanços proporcionados pela inserção dos agonistas de LHRH no arsenal terapêutico medicamentoso, Schally foi laureado com o Prêmio Nobel de 1977.

Concomitantemente, foram testadas novas classes de fármacos voltados para o tratamento do CaP avançado, por vezes com sucesso relativo.¹² Dentre essas, o mais bem sucedido foi o acetato de ciproterona, que viria a ser amplamente incorporado à prática clínica. Tratava-se de um antagonista androgênico esteroidal com dupla função biológica: bloqueava o receptor androgênico na próstata e nas células neoplásicas ao mesmo tempo em que

inibiu a liberação de LH (hormônio luteinizante), de modo a reduzir os níveis de testosterona.¹³ Apesar de efeitos adversos significativos, como disfunção erétil e hiperplasia hepatocelular, a eficácia da droga foi considerada equivalente à da castração e à da terapia estrogênica após diferentes estudos clínicos.¹⁴

A busca incessante por novas alternativas medicamentosas tornou-se mais intensa a partir dos anos 1980, com a descoberta dos antagonistas androgênicos não-esteroidais, do grupo da Flutamida. Aprovada em 1989, com a vantagem de afetar menos a libido e a potência, sua utilização em esquema monodroga mostrou-se inferior, em termos prognósticos, às demais terapias medicamentosas disponíveis.¹⁵

Sobretudo no âmbito cirúrgico diversos resultados terapêuticos marcantes foram alcançados. Em 1983, Patrick Walsh publicou uma técnica modificada para a prostatectomia radical retropúbica tradicional, pioneiramente descrita por Terrence Millin.¹⁶ Essa nova abordagem operatória possibilitava a preservação dos feixes neurovasculares, culminando em melhor hemostasia e menores taxas de impotência sem abrir mão da adequidade das margens cirúrgicas.¹⁷ Desde então, a prostatectomia radical modificada se consolidou como a principal modalidade curativa no tratamento do CaP localizado.³

De fato, a década de 1980 foi especialmente produtiva para inovações diagnósticas e terapêuticas relativas ao CaP. Também em 1983, o antígeno prostático específico (PSA) foi descrito como marcador sérico para CaP.¹⁸⁻¹⁹ Desde então vem sendo utilizado como o principal parâmetro bioquímico para monitorar progressão de doença e resposta terapêutica.³ Alguns anos mais tarde, as biópsias por agulha guiadas por ultrassom via transretal surgiram como uma valiosa ferramenta de confirmação diagnóstica pré-operatória, permitindo a graduação histológica e otimizando o planejamento terapêutico.²⁰ Os avanços diagnósticos e terapêuticos ao longo dos anos 1980 foram expressivos a ponto de proporcionar uma redução na mortalidade por câncer de próstata em pacientes abaixo dos 75 anos no início da década seguinte.³

1.2. Princípios do tratamento do CaP localizado na era do PSA

Na era do PSA, a maioria dos casos de CaP passou a ser diagnosticada na fase inicial (localizada) da doença. Entretanto, cerca de 20% dos pacientes apresentam câncer de próstata localizado de alto risco (CAPLAR). Esse subgrupo específico é caracterizado por maior percentual de recaída bioquímica e maior mortalidade câncer-específica.²¹⁻²² Segundo os critérios de D'Amico et cols, a estratificação dos pacientes portadores de CaP pode ser realizada a partir do estadió clínico, PSA e/ou grau histológico (escore de Gleason) e permite avaliar o risco de falha terapêutica após cinco anos de seguimento. Portanto, o conceito de CAPLAR pode ser definido como um subgrupo de pacientes com prognóstico potencialmente desfavorável.²³ Novas modalidades de tratamento têm sido direcionadas a esse subgrupo.

Atualmente, o tratamento do CAPLAR é baseado principalmente no tratamento cirúrgico radical da próstata.³ A prostatectomia radical (PR) permanece sendo o padrão-ouro de terapia local com intenção curativa para pacientes portadores de CaPLAR.²⁴ Apesar do melhor tratamento local, aproximadamente metade desses pacientes evoluirão com recorrência bioquímica e uma significativa parcela progredirá para a fase metastática e / ou óbito relacionado à doença.²¹⁻²⁴

Seguindo o princípio oncológico de otimização terapêutica através da utilização em carácter neoadjuvante de fármacos ativos no contexto metastático - aplicado com sucesso a outros tumores sólidos de alta prevalência, tais como mama e cólon - há interesse crescente em avaliar novos medicamentos cujos alvos terapêuticos envolvem receptores androgênicos em pacientes portadores de CAPLAR. É importante destacar que estudos clínicos que utilizam terapia neoadjuvante proporcionam uma excelente oportunidade de acessar o tecido tumoral antes e após o tratamento, permitindo a avaliação biomarcadores com potencial prognóstico e / ou preditivo de resposta terapêutica.

Conforme descrito de forma pioneira por Huggins há mais de 80 anos, o CaP é uma doença dependente de andrógenos e a inibição da testosterona é

um elemento chave no controle do crescimento tumoral.⁴⁻⁵ A terapia de deprivação androgênica (TDA) em caráter neoadjuvante associada à prostatectomia radical (PR) foi previamente testada na década de 1990. Na época, os resultados não foram considerados suficientes para recomendar incorporação à prática clínica.²⁵⁻²⁸

Uma explicação plausível para essa falta de eficácia da TDA neoadjuvante na época é que a redução dos níveis teciduais de andrógenos tenha sido insuficiente.²⁹⁻³⁰ Evidências recentes apontam que o uso de tratamento medicamentoso intenso – denominado máxima inibição androgênica ou TDA intensa – antes da PR poderia elevar as chances de sucesso da cirurgia.³¹ Nesse sentido, novas drogas cujos alvos terapêuticos encontram-se no eixo dos receptores androgênicos, já incorporadas ao arsenal terapêutico do CaP metastático, vêm sendo testadas no CAPLAR de modo combinado em caráter neoadjuvante.

O acetato de abiraterona, um inibidor da enzima 17-alfa-hidroxilase, fornece um bloqueio mais efetivo quando associado ao acetato de goserrelina, um antagonista gonadotrópico (anti-LHRH). Essa combinação permitiria bloquear de modo eficaz todas as fontes endógenas de androgênios, inclusive testicular, adrenal, prostática e tumoral, proporcionando níveis de testosterona sérica inferiores a 1ng/dL.³⁰⁻³² Na maioria dos casos, o crescimento celular tumoral é fruto da sinalização androgênica continuada através de amplificação / ativação constitucional dos receptores associada ou não à síntese adaptativa intratumoral de andrógeno.³³⁻³⁶ O tratamento medicamentoso contendo acetato de abiraterona aumentou a sobrevida de pacientes com CaP metastático resistente à castração, confirmando a eficácia do bloqueio intensificado da via de sinalização androgênica naquele cenário.³⁷

Outros medicamentos de nova geração direcionados aos receptores androgênicos estão em fase inicial de investigação com resultados promissores. A apalutamida é um potente antagonista androgênico não-esteroidal de segunda geração. Seu mecanismo de ação envolve o bloqueio direto do receptor androgênico, impedindo seu transporte nuclear e, conseqüentemente, as fases efetoras intranucleares da via de sinalização

androgênica.³⁸ Possui a vantagem de não apresentar atividade agonista parcial, como a observada nos antagonistas de primeira geração (bicalutamida), e causar menor toxicidade, uma vez que atinge níveis terapêuticos com doses inferiores às de seus similares (enzalutamida).³⁸⁻⁴⁰

Baseados na eficácia observada em estudos clínicos randomizados, o acetato de abiraterona e a enzalutamida estão atualmente aprovados para o tratamento de pacientes portadores de CaP metastático resistente à castração.⁴¹⁻⁴⁴ Informações adicionais sobre outros fármacos dessa nova geração de inibidores androgênicos podem ser encontradas em uma recente revisão de Devos G e colaboradores.⁴⁵

1.3. Biomarcadores imuno-histoquímicos:

Na medida em que os princípios de tratamento do CAPLAR são colocados em teste pela aplicação de abordagens terapêuticas medicamentosas desde a fase pré-cirúrgica, mais relevante tem se tornado a busca por biomarcadores com potencial de auxiliar na tomada de decisão clínico-cirúrgica, seja antes ou depois do tratamento cirúrgico local.

Nesse sentido, novas propostas de estratificação de risco que incorporem parâmetros biomoleculares têm sido levantadas por diferentes grupos.⁴⁶⁻⁴⁷ Diversos biomarcadores imuno-histoquímicos com potencial significado prognóstico e/ou preditivo de resposta terapêutica foram considerados promissores em análises prévias recentes.⁴⁸⁻⁵⁰

Relacionamos abaixo os principais grupos de biomarcadores imuno-histoquímicos que realizaremos neste estudo.

1.3.1. Marcadores relacionados às vias de sinalização androgênica:

Considerando a reconhecida sensibilidade do CaP à terapia de deprivação androgênica no cenário adjuvante da doença metastática castração-sensível, a análise de biomarcadores relacionados a vias de

sinalização androgênica representa um eixo central de investigação para potenciais estratégias neoadjuvantes.

O receptor androgênico é codificado pelo gene **AR (Androgen Receptor)**, situado no braço longo do cromossomo X. Trata-se de um gene excepcionalmente longo, contendo mais de 90 kilobases de extensão, que apresenta três domínios funcionais principais: o domínio N-terminal, o domínio ligador de DNA e o domínio ligador de androgênio. A proteína AR funciona como um fator de transcrição ativado por hormônio esteroidal, ou seja, uma vez diante do ligante hormonal, o receptor se dissocia de suas proteínas acessórias e se transloca ao núcleo, dimerizando-se e estimulando a transcrição de genes responsivos ao androgênio. Eventual *splicing* alternativo resulta em múltiplas variantes transcricionais capazes de codificar diferentes isoformas protéicas. O ARV7 representa uma dessas isoformas e foi previamente considerado um biomarcador de resistência terapêutica no cenário metastático.⁵¹

Estudaremos a imunexpressão de receptores androgênicos nas células neoplásicas do CAPLAR através da imunomarcção de duas isoformas diferentes do receptor androgênico: a isoforma **AR N-terminal**, equivalente selvagem da proteína de interesse, e a isoforma **AR-V7**, produto de *splicing* alternativo previamente descrito na literatura.⁵¹

1.3.2. Marcadores relacionados a genes supressores tumorais:

Genes supressores tumorais representam um grande e heterogêneo grupo de genes envolvidos diretamente na proliferação celular através da regulação de etapas cruciais do ciclo celular. Em conjunto, eles compõem um dos grupos de genes mais comumente afetados no câncer humano. Pertencem a esse imenso conjunto os genes *p53*, *PTEN* e *NKX3.1*.

A proteína **PTEN (Phosphatase and Tensin-like Homolog)** é uma tirosino-fosfatase de ampla distribuição codificada por gene homônimo cuja ação, baseada na regulação dos níveis de trifosfato de fosfaditilinositol, resulta na inibição da via de sinalização intracelular AKT/PI3K/mTOR. Essa via de sinalização exerce importante papel na regulação de funções biológicas como crescimento celular, sobrevivência e migração.⁵⁰

O produto do gene **NKX3.1 (NK3 Transcription Factor Related, locus 1)** é um fator de transcrição que atua como regulador negativo do crescimento epitelial celular no tecido prostático. Seu mecanismo de ação transcripcional envolve preferencialmente a sequência 5'-TAAGT[AG]-3' do gene, promovendo repressão da função transcripcional. Acredita-se que seu papel supressor tumoral na carcinogênese prostática esteja relacionado a funções reguladoras inibitórias em etapas de crescimento e invasão tumoral.

Já o gene **TP53 (Tumor Protein 53)**, situado no braço curto do cromossomo 17, representa o protótipo dos genes supressores tumorais e codifica a proteína p53. Amplamente conhecida como guardiã do genoma humano, exerce papel fundamental na regulação do ciclo celular, no reparo do DNA, na apoptose e no envelhecimento celular. No que se refere ao câncer de próstata, a proteína p53 mostra-se alterada em uma fração significativa dos tumores desde a fase localizada da doença, sendo considerada por muitos especialistas como um marcador prognóstico importante.⁵⁰

1.3.3. Marcadores relacionados ao metabolismo glicolítico:

O **Receptor de Glicocorticóide (GlicoR)** pertence a uma superfamília de receptores protéicos nucleares altamente conservada ao longo da evolução que atua como um fator de transcrição dependente de ligante, mediando as ações biológicas efectoras de hormônios glicocorticóides.⁵³ De acordo com Efstathiou et cols, o GlicoR possui um potencial valor preditivo de resposta terapêutica, estando potencialmente associado a uma maior resistência ao tratamento neoadjuvante no contexto de CAPLAR.⁴⁸

1.3.4. Marcadores relacionados à família ETS de fatores de transcrição:

A família **ETS (Erythroblast Transformation Specific)** representa uma das mais extensas famílias de fatores de transcrição recorrentes em animais. Seus membros estão envolvidos em uma ampla variedade de funções biológicas, incluindo regulação do desenvolvimento e da diferenciação celular, do ciclo celular, da angiogênese e da inflamação.⁵⁴

Com frequência, os mecanismos de ativação oncogênica decorrentes de alterações patogênicas em membros dessa família envolvem translocação cromossômica. Diferentes tipos de malignidades sistêmicas exibem translocação de algum dos genes da família ETS, tais como o Sarcoma de Ewing (translocações em EWSR) e alguns tipos de leucemia aguda (translocação ETV6 / JAK2).

No câncer de próstata, evidências apontam que a prevalência de rearranjos envolvendo a família ETS varia de 30% a 80% em espécimes cirúrgicos de prostatectomia radical.⁵⁵

Nesse grupo, o anticorpo direcionado para a proteína **ERG** (*ETS-related proto-oncogene*) se destaca dentre os de maior relevância clínica. A proteína ERG fisiologicamente atua como reguladora transcricional através do recrutamento da histona metil-transferase SETDB1 e consequente modificação da estrutura local da cromatina, bloqueando determinados sítios codificantes. Quando em condição de rearranjo, atua como um proto-oncogene capaz de promover proliferação celular e crescimento tumoral.

1.3.5. Outros marcadores:

Alguns marcadores cujos genes estão relacionados a outras funções biológicas também serão estudados. Amplamente expresso ao longo das fases de divisão do ciclo celular, a proteína **Ki67** (*Proliferation Marker Protein Ki67*), codificada pelo gene **MKI67**, situado no braço longo do cromossomo 10, é um marcador de proliferação celular necessário para a divisão celular. Segundo Epstein et cols, o **Ki67** está entre os marcadores imuno-histoquímicos mais importantes no campo de predição prognóstica para o CaP.⁵⁰

Adicionalmente, diante da proposição exploratória do presente estudo em correlacionar os resultados imuno-histoquímicos com os resultados de exames de imagem por PET/RM PSMA/Ga68, acreditamos que a pesquisa do antígeno PSMA no tecido tumoral possa trazer informações reveladoras. O **PSMA** (*Prostate-Specific Membrane Antigen*) é uma proteína expressa na membrana citoplasmática de células epiteliais luminiais, sejam elas neoplásicas ou não. Estudos indicam que ela representa um potencial alvo terapêutico com emergente impacto assistencial⁵⁶.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

Avaliar resposta patológica e marcadores imuno-histoquímicos selecionados em indivíduos portadores de CaPLAR tratados com terapia anti-androgênica neoadjuvante (TDA-I) seguida de PR.

2.2. Objetivos secundários

(i) Descrever, comparar e discutir os resultados histopatológicos antes e depois do tratamento.

(ii) Correlacionar os resultados histopatológicos e imuno-histoquímicos com os resultados de eficácia terapêutica, tais como resposta patológica e recorrência bioquímica.

(iii) Comparar os desfechos clínico-patológicos da coorte experimental com os de uma coorte concorrente tratada com RP exclusiva.

2.3. Hipóteses

(H^o) A análise imuno-histoquímica pré-tratamento em biópsia de próstata por agulha de pacientes portadores de CaPLAR apresenta valor na predição da resposta terapêutica.

(H¹) A análise imuno-histoquímica pré-tratamento em biópsia de próstata por agulha de pacientes portadores de CaPLAR não apresenta na predição da resposta terapêutica.

3. METODOLOGIA

3.1. Visão geral do ensaio clínico PCR2044

O protocolo de pesquisa PCR2044 consiste de um estudo prospectivo de fase clínica com ampla interface multidisciplinar cujos resultados foram analisados em quatro eixos principais: clínico, cirúrgico, radiológico e translacional.

Trata-se de um ensaio clínico randomizado, fase 2, conduzido em instituição única (Instituto do Câncer do Estado de São Paulo - ICESP), intitulado ***Estudo de Fase 2 Randomizado de Tratamento Neoadjuvante com Terapia de Deprivação Androgênica e Acetato de Abiraterona Associado ou Não a Apalutamida em Pacientes com Câncer de Próstata Localizado de Alto Risco Candidatos à Prostatectomia Radical*** e realizado com a participação colaborativa e integrada das Disciplinas de Urologia, Oncologia Clínica, Patologia e Radiologia / Medicina Nuclear.

A fase clínica é voltada primordialmente para a análise comparativa de eficácia e segurança de duas modalidades de terapia medicamentosa neoadjuvante em indivíduos portadores de câncer de próstata de alto risco elegíveis à prostatectomia radical. Uma coorte concorrente sem neoadjuvância (prostatectomia *upfront*) composta por indivíduos elegíveis porém não dispostos a participar do estudo foi também acompanhada.

Esta tese de doutorado representa o eixo de resultados anatomopatológicos do eixo translacional do estudo. O parâmetro principal para avaliação da eficácia terapêutica foi a verificação histológica de resposta patológica satisfatória em espécimes cirúrgicos de prostatectomia radical. Essa avaliação, em conjunto com a análise de marcadores imunohistoquímicos pré-tratamento, foi realizada pelo médico patologista e pesquisador executante desta tese (Leonardo Cardili).

3.1.1. Determinação do tamanho amostral

Considerando os resultados de literatura que indicam ser 10% a taxa de resposta satisfatória com uso de abiraterona associado ao análogo de LHRH no cenário neoadjuvante, seria promissor alcançar uma taxa de 40% com a combinação da apalutamida à abiraterona-gosserrelina. Assim, para identificar um aumento de 30% na taxa de resposta com um poder de 80% (beta 0.20), o ensaio clínico PCR2044 precisaria avaliar aproximadamente 64 pacientes randomizados à razão de 1:1 para ambos os braços, assumindo um erro alfa bicaudal de 0,05.

3.1.2. Fases do ensaio clínico PCR2044

O desenho geral do ensaio clínico em questão foi composto pelas seguintes fases (ver **figura 1**):

(1) Fase de rastreamento:

Nessa etapa preambular, que se estendeu desde o recrutamento do potencial participante de pesquisa até a fase de randomização, foram realizadas a verificação dos critérios de elegibilidade, o cumprimento das exigências éticas e a documentação dos parâmetros iniciais da população amostral.

Terminado o rastreamento, obtivemos a inclusão de sessenta e cinco indivíduos de pesquisa. Porém, somente sessenta e dois participantes atingiram a fase cirúrgica do estudo. Portanto, trabalharemos com essa casuística ao longo da análise da maior parte dos resultados patológicos e oncológicos. A **figura 2** demonstra o momento e o motivo de cada paciente censurado.

Vale ressaltar ainda que todos os indivíduos participantes foram recrutados no ICESP entre o quarto trimestre de 2018 e o segundo trimestre de 2021.

(2) Fase de randomização:

Após o aval do investigador clínico, os indivíduos foram randomizados para os braços de terapia medicamentosa na proporção de 1:1. A randomização foi realizada através da técnica de permuta, com escolha aleatória para permitir uma equilibrada distribuição de pacientes entre os grupos. Não foi permitido cruzamento após a randomização. O gerenciamento da lista de randomização foi coordenado pela equipe do Núcleo de Pesquisa Clínica do ICESP.

(3) Fase de terapia medicamentosa:

O tratamento medicamentoso teve início no primeiro dia do primeiro ciclo de farmacoterapia neoadjuvante e durou até o vigésimo oitavo dia do terceiro ciclo ou a interrupção da terapia por outro motivo (toxicidade, abandono ou retirada do consentimento).

No braço A (com Apalutamida), os indivíduos receberam três ciclos de 28 dias cada das seguintes medicações:

- Apalutamida, 240 mg, 1x/dia;
- Abiraterona 1 g/dia, 1x/dia;
- Prednisona 5 mg/dia, 1x/dia;
- Gosserelina 10,8 mg, dose única.

No braço B (sem Apalutamida), os indivíduos receberam três ciclos de 28 dias cada das seguintes medicações:

- Abiraterona 1 g/dia, 1x/dia;
- Prednisona 5 mg/dia, 1x/dia;
- Gosserelina 10,8 mg, dose única.

As consultas foram calculadas a partir do início do tratamento medicamentoso. Durante essa fase, os investigadores clínicos revisaram todos os dados clínicos, laboratoriais e imagem, tendo usado essas

informações para tomarem decisões clínicas sobre a modificação de dose e/ou a interrupção da terapia. Os resultados clínicos e comparativos dos braços medicamentosos serão objeto de outro projeto de pesquisa (Investigador da Oncologia Clínica: Diogo Assed Bastos).

Antes do início e logo após o final da terapia medicamentosa, os pacientes foram submetidos a exame de Medicina Nuclear (PET/RM com PSMA-Ga68) para avaliação da resposta radiológica da terapia neoadjuvante. Os resultados radiológicos desse eixo de investigação serão objeto de estudo de outro projeto de pesquisa (Investigador da Radiologia / Medicina Nuclear: Felipe de Galiza).

(4) Fase de tratamento cirúrgico:

A etapa cirúrgica do estudo ficou sob os cuidados da equipe de Uro-Oncologia do ICESP. O protocolo preconizou a realização da prostatectomia radical preferencialmente no intervalo de 30 ± 7 dias após o fim da terapia farmacológica. Os resultados cirúrgicos / perioperatórios desse eixo serão objeto de outro projeto de pesquisa (Investigador da Urologia: Eder Ilario).

(5) Fase de seguimento:

Após a etapa de tratamento cirúrgico, os pacientes foram monitorados em consultas médicas a cada quatro meses no primeiro ano de seguimento (dentro do protocolo) e anualmente após esse período (a critério clínico da equipe institucional) até a morte, a perda do seguimento ou a retirada do consentimento. Informações a respeito de sobrevida e outras abordagens terapêuticas foram devidamente registradas. Efeitos adversos e eventos inesperados foram documentados de forma sistemática pelo investigador clínico do estudo e sua equipe, tendo sido devidamente reportados ao centro coordenador e aos patrocinadores.

Para maiores informações sobre o eixo clínico do ensaio PCR2044, recomendamos a leitura do protocolo de pesquisa clínica registrado no ICESP sob o código NP 779/15, versão 6.3, referenciado no Anexo C desta tese.

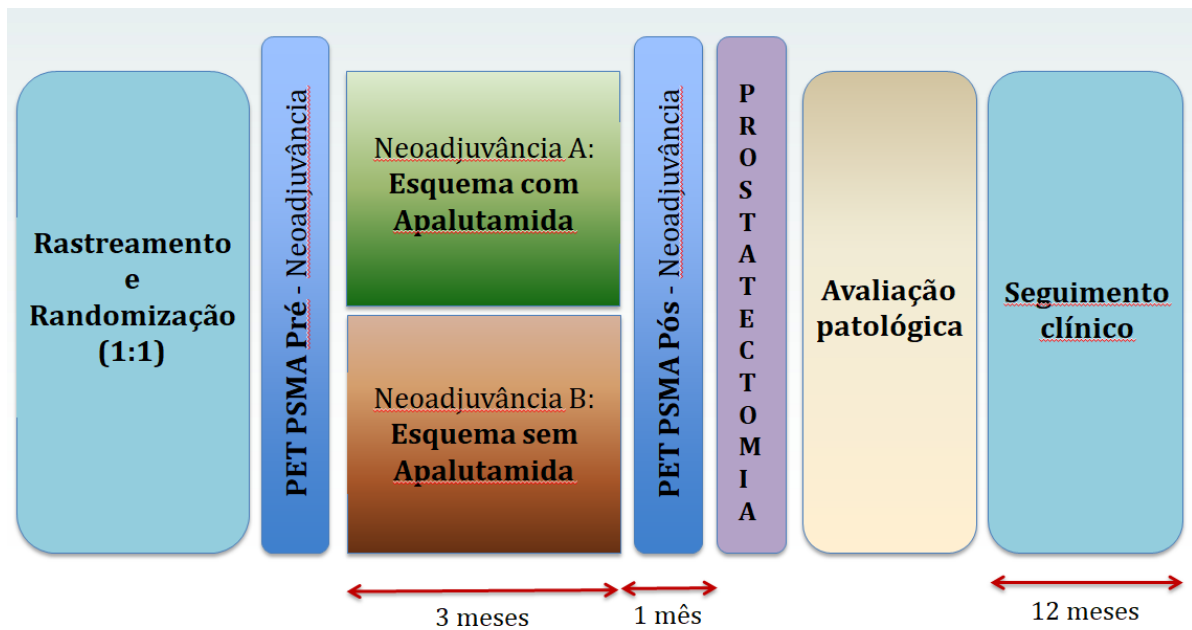


Figura 1. Esquema geral ilustrando as etapas do ensaio clínico PCR2044.

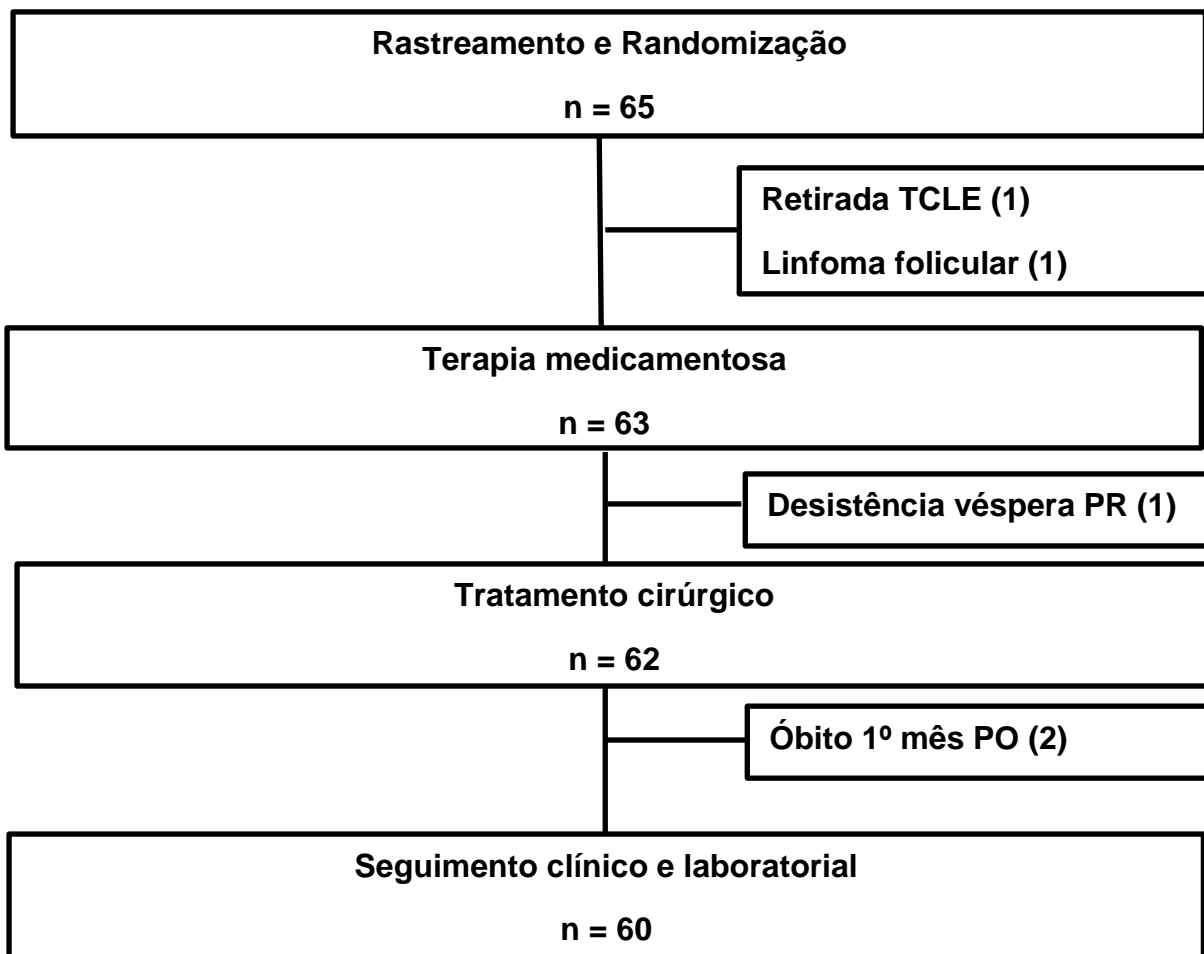


Figura 2. Diagrama mostrando as perdas de indivíduos nas diferentes etapas do estudo.

3.1.3. Critérios clínicos de inclusão:

Os potenciais candidatos deveriam preencher todos os seguintes critérios para participar do estudo:

- Ter vontade de participar e capacidade intelectual para fornecer o consentimento por escrito;
- Sexo masculino com idade entre 18 anos e 80 anos;
- Ter indicação de se submeter a uma prostatectomia radical como parte do seu plano terapêutico;
- Apresentar câncer de próstata de alto risco, definido como:
 - Estádio clínico T3 e/ ou
 - Escore de Gleason no tumor primário ≥ 8 e/ ou
 - PSA ≥ 20 ng/mL
- Material de biópsia de próstata por agulha disponível para revisão confirmatória histológica;
- Nível de testosterona equivalente a não castrado (>150 ng/dL);
- Funções hematológica, renal e hepáticas dentro da normalidade:
 - Hemoglobina 9,0 g/dL independente de transfusão;
 - Neutrófilos $1,5 \times 10^9$ /L;
 - Plaquetas 100×10^9 /L;
 - Bilirrubina total 1,5XLSN (exceto para indivíduos com documentada doença de Gilbert que pode apresentar bilirrubina direta de até 1,5XLSN);
 - Alanina e Aspartato aminotransferase 2,5XLSN;
 - Creatina sérica $<2,0 \times$ ou *clearance* de creatinina calculado 50ml/min;
 - Potássio sérico 3,5 mM;
 - Albumina sérica 3,0 g/dL;
- Índice de *performance status* de Karnofsky $\geq 80\%$;
- Habilidade para deglutir as medicações do estudo;
- Concordar em utilizar preservativo e outro método efetivo de controle de natalidade caso mantenha relações sexuais com mulher em idade fértil ou gestante.

3.1.4. Critérios clínicos de exclusão:

Foram excluídos os candidatos que apresentaram qualquer um dos seguintes critérios:

- Infecção ativa ou outra condição médica que possa tornar o uso de prednisona contraindicado;
- Ser portador de qualquer condição médica crônica que necessite de altas doses de corticosteroide sistêmico (acima de 10mg de prednisona / dia);
- Achados patológicos consistentes com carcinoma de pequenas células ou outras variantes que não sejam o adenocarcinoma acinar da próstata;
- Evidência de doença metastática (M1) por estudos de imagem;
- História de um segundo tumor maligno, com exceção do câncer de pele não-melanoma;
- Distúrbio psiquiátrico grave, que impossibilite o paciente a compreender os potenciais riscos e benefícios do estudo e aderir ao uso de medicações do estudo;
- Expectativa de vida estimada em menos de 5 anos pela análise do médico assistente;
- Disfunção gastrointestinal que afete a absorção;
- Infecção ativa (ex: HIV ou hepatite viral) ou qualquer outra condição médica que tornaria o uso de prednisona/prednisolona (corticosteroide) contraindicado;
- Alergia, hipersensibilidade ou intolerância conhecidas ao acetato de abiraterona ou a apalutamida ou seus excipientes;
- Intenção de se tornar pai durante a participação no estudo ou em até 3 meses após a última dose do fármaco em estudo;
- Tratamento com inibidores da 5- α -redutase (finasterida, dutasterida), estrogênios, ciproterona dentro de 4 semanas da randomização;
- Terapia hormonal, radioterápica, cirúrgica ou quimioterápica atual ou prévio para CaP;

- Hipertensão não-controlada (pressão arterial sistólica ≥ 160 mmHg ou diastólica ≥ 95 mmHg). Indivíduos com história de hipertensão são permitidos receber tratamento anti-hipertensivo para controle da hipertensão arterial;
- Hepatite ativa ou sintomática ou doença hepática crônica, ascite ou distúrbio de coagulação secundário a disfunção hepática;
- História de disfunção adrenal;
- Doença cardíaca clinicamente significativa como evidenciada por infarto do miocárdio, eventos trombóticos ou história de insuficiência cardíaca nos últimos 6 meses, angina instável ou severa, ou insuficiência cardíaca classe II-IV;
- Fibrilação atrial ou outra arritmia cardíaca que necessite de terapia farmacológica;
- Contra-indicações ao PET/RM (Ex.: alergia a Gadolínio, marca-passo cardíaco, claustrofobia etc);
- Administração de uma dose terapêutica investigacional ou procedimento cirúrgico invasivo dentro dos 28 dias do ciclo 1 ou atualmente recrutado de um outro estudo investigacional;
- Qualquer condição ou situação que, na opinião do investigador principal da etapa clínica do estudo (Diogo Assed Bastos), possa colocar o paciente em risco, confundir os resultados do estudo ou interferir na participação do indivíduo no estudo.

3.2. Eixo translacional

Este estudo se insere no eixo translacional do projeto PCR2044 e abrange análises histopatológicas e imuno-histoquímicas dos espécimes cirúrgicos referentes ao CAPLAR dos indivíduos de pesquisa. Tais espécimes incluem as biópsias de próstata por agulha (pré-tratamento) e o produto de PR com linfadenectomia pélvica estendida (pós-tratamento).

É importante ressaltar que em nossa análise enfocamos os efeitos de resposta patológica e seus respectivos biomarcadores referentes à totalidade

do conjunto amostral, em detrimento do diferencial entre os braços clínicos do projeto PCR2044. Devemos lembrar também que a TDAi com intuito neoadjuvante foi realizado em caráter experimental e não faz parte dos atuais protocolos terapêuticos do CAPLAR, centrados na cirurgia ou na radioterapia.

3.2.1. Avaliação macroscópica

Todos os pacientes que atingiram a etapa cirúrgica do estudo foram submetidos à prostatectomia radical com linfadenectomia pélvica estendida no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP) pela equipe da Urologia.

Uma vez ressecados, os espécimes cirúrgicos foram imediatamente fixados em solução de formaldeído tamponado (concentração 10%). Após intervalo de fixação entre 24h a 72h, o protocolo de macroscopia foi realizado diretamente ou indiretamente (sob supervisão) do pesquisador executante (Leonardo Cardili).

Seguem abaixo as etapas sequenciais de avaliação macroscópica do espécime de prostatectomia radical. A **figura 3** ilustra a execução do procedimento macroscópico descrito.

1º passo. Orientação anatômica do espécime cirúrgico.

2º passo. Aferição sistemática das medidas da próstata ao longo dos eixos crânio-caudal, látero-lateral e ântero-posterior.

3º passo. Aferição das medidas das vesículas seminais e ductos deferentes.

4º passo. Avaliação de hipertrofia de lobo médio (se presente).

5º passo. Identificação de lateralidade através da pintura das superfícies dos lobos prostáticos com cores diferentes.

6º passo. Amputação em bloco dos anexos prostáticos através de corte único rente ao parênquima prostático.

7º passo. Aferição do peso da próstata.

8º passo. Representação das margens vesical e uretral.

9º passo. Posicionamento da face posterior da próstata junto à bancada, com o ápice direcionado para a mão dominante do macroscopista.

10º passo. Realização de cortes transversais sequenciais a partir do ápice prostático, de modo que a primeira fatia apical seja denominada fatia nº1, e assim numerando progressivamente até a última fatia basal.

11º passo. Disposição das fatias na bancada de modo sequencial com exposição da superfície de corte ao macroscopista.

12º passo. Clivagem das fatias de modo sistemático (quadrantes identificados no mapa de cassetes) e proporcional (número de cassetes por fatia proporcional ao tamanho da fatia).

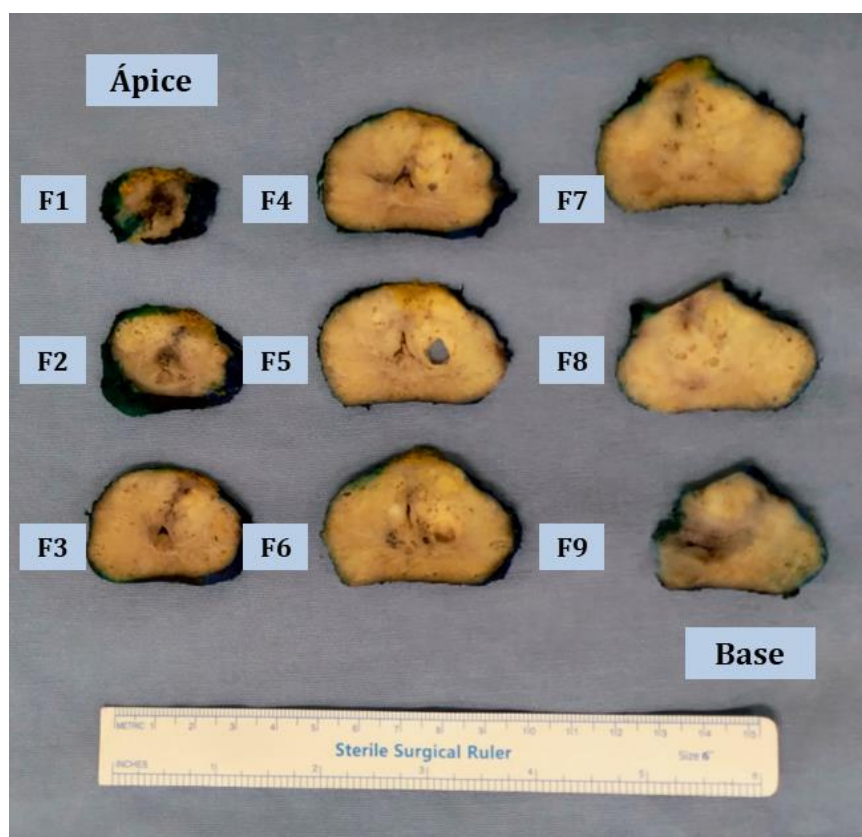


Figura 3. Foto de cortes macroscópicos seriados do parênquima prostático ilustrando a sistematização da amostragem de fatias do ápice (fatia 1 – F1) em direção à base (fatia 9 – F9).

Todo o parênquima prostático foi histologicamente representado em todos os casos deste estudo.

Com relação aos espécimes de linfadenectomia, esses foram rotulados conforme designação prévia e dissecados manualmente com identificação e descrição das estruturas nodulares encontradas. O tecido adiposo remanescente de cada cadeia linfonodal também foi representado

histologicamente a fim de otimizar a detecção de linfonodos microscópicos, ou seja, aqueles com tamanho inferior a 0,2 cm.

3.2.2. Processamento histológico

Após a clivagem, os cassetes foram encaminhados para o laboratório histotécnico em solução de formaldeído tamponado (concentração 10%) para realização de protocolo de processamento histológico automatizado. Procedeu-se com as etapas de desidratação e parafinização através de soluções progressivamente mais concentradas de etanol, xileno e parafina purificada. Após a parafinização, o material foi incluído em parafina. Uma vez formado o bloco, seguiu-se com a microtomia através da realização de cortes histológicos de aproximadamente 4 microns de espessura. Em seguida, desparafinização dos cortes histológicos em estufa aquecida a 95 graus Celsius e passagem sequencial por soluções progressivas de etanol e xileno. Realizada coloração com Hematoxilina e Eosina conforme protocolo de rotina do laboratório ICESP. Enfim, as lâminas foram diafanizadas, montadas e rotuladas.

3.2.3. Análise histopatológica

A avaliação dos parâmetros histopatológicos foi realizada pelo médico patologista e pesquisador executante deste projeto (Leonardo Cardili) através de microscópio óptico comum.

3.2.3.1. Biópsias de próstata por agulha (variáveis pré-tratamento)

As amostras de biópsia por agulha foram coletadas externamente em diferentes laboratórios. Todas essas amostras foram revisadas no ICESP e os dados coletados prospectivamente.

As variáveis de interesse na biópsia por agulha foram as seguintes:

(I) Grau histológico

Utilizamos o sistema de graduação histológica de Gleason para determinação do grau histológico do adenocarcinoma acinar usual da próstata de cada participante na fase pré-tratamento do estudo.

A fim de otimizar a categorização estatística, os grupos prognósticos da Sociedade Internacional de Urologia (ISUP *grade groups*), derivados do escore de Gleason, foram aplicados.⁵⁷ Os grupos prognósticos preconizados pela ISUP agrupam os diferentes escores de Gleason da seguinte forma:

- ISUP grupo 1: Gleason 6 (3 + 3)
- ISUP grupo 2: Gleason 7 (3 + 4)
- ISUP grupo 3: Gleason 7 (4 + 3)
- ISUP grupo 4: Gleason 8
- ISUP grupo 5: Gleason 9 ou 10

(II) Carga tumoral inicial

Avaliamos a carga tumoral por amostra, ou seja, bloco com designação topográfica indicada, independentemente do número de fragmentos. Categorizamos de modo dicotômico em doença extensa, definida como mais da metade do número de blocos com comprometimento parcial ou total, ou doença limitada / não-extensa, definida como menos da metade do número de blocos com comprometimento parcial ou total. Optamos por avaliar a carga tumoral de modo generalista devido à ampla variação de protocolos de amostragem executados previamente nos serviços externos.

(III) Invasão perineural

A análise da presença de invasão perineural nas biópsias também foi realizada de modo categórico dicotômico em função da presença ou não desse parâmetro.

3.2.3.2. Peças cirúrgicas (variáveis pós-tratamento):

As variáveis histológicas de interesse na peça cirúrgica foram as seguintes:

(I) Carga tumoral residual (RCB)

O índice de carga tumoral residual (*Residual Cancer Burden* – RCB) é um parâmetro quantitativo que reflete o volume tumoral residual no espécime cirúrgico após a terapia neoadjuvante, sendo expresso em centímetros cúbicos (cm³).

O cálculo do RCB é obtido a partir do produto do volume estimado do maior foco de leito cicatricial pela celularidade tumoral residual nesse respectivo leito. Definimos a celularidade como a proporção de células tumorais morfológicamente viáveis dentro do leito tumoral residual. Portanto, esse índice busca ponderar não só as dimensões do tumor residual, mas também a sua composição, refletindo a proporção de células neoplásicas ainda viáveis em meio às alterações regressivas próprias de um leito tumoral pós-tratamento.

O volume do maior foco de tumor residual é estimado a partir da identificação histológica da maior dimensão linear cruzada. Uma vez identificada essa área, dimensionada em cm², verificamos em quantas fatias sequenciais ela está presente. Em seguida, verificamos a espessura média da fatia para determinado espécime através da divisão do valor da medida macroscópica crânio-caudal da próstata pelo número de fatias. Enfim, o volume tumoral residual será o produto da maior dimensão linear cruzada pela espessura média da fatia e pelo número de fatias sequenciais acometidas por tumor. A **figura 4** (na seção Resultados) ilustra a aferição da maior dimensão linear cruzada.

$$\text{RCB (cm}^3\text{)} = \text{Volume tumoral residual (cm}^3\text{)} \times \text{Celularidade (\%)}$$

Foi necessário estabelecer pontos de corte a fim de categorizar a resposta terapêutica em satisfatória ou insatisfatória. Para a maioria das análises, utilizamos os critérios preconizados por Taplin ME et cols³¹. De acordo com tais critérios, são considerados bons respondedores (resposta

satisfatória / doença residual mínima) os indivíduos que apresentaram no espécime cirúrgico índice RCB igual ou inferior a 0,25 cm³.

Porém, ampliamos a nossa análise em função das características próprias da nossa casuística. Para algumas variáveis, utilizamos um valor mais restritivo (0,15 cm³). Quando aplicável, o valor utilizado como ponto de corte de RCB estará indicado nas respectivas tabelas e quadros de resultados.

(III) **Estadiamento patológico**

O sistema de estadiamento patológico utilizado foi o sistema TNM aplicado conforme a oitava edição do manual de estadiamento de câncer da *American Joint Committee on Cancer*, oitava edição.⁵⁸

(IV) **Status de margem cirúrgica**

Avaliação categórica de margem cirúrgica nos espécimes de prostatectomia radical.

3.2.4. Imuno-histoquímica

As amostras selecionadas de biópsia de próstata por agulha foram submetidas à recuperação antigênica pelo calor utilizando tampão citrato (1 mM, pH 6,0) e aquecidas por 30 minutos em panela de pressão elétrica. As lâminas foram incubadas por uma noite a 4^o C, com os anticorpos monoclonais específicos. O sistema LSAB foi utilizado para a imunocoloração. Seguimos com contra-coloração pela hematoxilina de Harris. As lâminas foram então diafanizadas, montadas com lamínulas e analisadas em microscópio óptico comum.

As especificações técnicas de cada anticorpo e os parâmetros de bancada para cada reação imuno-histoquímica estão dispostos no **quadro 1**.

Em cada caso, as reações imuno-histoquímicas foram realizadas nas amostras pré-tratamento em bloco único. O bloco de interesse foi selecionado a partir do maior grau histológico (score de Gleason) e da maior carga tumoral.

As lâminas imuno-histoquímicas foram avaliadas pelo médico patologista e pesquisador executante deste em modo cego para os dados clínicos, cirúrgicos e radiológicos. Os controles de cada reação foram devidamente conferidos.

Quadro 1. Marcadores imuno-histoquímicos e suas respectivas especificações técnicas.

Anticorpo primário	Clone	Fabricante	Titulação	pH	Referência
AR-NT	AR441	DBS	1:200	9	Welti, 2016
AR-V7	EP343	RevMab	1:200	9	Welti, 2016
PTEN	D4.3XP	Cell Signalling	1:50	9	Spieker, 2021
ERG	EP111	Cell Marque	1:200	9	Hashmi, 2019
PSMA	3E6	Dako	RTU	9	Woythal, 2018
Glico-R	6E6	BD Biosciences	1:400	9	Efstathiou, 2015
NKX3.1	EP356	Cell Marque	1:200	9	Gan, 2019
p53	M7001	Dako	RTU	9	Epstein, 2014
Ki67	MIB-1	Dako	RTU	9	Efstathiou, 2015

Nota: RTU (*Ready to use*): Apresentação comercial pronta para uso.

No **quadro 2** podem ser encontrados os padrões de imunoexpressão considerados válidos na leitura imuno-histoquímica dos marcadores de interesse.

Quadro 2. Marcadores imuno-histoquímicos e seus respectivos padrões de imunoexpressão.

Anticorpo primário	Localização histológica	Método de leitura
AR-NT	Nuclear	Porcentagem de positividade
ARV7	Nuclear e citoplasmático	H escore
PTEN	Nuclear e citoplasmático	Porcentagem de positividade (Alterado se < 10% das células neoplásicas)
ERG	Nuclear	H escore
p53	Nuclear	Porcentagem de positividade
NKX3.1	Nuclear	H escore
Glico-R	Nuclear e citoplasmático	H escore
PSMA	Membranoso e citoplasmático	Porcentagem de positividade
Ki67	Nuclear	Porcentagem de positividade

3.3. Análise estatística

Os dados foram expressos em média e desvio padrão para a maioria das variáveis contínuas e em número absoluto e porcentagem para dados

categóricos. A análise comparativa de variável contínua entre grupos foi realizada utilizando o teste de Mann-Whitney. Para análise entre variáveis categóricas, utilizamos o teste exato de Fisher. Para análise entre variáveis contínuas, utilizamos o teste t de Student. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi realizado para verificação de normalidade, quando necessário. O teste de correlação linear de Pearson foi utilizado para avaliar a intensidade de associação entre variáveis contínuas. Métodos de análise multivariada (regressão binária) foram realizados nas situações aplicáveis. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3.4. Considerações éticas

Este projeto de pesquisa foi devidamente apreciado e aprovado pela Comissão de Ética para análise de projetos de pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo sob o nº5.027.663 (vide seção Anexos).

3.5. Financiamento

Este projeto de pesquisa foi parcialmente financiado (medicamentos e insumos de pesquisa) com recursos do setor de pesquisa e desenvolvimento da empresa Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda, representante local da *Janssen Research & Development, LLC*.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização clínico-patológica pré-tratamento

A síntese das principais características demográficas e clínico-patológicas iniciais (pré-tratamento) da população estudada está disposta na **tabela 1**.

Inicialmente, sessenta e cinco indivíduos foram incluídos no estudo. No decorrer da fase pré-cirúrgica, três indivíduos deixaram o estudo: dois antes do início da etapa de terapia medicamentosa (retirada de consentimento e descoberta incidental de linfoma folicular durante o estadiamento sistêmico, respectivamente) e outro às vésperas da cirurgia (desistiu da cirurgia após ter concluído a terapia neoadjuvante). Sendo assim, consideramos válidos somente os resultados referentes aos sessenta e dois pacientes que concluíram a etapa cirúrgica do estudo (vide **figura 2** na seção Metodologia).

Ao longo de trinta meses de tempo médio de seguimento, foram constatados dois óbitos dentre os indivíduos que alcançaram a fase cirúrgica do estudo. O indivíduo ID 12 faleceu em ambiente hospitalar (ICESP) por tromboembolismo pulmonar no 23º dia pós-operatório (*causa mortis* confirmada em autópsia). Já o indivíduo ID 49 teve uma morte súbita fora da instituição no 24º dia de pós-operatório (*causa mortis* não informada). Ambos os óbitos ocorreram no braço B do estudo (terapia medicamentosa sem apalutamida). Sendo assim, a análise de recidiva bioquímica contou com somente sessenta indivíduos.

Na coorte concorrente (prostatectomia direto), composta por 21 indivíduos elegíveis porém não dispostos a participar do estudo, houve um óbito intra-hospitalar no 29º dia pós-operatório (complicação respiratória devido a doença pulmonar obstrutiva crônica).

Tabela 1. Características demográficas e clínico-patológicas iniciais.

Parâmetros iniciais (pré-tratamento)	Resultado (n = 62)
Média etária (amplitude)	65 anos (48 - 78)
Categoria etária, n (%)	
<55 anos	4 (6,4)
entre 56 e 75 anos	55 (88,7)
>75 anos	3 (4,8)
Cor, n (%)	
Branco	23 (37,1)
Pardo	23 (37,1)
Negro	16 (25,8)
IMC, média (±DP)	28,7 kg/m ² (±4,4)
PSAi, média (amplitude)	26,7 ng/dL (3,1 – 148,0)
Grupo prognóstico ISUP, n (%)	
1	4 (6,4)
2	7 (11,2)
3	20 (32,2)
4	14 (22,5)
5	17 (27,4)
Invasão perineural, n (%)	
Presente	26 (42)
Ausente	36 (58)
Carga tumoral, n (%)	
Limitada (até 50% fragmentos positivos)	26 (42)
Extensa (>50% fragmentos amostrados)	36 (58)
Estadio clínico, n (%)	
cT2	21 (33,8)
cT3	40 (64,5)
cT4	1 (1,6)

4.2. Resultados histopatológicos pré-tratamento:

O conjunto de resultados histopatológicos obtidos a partir das biópsias por agulha está detalhado por indivíduo no **quadro 3**.

Quadro 3. Resultados histopatológicos (pré-tratamento) em biópsia de próstata por agulha por indivíduo de pesquisa.

ID	Grau histológico (Gleason)	Grupo ISUP	Carga tumoral	Invasão perineural
1	7 (3+4)	2	13+/18	Presente
2	7 (3+4)	2	11+/15	Não detectada
3	7 (4+3)	3	6+/6	Presente
4	6(3+3)	1	1+/6	Não detectada
5	8(4+4)	4	6+/6	Presente
6	9(4+5)	5	5+/6	Presente
7	8(4+4)	4	10+/12	Não detectada
8	9(4+5)	5	2+/6	Não detectada
9	8(4+4)	4	4+/12	Presente
10	9(4+5)	5	4+/6	Presente
11	8(4+4)	4	3+/6	Presente
12	10(5+5)	5	1+/12	Não detectada
13	7(3+4)	2	4+/12	Não detectada
14	7(4+3)	3	4+/6	Presente
15	8(4+4)	4	6+/6	Presente
16	8(4+4)	4	5+/12	Não detectada
17	10(5+5)	5	6+/6	Presente
18	7(4+3)	3	3+/12	Não detectada
19	9(4+5)	5	3+/12	Não detectada
20	6(3+3)	1	5+/6	Não detectada
21	7(4+3)	3	6+/12	Não detectada
22	8(4+4)	4	12+/12	Não detectada
23	8(4+4)	4	6+/12	Não detectada
24	9(4+5)	5	3+/6	Não detectada
25	8(4+4)	4	9+/12	Não detectada
26	9(4+5)	5	8+/12	Não detectada
27	9(4+5)	5	2+/6	Não detectada
28	9(4+5)	5	5+/12	Presente
29	9(5+4)	5	5+/6	Não detectada
30	7(4+3)	3	2+/12	Não detectada
31	7(4+3)	3	2+/6	Não detectada
32	9(4+5)	5	2+/6	Presente
33	7(4+3)	3	8+/12	Não detectada
34	8(4+4)	4	1+/6	Não detectada
35	7(4+3)	3	6+/12	Não detectada
36	7(4+3)	3	6+/6	Não detectada
37	7(4+3)	3	1+/8	Não detectada

38	8(4+4)	4	6+/12	Presente
39	9(4+5)	5	3+/6	Presente
40	7(4+3)	3	11+/12	Presente
41	8(4+4)	4	1+/12	Não detectada
42	7(4+3)	3	4+/6	Não detectada
43	7(4+3)	3	10+/12	Presente
44	7(4+3)	3	6+/6	Presente
45	7(4+3)	3	12+/12	Presente
46	7(4+3)	3	5+/6	Presente
47	9(4+5)	5	6+/6	Não detectada
48	7(4+3)	3	8+/12	Não detectada
49	7(3+4)	2	8+/12	Presente
50	7(4+3)	3	6+/6	Não detectada
51	7(3+4)	2	9+/12	Presente
52	7(3+4)	2	6+/12	Não detectada
53	8(4+4)	4	12+/12	Presente
54	9(4+5)	5	10+/12	Presente
55	7(3+4)	2	6+/6	Presente
56	9(4+5)	5	10+/13	Não detectada
57	7(4+3)	3	5+/13	Não detectada
58	8(4+4)	4	7+/12	Não detectada
59	9(4+5)	5	4+/6	Presente
60	7(4+3)	3	9+/12	Presente
61	6(3+3)	1	8+/15	Não detectada
62	6(3+3)	1	4+/12	Não detectada

4.3. Resultados histopatológicos pós-tratamento:

O detalhamento descritivo dos resultados referentes à resposta patológica no espécime cirúrgico por indivíduo de pesquisa assim como seus respectivos componentes formadores podem ser encontrados no **quadro 4**.

Quadro 4. Resultados histopatológicos (pós-tratamento) de avaliação da resposta patológica por indivíduo de pesquisa.

ID	Maior dimensão cruzada (cm)	Nº Fatias sequenciais	Espessura fatia (cm)	Celularidade residual (%)	RCB (cm ³)	pTNM
1	1,5 x 1,2	3	0,35	30	0,567	ypT2 ypN0
2	2,5 x 1,7	8	0,36	10	1,224	ypT2 ypN0
3	1,7 x 0,5	1	0,57	40	0,193	ypT2+ ypN0
4	0,2 x 0,1	1	0,45	5	0	ypT2 ypN0
5	1,7 x 0,7	3	0,40	25	0,357	ypT3a ypN0
6	2,5 x 1,9	6	0,48	10	1,368	ypT3a ypN0

7	1,3 x 0,9	6	0,40	20	0,561	ypT2 ypN0
8	1,3 x 0,5	3	0,40	40	0,312	ypT3a+ ypN0
9	2,2 X 1,1	8	0,39	40	3,020	ypT3a ypN1
10	2,6 x 0,6	7	0,57	80	4,979	ypT3b+ ypN1 ypM1a
11	1,7 x 0,9	6	0,45	60	2,478	ypT2 ypN1
12	2,0 x 1,1	5	0,39	70	3,003	ypT3a ypN0
13	0,7 x 0,3	2	0,44	30	0,055	ypT2 ypN0
14	2,8 x 0,8	8	0,35	70	4,390	ypT3a+ ypN1
15	1,7 x 0,8	7	0,41	30	1,170	ypT3b ypN0
16	0,6 x 0,4	2	0,48	10	0,023	ypT2 ypN0
17	2,0 x 1,9	4	0,40	30	1,824	ypT3b ypN1
18	0,7 x 0,3	2	0,48	20	0,040	ypT2 ypN0
19	0,9 x 0,6	4	0,32	10	0,069	ypT2 ypN0
20	3,1 x 1,3	7	0,50	40	5,642	ypT2 ypN0
21	2,0 x 0,5	7	0,33	25	0,577	ypT2 ypN0
22	1,7 x 0,9	7	0,44	30	1,413	ypT3b ypN0
23	0,6 x 0,5	2	0,41	10	0,024	ypT3a ypN0
24	0	0	0	0	0	ypT0 ypN0
25	1,1 x 0,7	5	0,31	30	0,358	ypT2 ypN0
26	1,9 x 0,8	7	0,35	70	2,606	ypT3a+ ypN1
27	2,6 x 1,2	7	0,44	50	4,804	ypT3b+ ypN1
28	1,0 x 0,3	3	0,46	5	0,020	ypT2 ypN0
29	3,0 x 2,1	7	0,35	40	6,174	ypT3b+ ypN1
30	1,2 x 0,6	3	0,35	30	0,226	ypT2 ypN0
31	1,1 x 0,8	4	0,34	40	0,478	ypT3a ypN0
32	2,3 x 0,6	5	0,41	20	0,565	ypT3b ypN0
33	3,2 x 1,8	7	0,50	70	14,112	ypT3b+ypN0
34	1,1 x 0,5	8	0,23	30	0,303	ypT3a ypN0
35	1,4 x 1,2	9	0,28	15	0,635	ypT3a ypN0
36	1,8 x 0,8	7	0,38	70	2,681	ypT3b+ ypN0
37	2,5 x 0,9	7	0,35	50	2,756	ypT3a+ ypN1
38	1,2 x 0,5	6	0,50	40	0,720	ypT3b ypN0
39	1,2 x 1,0	4	0,45	40	0,864	ypT3a ypN0
40	2,2 x 2,0	8	0,43	60	9,081	ypT3b ypN0
41	0,5 x 0,3	2	0,40	5	0,006	ypT2 ypN0
42	2,5 x 2,1	8	0,48	40	8,064	ypT2+ ypN0
43	2,8 x 1,2	8	0,37	60	5,967	ypT3b ypN1
44	3,0 x 2,1	12	0,30	40	9,072	ypT3a+ ypN0
45	2,1 x 1,9	9	0,42	30	4,524	ypT3a+ ypN1
46	3,2 x 0,7	7	0,41	30	1,928	ypT3b+ ypN0
47	0,8 x 0,3	3	0,36	5	0,012	ypT2 ypN0
48	1,5 x 0,5	12	0,30	20	0,540	ypT3b ypN0
49	1,8 x 1,0	10	0,25	40	1,800	ypT3b+ ypN0
50	3,3 x 1,2	12	0,27	70	8,981	ypT3b+ ypN0
51	2,5 x 2,2	9	0,27	50	6,682	ypT3a ypN0
52	1,8 x 0,7	8	0,33	20	0,665	ypT3b ypN0

53	2,7 x 1,2	7	0,42	25	2,381	ypT3b ypN0
54	2,5 x 1,2	6	0,44	30	2,376	ypT3a ypN0
55	3,1 x 3,0	7	0,48	80	24,998	ypT3b+ ypN1
56	1,8 x 1,6	6	0,40	25	1,728	ypT3a+ ypN0
57	0,9 x 0,8	4	0,45	10	0,129	ypT2 ypN0
58	1,0 X 0,7	6	0,42	10	0,176	ypT3a ypN0
59	2,6 x 1,5	8	0,32	70	11,648	ypT3b ypN1
60	3,2 x 2,0	9	0,34	70	13,708	ypT3b+ ypN0
61	1,8 X 1,6	7	0,38	30	2,298	ypT2 ypN0
62	0,8 x 0,6	6	0,37	30	0,319	ypT3a ypN0

A RCB distribuiu-se de forma irregular (não-normal) e exibiu ampla variação, inclusive com alguns valores extremos (*outliers*). Enquanto a média foi de 1,296 cm³, o primeiro intervalo interquartil foi de 0,313 cm³ e o terceiro intervalo interquartil foi ligeiramente superior a 4,0 cm³. O **gráfico 1** demonstra a distribuição dos valores de RCB.

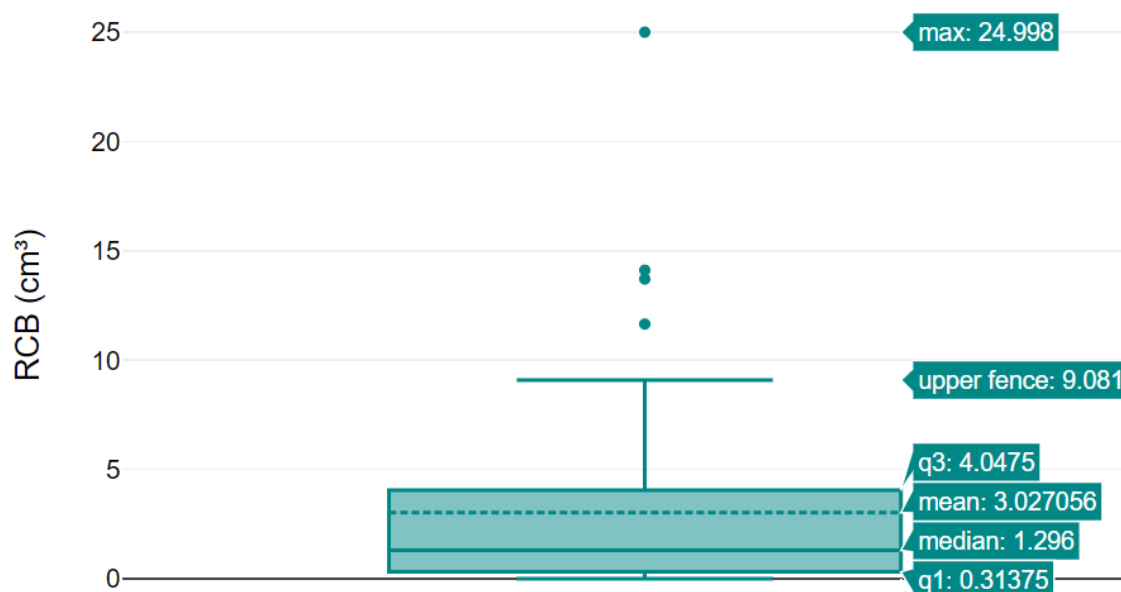


Gráfico 1. Diagrama de caixa (*boxplot*) demonstrando a distribuição dos valores de RCB.

Em seguida, a fim de documentar os aspectos morfológicos do estudo, selecionamos algumas fotomicrografias ilustrativas do leito tumoral com diferentes intensidades de resposta patológica (**figuras 3, 4, 5 e 6**).

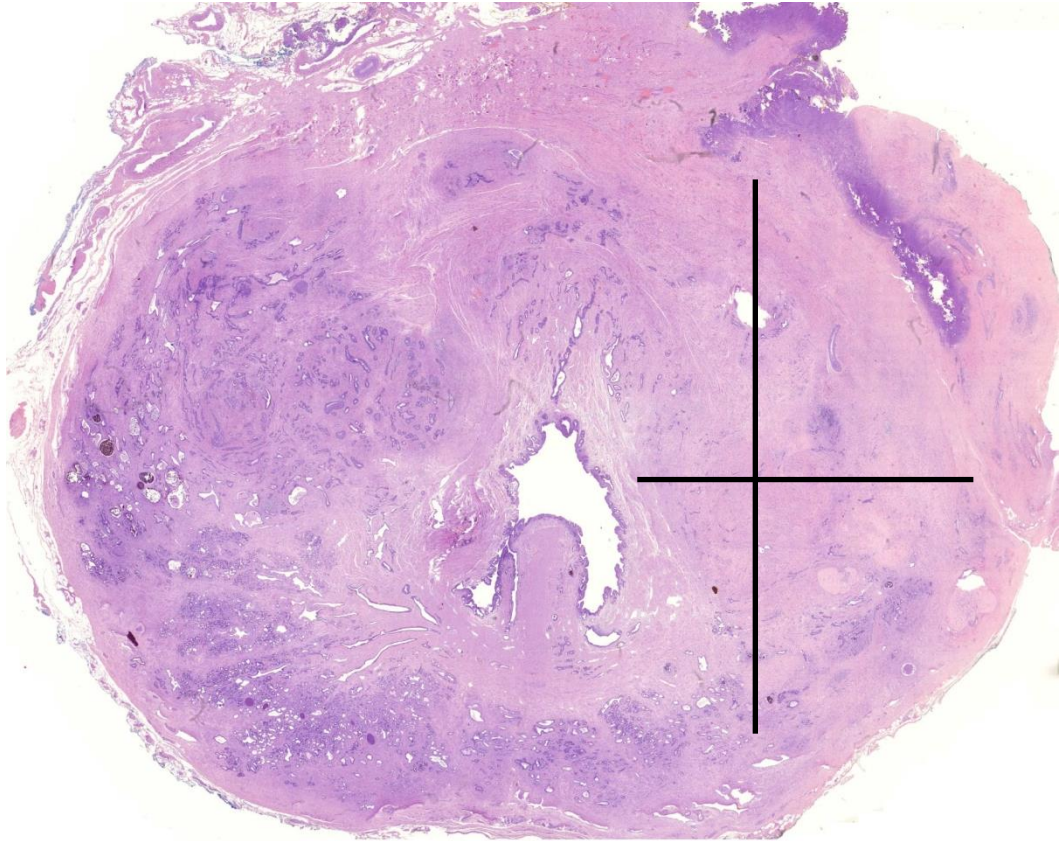


Figura 4. Caso 30. Vista panorâmica do leito tumoral com indicação da maior dimensão linear cruzada. HE, 40x.

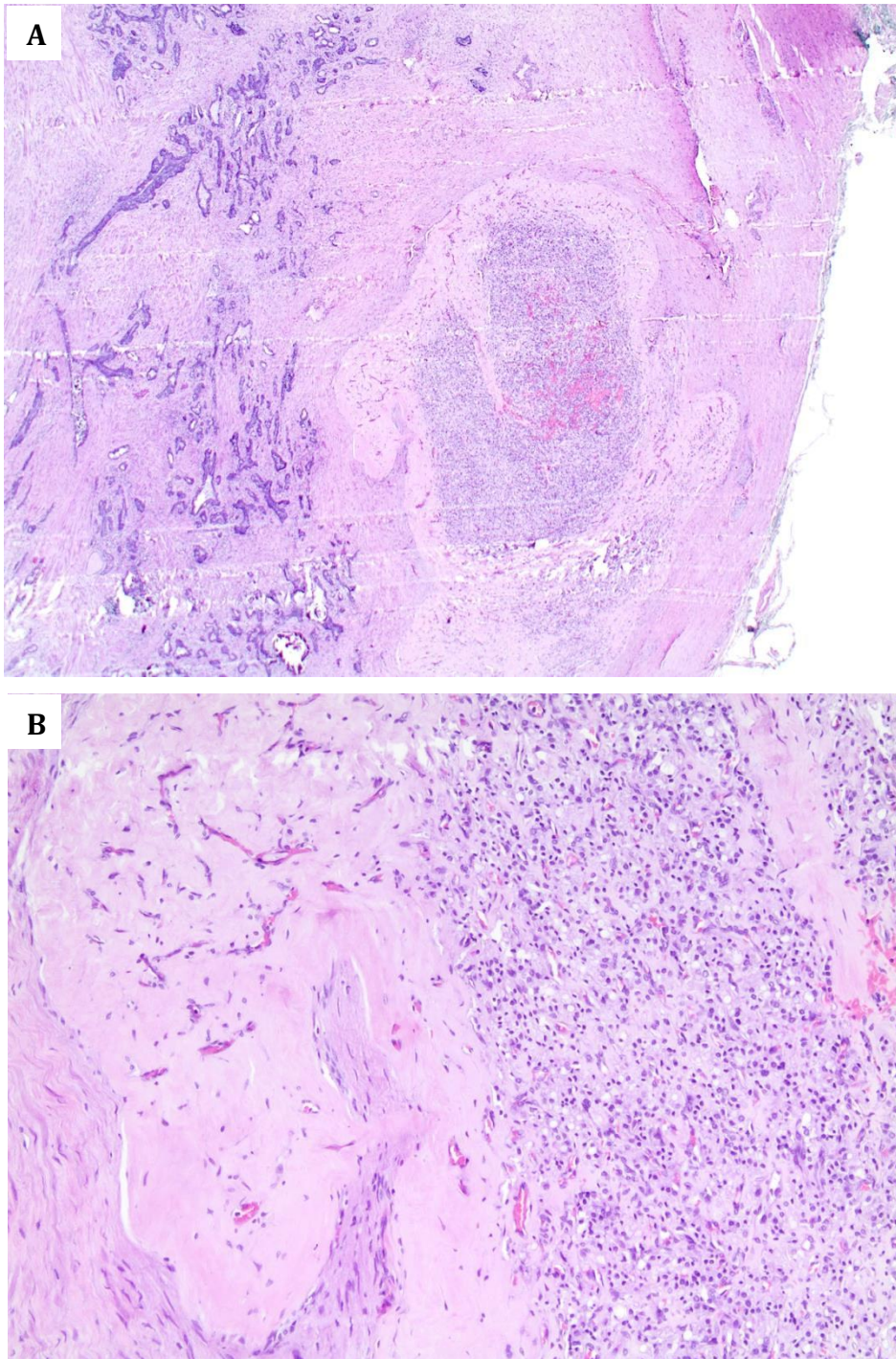


Figura 5. Caso 30. **(A)** Leito tumoral heterogêneo contendo foco residual de tumor viável com elevada celularidade. HE, 40x. **(B)** Detalhe da imagem anterior ressaltando o contraste entre o tumor residual (direita) e uma área de regressão (esquerda). HE, 200x.

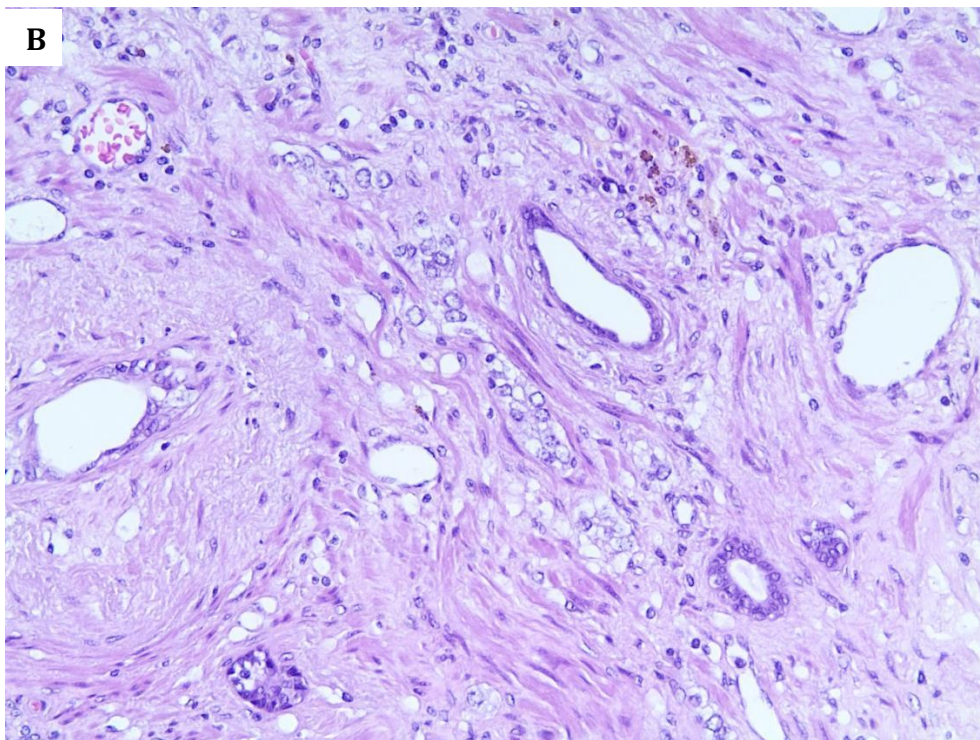
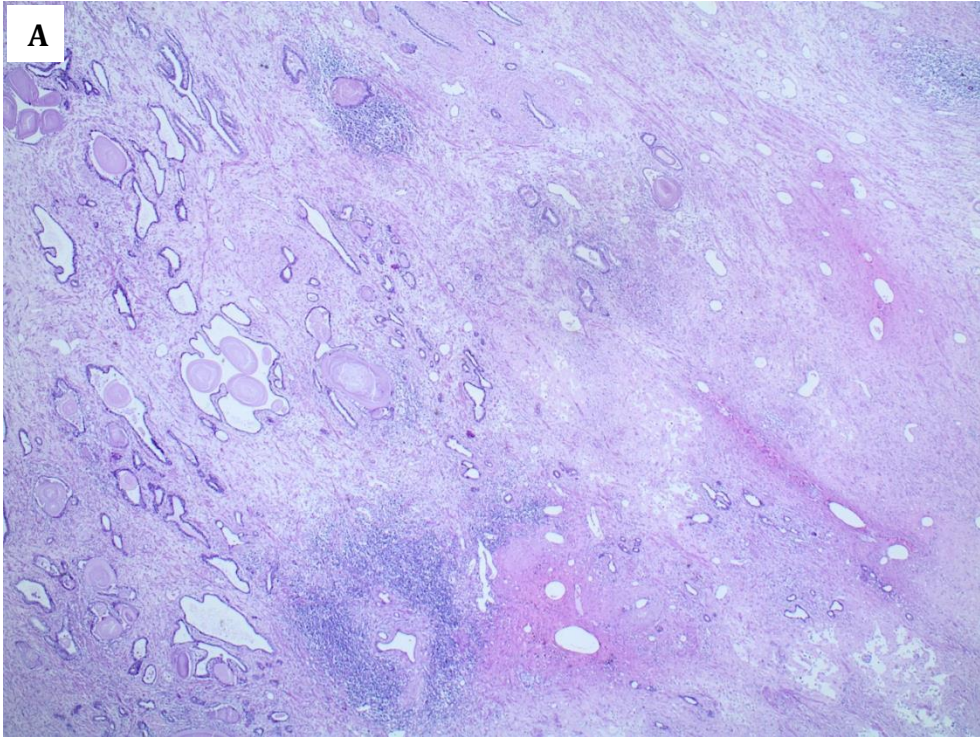


Figura 6. Caso 19. **(A)** Transição do leito tumoral paucicelular homogêneo (direita) com o parênquima prostático não-tumoral adjacente (esquerda). HE, 20x. **(B)** Escassas células tumorais residuais em meio a leito tumoral com alterações de efeito terapêutico. HE, 200x.

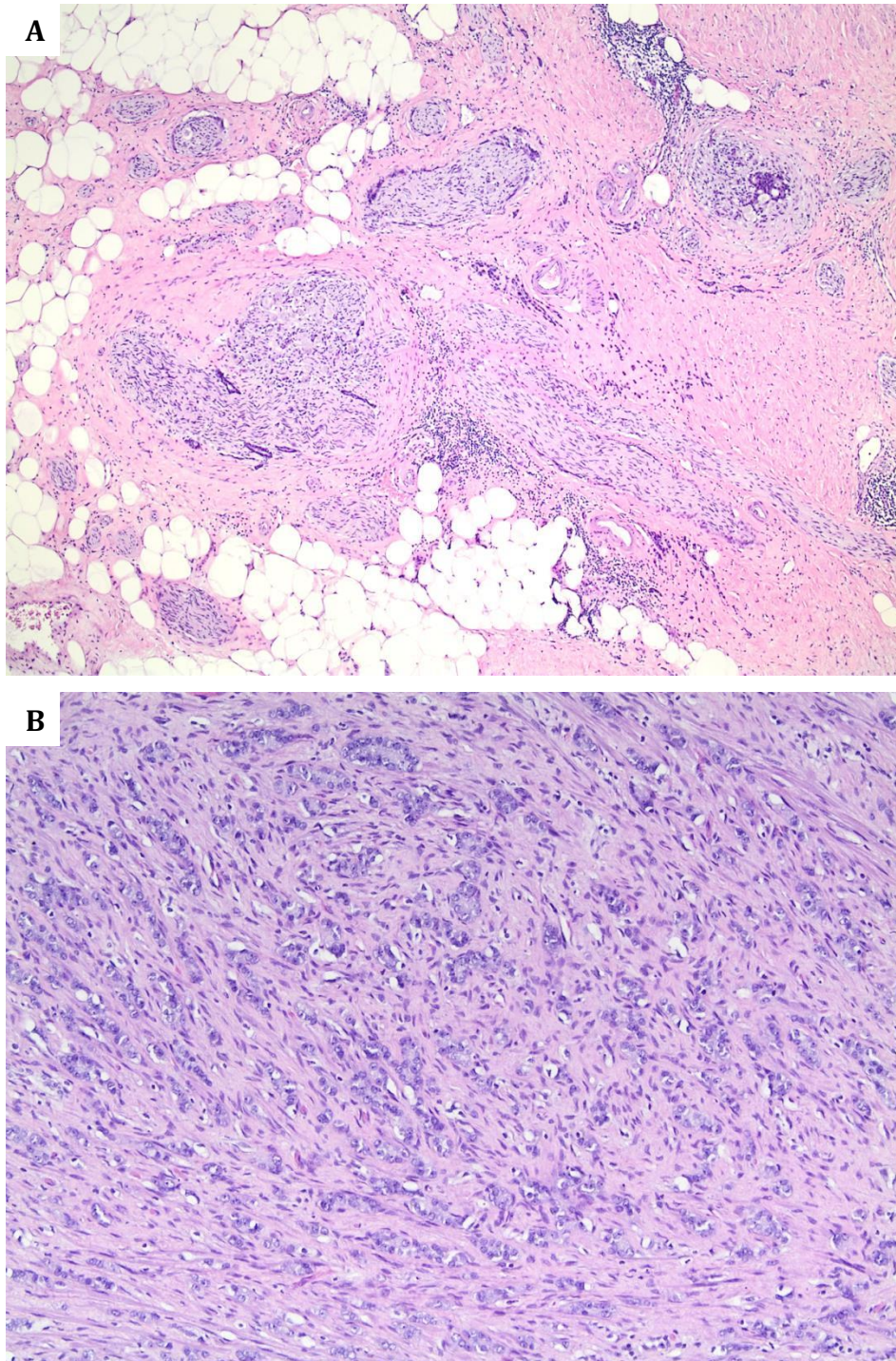


Figura 7. Caso 17. **(A)** Foco de extensão extraprostática com disseminação do tumor residual ao longo de filetes nervosos. HE, 40x. **(B)** Leito tumoral exibindo elevada celularidade. HE, 200x.

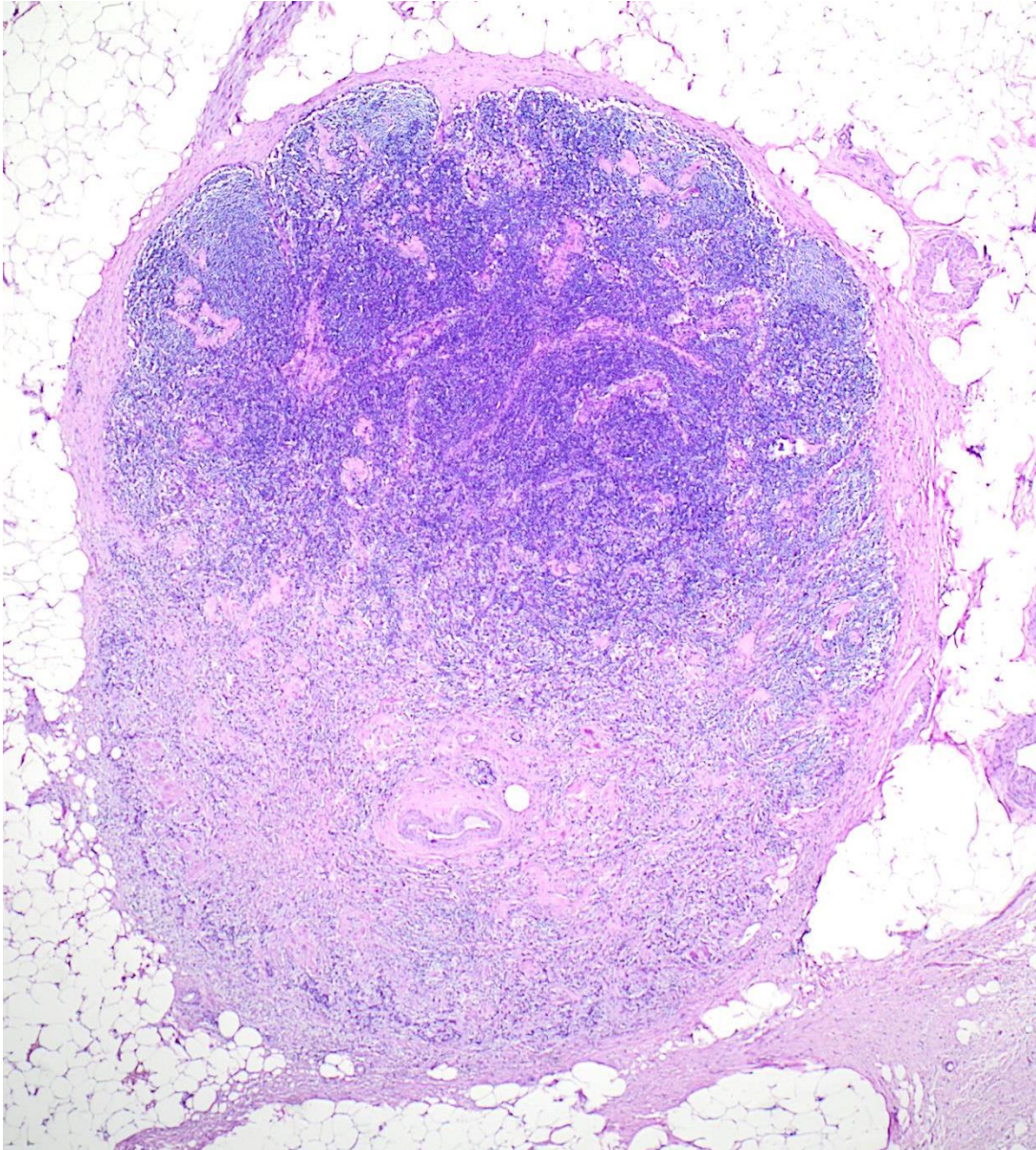


Figura 8. Caso 17. Metástase de adenocarcinoma prostático em um linfonodo pélvico com alterações de efeito terapêutico associadas. HE, 40x.

Em seguida, realizamos uma análise comparativa das variáveis pré-tratamento em função dos dois grandes grupos de resposta patológica: resposta satisfatória *versus* resposta insatisfatória.

Como podemos observar a partir dos dados dispostos na **tabela 2**, parâmetros clínico-patológicos relacionados à doença mais avançada ao diagnóstico (estadio clínico inicial, invasão perineural e maior carga tumoral) exibiram significativa associação com resposta insatisfatória, ou seja, menor taxa de sucesso terapêutico.

Tabela 2. Parâmetros pré-tratamento em função de resposta patológica (RCB<0,25).

Parâmetros patológicos pré-tratamento	Resposta Satisfatória (n = 14)	Resposta Insatisfatória (n = 48)	Significância (Valor p)
PSAi (ng/dL), média (±DP)	17,4 (±15,4)	29,5 (±29,6)	0,098
Cor, n (%)			0,217
Branco	3 (21,4)	20 (41,6)	
Não-branco (pardo + negro)	11 (78,6)	28 (58,4)	
Estadio clínico, n (%)			0,050
cT2	8 (57,2)	13 (27,1)	
cT3 ou cT4	6 (42,8)	35 (72,9)	
Grupo prognóstico ISUP, n (%)			0,762
1, 2 ou 3	6 (42,8)	25 (52,1)	
4 ou 5	8 (57,2)	23 (47,9)	
Invasão perineural, n (%)			0,031
Presente	2 (14,3)	23 (47,9)	
Ausente	12 (85,7)	25 (52,1)	
Carga tumoral, n (%)			0,002
Limitada	11 (78,3)	15 (31,2)	
Extensa	3 (21,4)	33 (68,8)	

De modo similar, realizamos uma análise equivalente para as variáveis patológicas pós-tratamento em função dos grupos de resposta patológica. Esses resultados podem ser encontrados na **tabela 3**.

Tais resultados corroboram as observações obtidas a partir da análise dos parâmetros iniciais, indicando que a chance de sucesso terapêutico é inversamente proporcional ao avanço locorregional da doença. A maior proporção de margens positivas, linfonodos positivos e recorrência bioquímica no grupo de resposta insatisfatória aponta no mesmo sentido.

Tabela 3. Parâmetros pós-tratamento em função de resposta patológica (RCB<0,25).

Parâmetros patológicos pós-tratamento	Resposta Satisfatória (n = 14)	Resposta Insatisfatória (n = 48)	Significância (Valor p)
Peso (g), média	37,0	26,7	0,896
RCB (cm ³), média	0,069	3,889	Não se aplica
Celularidade (%), média	13,5	41,5	Não se aplica
Maior diâmetro tumoral (mm), média	7,7	21,2	Não se aplica
Estadio patológico, n (%)			< 0,001
ypT0 ou ypT2	12 (85,7)	9 (18,7)	
ypT3	2 (14,3)	39 (81,2)	
Linfonodos positivos, n (%)			0,028
Sim	0 (0)	13 (27)	
Não	14 (100)	35 (73)	
Margens positivas, n (%)			0,025
Sim	1 (7,2)	19 (39,6)	
Não	13 (92,8)	29 (60,4)	
Recorrência bioquímica*			0,037
Sim	3 (21,4)	26 (54,2)	
Não	11(78,6)	22 (45,8)	

*Dados de recorrência bioquímica avaliados em 60 indivíduos devido a dois óbitos no primeiro mês pós-operatório.

Na análise multivariada, o único parâmetro independente pré-tratamento que mostrou associação significativa com resposta patológica satisfatória foi a carga tumoral extensa (**tabela 4**).

Tabela 4. Análise multivariada entre parâmetros pré ou pós-tratamento selecionados e resposta patológica satisfatória.

Variáveis	Análise Multivariada		
	OR	IC95%	Valor p
Cor	5,72	0,52 - 62,33	0,153
Estadio clínico	4,52	0,80 - 25,58	0,088
Carga tumoral	20,84	2,16 - 201,03	0,009
PTEN / ERG	2,03	0,27 – 15,13	0,491
Estadio patológico	30,88	1,49 - 639,39	0,027

4.4. Resultados imuno-histoquímicos

Na análise imuno-histoquímica, avaliamos a associação entre a imunoexpressão pré-tratamento de cada marcador com a resposta patológica. O detalhamento dos resultados imuno-histoquímicos por indivíduo de pesquisa pode ser encontrado na **tabela 5**.

Quando avaliados isoladamente, não observamos associação significativa de nenhum dos marcadores estudados com a resposta patológica, conforme disposto na **tabela 6**. Deve-se destacar que os marcadores AR-NT e PSMA foram uniformemente positivos em todas as amostras. Portanto, não foi possível realizar análise estatística para esses dois marcadores.

Tabela 5. Resultados imuno-histoquímicos por indivíduo de pesquisa.

ID	AR-NT (%)	ARV7 (H escore)	PTEN (%)	ERG (H escore)	p53 (%)	NKX3.1 (H escore)	PSMA (%)	Glicor (H escore)	Ki67 (%)
1	100	60	90	0	40	270	100	20	1
2	100	300	70	0	40	140	100	10	1
3	100	30	5	10	70	120	100	100	1
4	100	20	90	0	40	270	100	120	5
5	100	180	80	0	90	285	100	5	5
6	100	120	95	0	40	100	100	0	10
7	100	160	0	0	90	100	100	10	5
8	100	25	90	0	60	40	100	10	1
9	100	200	0	180	80	270	100	120	5
10	100	5	50	0	10	5	100	5	0
11	100	50	5	0	70	140	100	30	1
12	100	200	95	0	95	120	100	0	0
13	100	50	0	0	70	240	100	10	5
14	100	180	5	240	100	300	100	240	5
15	100	140	60	0	70	225	100	60	5
16	100	70	80	0	95	25	100	0	5
17	100	180	0	0	90	250	100	180	10
18	100	120	100	0	80	270	100	100	1
19	100	180	30	0	60	0	100	0	1
20	100	300	10	270	80	5	100	10	0
21	100	80	60	0	60	180	100	80	1
22	100	70	75	0	100	150	100	20	1
23	100	200	90	0	100	250	100	160	5
24	100	200	100	0	10	300	100	5	10
25	100	200	100	0	80	180	100	0	20
26	100	240	90	250	70	240	100	210	10

27	100	30	100	0	20	60	100	5	5
28	100	200	100	0	50	200	100	40	5
29	100	200	85	0	100	300	100	0	15
30	100	200	50	0	75	180	100	0	5
31	100	160	0	180	80	10	100	30	1
32	100	140	5	0	70	270	100	10	5
33	100	180	95	0	95	150	100	0	5
34	100	70	5	0	80	160	100	140	5
35	100	10	25	0	30	20	100	0	1
36	100	180	0	0	100	120	100	0	5
37	100	120	75	0	90	230	100	5	5
38	100	180	70	0	75	280	100	220	10
39	100	40	70	0	25	250	100	80	1
40	100	160	100	0	80	300	100	5	10
41	100	10	40	0	5	5	100	120	0
42	100	120	5	0	90	240	100	0	20
43	100	50	80	0	10	160	100	5	1
44	100	200	0	0	70	270	100	80	25
45	100	270	50	270	0	220	100	0	5
46	100	140	20	0	25	70	100	0	1
47	100	80	60	0	80	180	100	0	5
48	100	20	60	0	10	280	100	0	10
49	100	140	100	0	40	300	100	300	5
50	100	20	2	160	5	10	100	100	5
51	100	70	50	140	5	200	100	100	15
52	100	160	90	5	95	210	100	20	5
53	100	120	70	50	60	150	100	20	1
54	100	270	95	30	70	0	100	0	5
55	100	25	0	100	10	80	100	0	1
56	100	180	5	240	30	290	100	10	5
57	100	200	80	0	80	100	100	100	20
58	100	160	100	0	80	270	100	0	5
59	100	60	80	0	80	120	100	0	10
60	100	180	70	0	70	280	100	240	10
61	100	200	100	0	90	200	100	20	5
62	100	60	30	10	0	0	100	0	0

Tabela 6. Resultados imuno-histoquímicos por marcador e carga tumoral residual.

Marcador		Resultado n = 62 (%)	RCB média, cm³ (±DP)	Significância (Valor p)
ARV7	Positivo	30 (48,4)	3,041 (3,880)	0,589
	Negativo	32 (51,6)	3,013 (5,010)	
PTEN	Preservado	46 (74,2)	2,571 (3,580)	0,230
	Inativado	16 (25,8)	4,336 (6,329)	
ERG	Positivo	15 (24,2)	4,554 (6,217)	0,109
	Negativo	47 (75,8)	2,539 (3,693)	
p53	Alto índice	44 (70,9)	2,740 (3,746)	0,638
	Baixo índice	18 (29,1)	3,726 (5,935)	
NKX3.1	Positivo	39 (62,9)	2,790 (3,706)	0,841
	Negativo	23 (37,1)	3,427 (5,588)	
Glico-R	Positivo	20 (32,2)	2,805 (3,859)	0,703
	Negativo	42 (67,8)	3,132 (4,763)	
Ki67	Alto índice	15 (24,2)	4,798 (4,657)	0,614
	Baixo índice	47 (75,2)	2,461 (4,296)	
AR-NT	Positivo	62 (100)	Não realizado	Não se aplica
	Negativo	0 (0)	Não realizado	
PSMA	Positivo	62 (100)	Não realizado	Não se aplica
	Negativo	0 (0)	Não realizado	

Ao analisarmos os marcadores de modo agrupado, observamos que a combinação **“ERG positivo ou PTEN alterado”** mostrou-se significativamente associada à detecção mais tardia e a menor resposta patológica. Abaixo detalhamos alguns parâmetros pré e pós-tratamento selecionados em relação a esse subgrupo desfavorável.

Tabela 7. Parâmetros pré-tratamento em função do status pré-operatório das proteínas PTEN e ERG.

Parâmetros pré-tratamento	PTEN ou ERG Alterados (n=24)	PTEN e ERG Preservados (n=38)	Significância (Valor p)
PSAi (ng/dL), média (±DP)	26,1 (±34,6)	26,6 (±22,4)	0,254
Cor, n(%)			0,007
Branco	14 (58,3)	9 (23,6)	
Não-branco (pardo + negro)	10 (41,6)	29 (76,4)	
Estadio clínico, n (%)			0,005
cT2	3 (12,5)	18 (47,3)	
cT3 ou cT4	21 (87,5)	20 (52,7)	
Grupo prognóstico ISUP, n (%)			0,434
1, 2 ou 3	14 (58,3)	17 (44,7)	
4 ou 5	10 (41,6)	21 (55,2)	
Invasão perineural, n (%)			0,428
Presente	12 (50)	14 (36,8)	
Ausente	12 (50)	24 (63,2)	
Carga tumoral, n (%)			0,791
Limitada	7 (29,1)	17 (44,7)	
Extensa	17 (70,9)	21 (55,2)	

Tabela 8. Parâmetros pós-tratamento em função do status pré-operatório das proteínas PTEN e ERG.

Parâmetros pós-tratamento	PTEN ou ERG Alterados (n=24)	PTEN e ERG Preservados (n=38)	Significância (Valor p)
Celularidade (%), média	41,6	31,1	0,044
Maior diâmetro tumoral (mm), média	20,7	16,6	0,065
Volume tumoral (cm³), média	8,2	5,1	0,078
RCB (cm³), média	3,941	2,449	0,042
Resposta patológica (RCB<0,15)			0,038
Sim, n (%)	1 (4,1)	10 (23,3)	
Não, n (%)	23 (95,9)	28 (73,7)	

Resposta patológica (RCB<0,25)			0,058
Sim, n (%)	2 (8,3)	12 (31,6)	
Não, n (%)	22 (91,7)	26 (64,4)	
Resposta patológica (RCB<0,35)			0,155
Sim, n (%)	4 (16,6)	13 (34,2)	
Não, n (%)	20 (83,3)	25 (65,8)	
Estadio patológico, n (%)			0,167
Localizado (ypT0 ou ypT2)	5 (20,8)	15 (39,4)	
Avançado (>ypT2 e/ou ypN1)	19 (79,2)	23 (60,6)	
Linfonodos positivos, n (%)			0,221
Sim	7 (29,1)	6 (15,7)	
Não	17 (70,9)	32 (8,3)	
Margens positivas, n (%)			0,095
Sim	11 (45,8)	9 (23,6)	
Não	13 (54,2)	29 (76,4)	
Recorrência bioquímica*			0,795
Sim	12 (50)	17 (44,7)	
Não	12 (50)	21 (55,2)	

Nossos resultados, quando consideramos a carga tumoral como variável contínua (RCB) e um valor mais restritivo para categorização de resposta satisfatória (RCB<0,15), revelaram que indivíduos com perfil PTEN/ERG desfavorável apresentam maior resistência à terapia neoadjuvante. Ao mesmo tempo, observamos uma intrigante associação do referido perfil desfavorável com o grupo racial branco e com estadio clínico inicial mais avançado.

Diante disso, ampliamos nossa análise a fim de observar essa diferença na taxa de resposta satisfatória (RCB<0,15) em três grupos categorizados pelo perfil imuno-histoquímico PTEN/ERG (favorável ou desfavorável) e pela cor/raça branca (vide **tabela 9** e **gráfico 2**).

Tabela 9. Taxa de resposta satisfatória (RCB<0,15) em diferentes grupos categorizados por cor e status PTEN/ERG.

Cor e perfil PTEN/ERG	Resposta patológica satisfatória (RCB<0,15), n (%)
Branco qualquer PTEN/ERG	1/23 (4,3)
Não-Branco PTEN ou ERG alterado (desfavorável)	1/10 (10,0)
Não-Branco PTEN e ERG preservado (favorável)	9/29 (31,3)

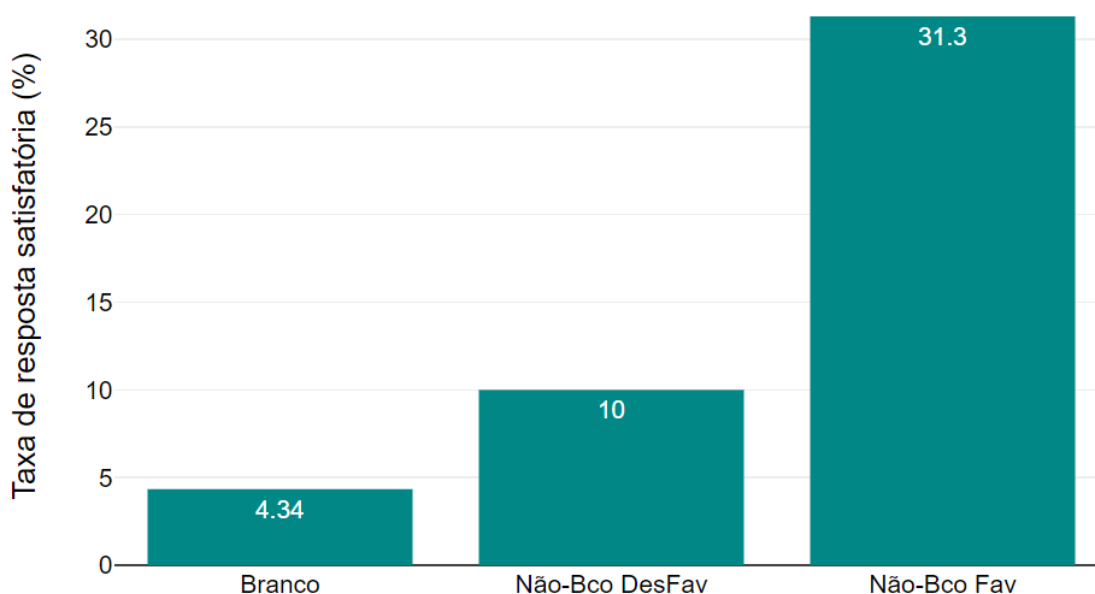


Gráfico 2. Gráfico de barras exibindo a frequência de resposta satisfatória (RCB<0,15) em três diferentes grupos categorizados pela cor/raça e perfil PTEN/ERG.

De modo geral, os resultados mostram que, em nossa casuística, os pacientes de cor/raça branca exibiram uma tendência a exibir resposta patológica insatisfatória. O único indivíduo branco com resposta patológica satisfatória exibiu perfil PTEN/ERG favorável. No grupo de pardos e negros, a taxa de resposta satisfatória mostrou-se sensivelmente maior, sobretudo para os indivíduos com perfil favorável.

Observamos ainda que um subgrupo com perfil duplamente desfavorável / bivalente (PTEN-deficiente e ERG-positivo concomitante) exibiu parâmetros patológicos notavelmente elevados de carga tumoral residual (vide **gráficos 3A e 3B**).

Nas páginas seguintes, as **figuras 9 e 10** ilustram nossos resultados imuno-histoquímicos com algumas fotomicrografias dos marcadores ERG e PTEN em casos selecionados.

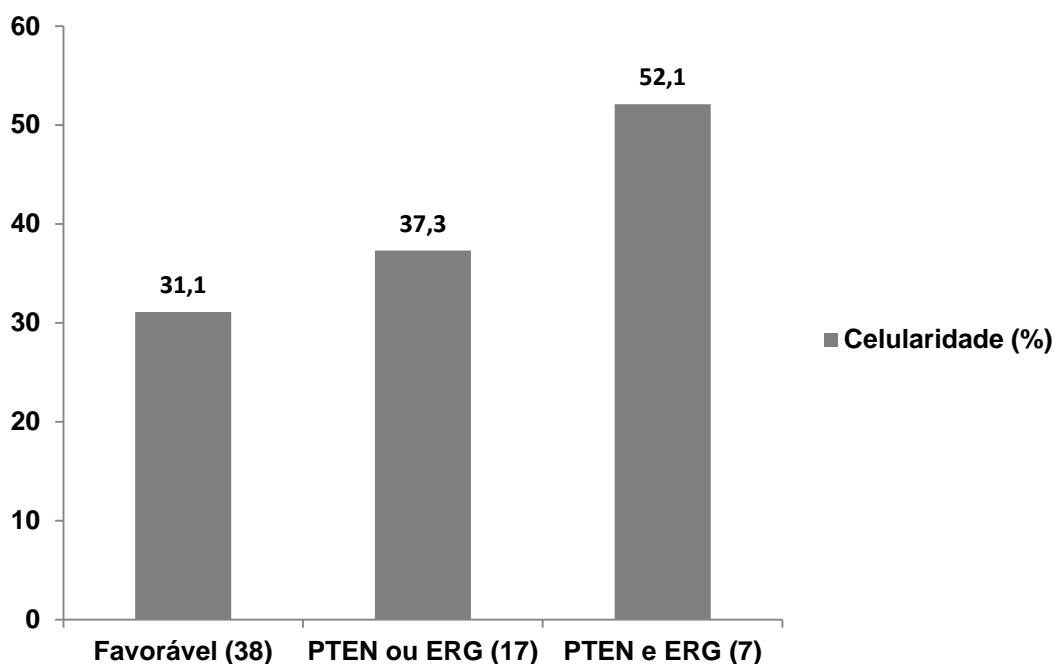


Gráfico 3A. Gráfico de barras exibindo a celularidade residual média em três diferentes grupos categorizados pelo perfil imuno-histoquímico PTEN/ERG.

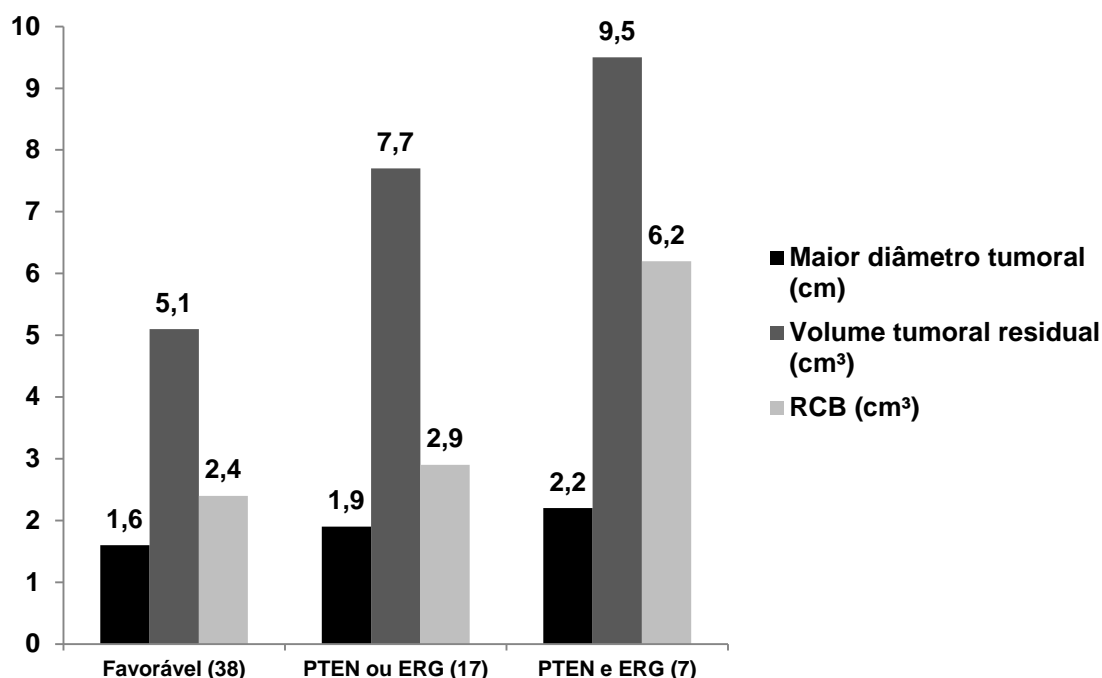


Gráfico 3B. Gráfico de barras exibindo as médias de parâmetros patológicos de carga tumoral residual em três diferentes grupos categorizados pelo perfil imuno-histoquímico PTEN/ERG.

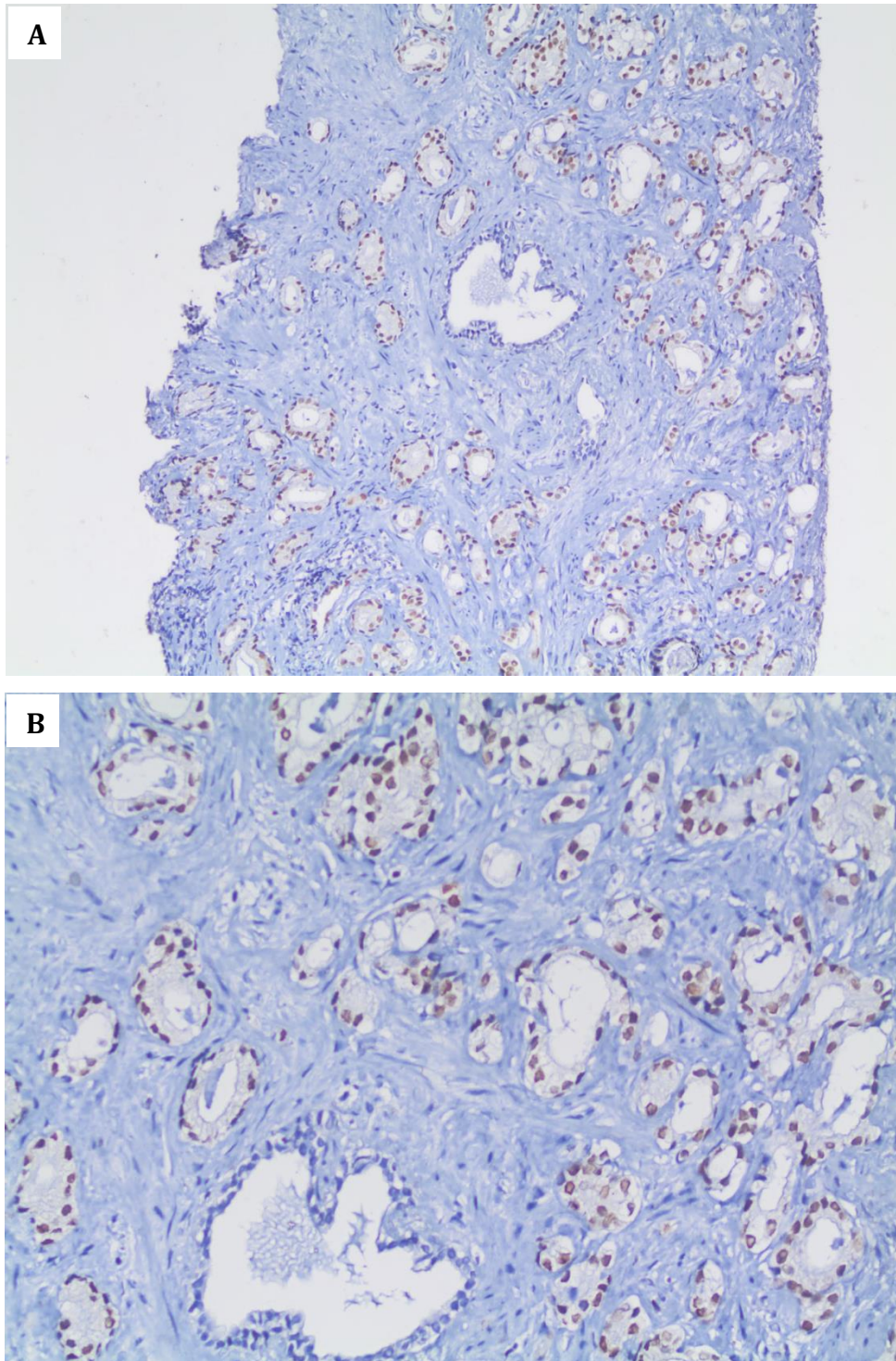


Figura 9. Imunoexpressão de ERG. Caso ID 45. (A) Amostra exibindo imunopositividade nuclear para ERG. Imunoperoxidase, 100x. **(B)** Detalhe da imagem anterior ressaltando o padrão nuclear de marcação nas células neoplásicas e o contraste com as células não-tumorais (ERG-negativas). Imunoperoxidase, 200x.

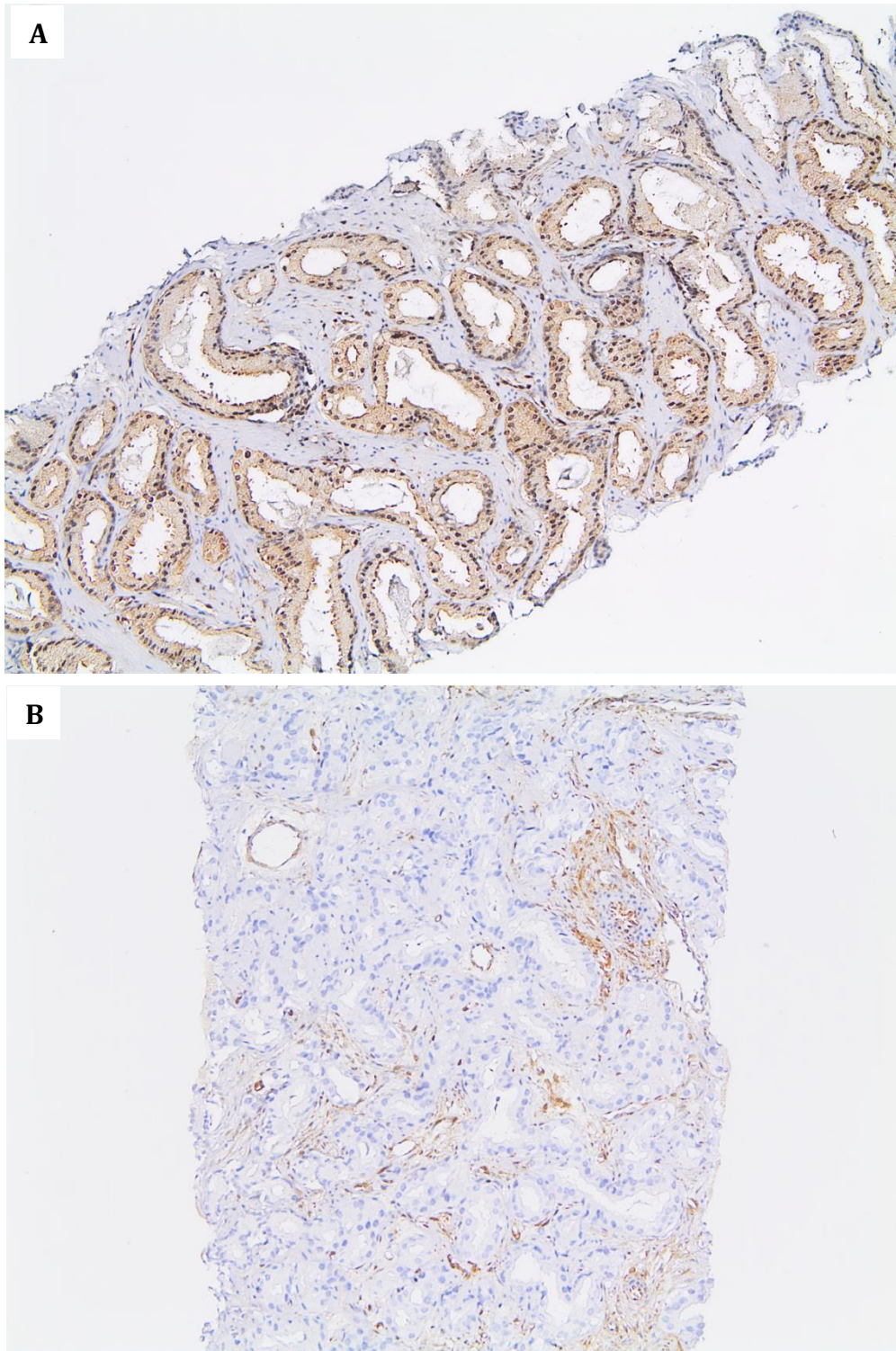


Figura 10. Imunoexpressão de PTEN. (A) Caso 61. Amostra exibindo imunoexpressão preservada de PTEN (nuclear e citoplasmática). **(B) Caso 31.** Imunoexpressão alterada em caso PTEN-deficiente. Imunoperoxidase, 100x.

4.5. Recorrência bioquímica

Avaliamos também as variáveis clínico-patológicas e imuno-histoquímicas em função da recorrência bioquímica após trinta meses de seguimento médio.

Na análise univariada, houve associação significativa entre recorrência bioquímica e algumas variáveis pré-tratamento (PSAi, invasão perineural e carga tumoral) e outras pós-tratamento (celularidade, RCB, estadiopatológico e margem cirúrgica), conforme podemos observar na **tabela 10**. Diferentemente, não encontramos associação de nenhum marcador imuno-histoquímico com a recorrência bioquímica, seja isoladamente ou no grupo PTEN/ERG.

Tabela 10. Variáveis clínicas e patológicas selecionadas em função da recorrência bioquímica.

Variáveis pré e pós-tratamento		Recidiva bioquímica Sim (n = 29)	Recidiva bioquímica Não (n = 31)	Valor p
PSA Inicial (ng/dL)	Média (±DP)	31,7 (27,6)	21,9 (27,7)	0,037
Cor, n (%)	Branco	8 (27,5)	15 (48,4)	0,117
	Não-branco	21 (72,5)	16 (51,6)	
Estadio Clínico	cT2	10 (34,4)	10 (32,2)	1,000
	cT3 ou cT4	19 (65,6)	21 (67,7)	
Grupo prognóstico (ISUP)	1 ou 2	2 (6,8)	7 (22,5)	0,147
	3, 4 ou 5	27 (93,2)	24 (77,5)	
Invasão perineural	Presente	18 (62,0)	7 (22,5)	0,003
	Ausente	11 (38,0)	24 (77,5)	
Carga tumoral	Limitada	7 (24,1)	16 (51,6)	0,036
	Extensa	22 (75,9)	15 (48,4)	
Status PTEN/ERG	Favorável	17	19	1,000
	Desfavorável	12	12	
Celularidade (%)	Média (±DP)	45,0 (21,8)	24,8 (15,7)	<0,001
Maior diâmetro (mm)	Média (±DP)	21,3 (7,3)	15,2 (8,8)	0,005

RCB (cm³)	Média (±DP)	4,223 (5,360)	1,948 (3,322)	0,004
Estadio patológico	n (%)			0,002
ypT0/ypT2 e ypN0	Localizado	4 (13,8)	16 (51,6)	
>ypT2 ou ypN1	Avançado	25 (86,2)	15 (48,4)	
Margem Cirúrgica	Positiva	14 (48,2)	5 (16,1)	0,011
	Negativa	15 (51,8)	26 (83,9)	
Linfonodos positivos	n (%)			<0,001
Sim	ypN0	13 (44,8)	0 (0)	
Não	ypN1	16 (55,2)	31 (100,0)	

Nota: Dados avaliados em 60 indivíduos devido a dois óbitos no primeiro mês pós-operatório.

Diante disso, optamos por prosseguir com uma análise multivariada, cujos resultados estão dispostos na **tabela 11**. Constatamos que, no momento pré-tratamento, o único parâmetro independente que mostrou associação significativa com recidiva bioquímica foi a invasão perineural enquanto que, no momento pós-tratamento, somente o acometimento linfonodal esteve associado à recorrência do PSA no intervalo avaliado.

Tabela 11. Análise multivariada entre parâmetros pré e pós-tratamento selecionados e a recorrência bioquímica.

Associação com Recorrência Bioquímica	Análise Multivariada		
Variáveis	OR	IC95%	p
PSA inicial	5,23	0,77 - 35,72	0,091
Carga tumoral	0,59	0,08 - 4,21	0,600
Invasão perineural	7,71	1,24 - 47,78	0,028
Celularidade	7,78	0,80 - 75,98	0,078
RCB	0,96	0,76 - 1,22	0,758
Estadio patológico	3,07	0,53 - 17,58	0,209
Margem cirúrgica	6,05	0,61 - 60,21	0,125
Linfonodo positivo	13,96	1,19 - 163,63	0,036

Realizamos também análise de um dos desfechos oncológicos precoces mais importantes na evolução do câncer de próstata: a sobrevida livre de recorrência bioquímica. As curvas dos dois grupos de resposta patológica em função desse relevante parâmetro oncológico podem ser encontradas no **gráfico 4**. Elas revelam que, após aproximadamente 12 meses de seguimento,

passa a haver uma diferença significativa entre os grupos de resposta patológica (RCB<0,25cm³).

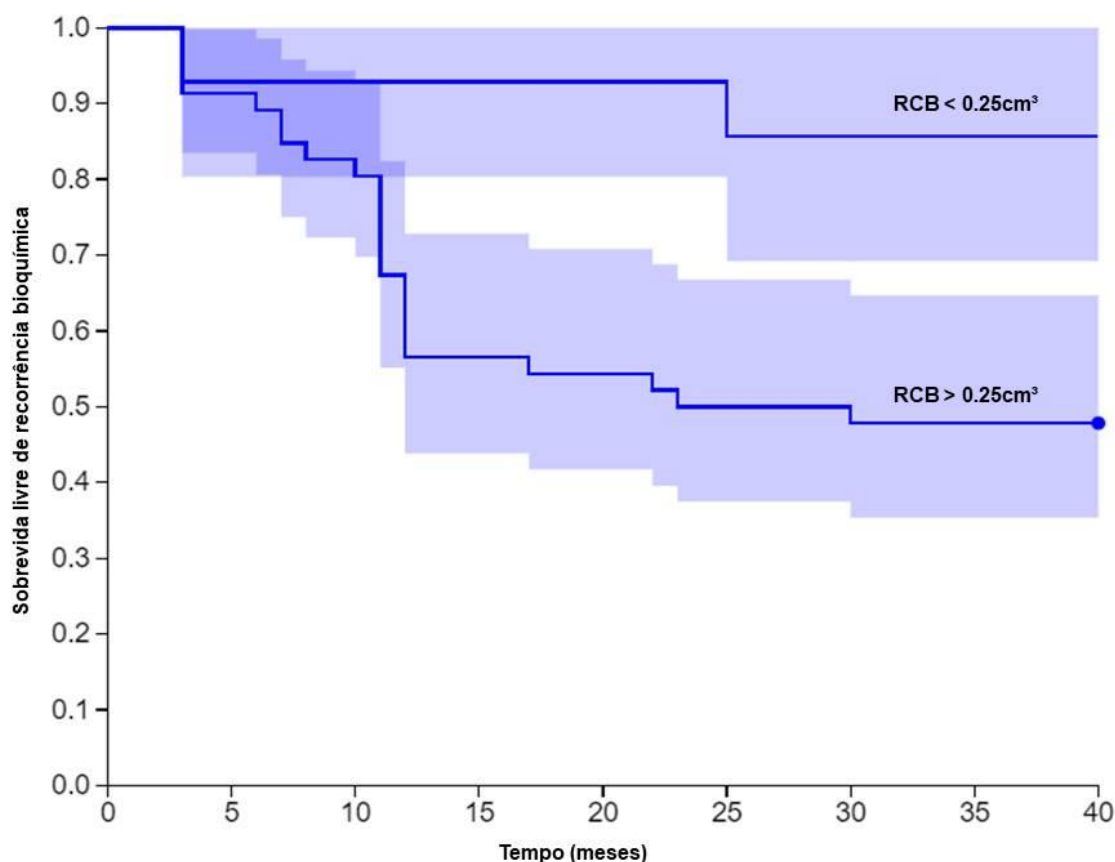


Gráfico 4. Sobrevida livre de recorrência bioquímica por grupos de resposta patológica.

4.6. Análise comparativa com coorte concorrente

Considerando o fato de a prostatectomia radical ser o padrão-ouro no tratamento do CAPLAR, realizamos uma análise comparativa entre a nossa coorte experimental, submetida à TDAi neoadjuvante conforme o protocolo PCR2044, e uma coorte concorrente, operada na mesma época e local, formada por indivíduos elegíveis ao mesmo estudo porém que se recusaram à terapia experimental, tendo optado pelo PRR primária por motivos variados.

Em síntese, observamos que dois parâmetros principais foram significativamente afetados pela terapia neoadjuvante. Em primeiro lugar, o peso médio final da próstata foi substancialmente menor na coorte

experimental, tendo apresentado uma redução relativa de 34% em relação ao peso médio da coorte concorrente. Em segundo lugar, a taxa de margens positivas também foi notavelmente menor na coorte experimental em relação à coorte concorrente.

As coortes foram equivalentes, ou seja, sem diferenças significativas, para os demais parâmetros estudados. O detalhamento descritivo dessa análise comparativa está disposto na **tabela 12**.

Tabela 12. Parâmetros clínico-patológicos selecionados entre duas coortes comparáveis (PCR2044 *versus* coorte concorrente PR primária).

Características clínico-patológicas	PCR2044 (n = 62)	Coorte concorrente (n=21)	Significância (Valor p)
PSAi (ng/dL), média (amplitude)	26,7 (3 – 148)	18,6 (3 – 89)	0,116
Grupo prognóstico ISUP, n (%)			1,000
1 ou 2	11 (17,7)	4 (19,0)	
3, 4 ou 5	51 (82,2)	17 (81,0)	
Estadio clínico, n (%)			0,789
cT2	21 (33,8)	6 (28,5)	
cT3 ou cT4	41 (66,2)	15 (71,5)	
Peso da próstata (g), média (amplitude)	29 (9 – 111)	44 (21 – 126)	<0,001
Margens positivas, n (%)			0,021
Sim	20 (32,5)	13 (61,9)	
Não	42 (67,5)	8 (38,1)	
Estadio patológico, n (%)			0,102
ypT0/ypT2/pT2	21 (33,8)	3 (14,2)	
ypT3/pT3	41 (66,2)	18 (85,7)	
Linfonodos positivos, n (%)			0,550
Sim	13 (20,9)	6 (28,5)	
Não	49 (79,1)	15 (71,4)	
Recidiva bioquímica*			1,000
Sim	29 (48,3)	9 (45)	
Não	31 (51,7)	11 (55)	
Intervalo livre PSA RB média (±DP)	20,9 (±10,0)	19,2 (±14,0)	0,522

*Dados de recorrência bioquímica avaliados em 60 indivíduos no PCR2044 e 20 indivíduos na coorte concorrente devido a óbitos no primeiro mês pós-operatório.

4.7. Acometimento de linfonodos regionais

Como demonstrado na **tabela 11**, o acometimento de linfonodos regionais foi um dos parâmetros pós-tratamento independentemente associado à recidiva bioquímica na análise multivariada. Todos os pacientes com linfonodos positivos apresentaram recorrência bioquímica no intervalo de trinta meses. Sendo assim, optamos por prosseguir com essa investigação a fim de verificar a existência de correlação entre a carga tumoral metastática ressecada na linfadenectomia estendida e o intervalo de tempo até a recidiva bioquímica. O detalhamento descritivo desses parâmetros está disposto no **quadro 5**.

Quadro 5. Caracterização patológica dos indivíduos ypN1 com seus respectivos intervalos livres de recorrência bioquímica.

ID	LN positivos (n)	LN totais (n)	Tamanho da maior metástase (mm)	RB PSA	Intervalo RB PSA (meses)
9	1	17	1	Sim	26
10	15	45	22	Sim	3
11	2	40	2	Sim	29
14	2	45	9	Sim	34
17	3	13	1	Sim	3
26	1	46	2	Sim	10
27	5	23	3	Sim	11
29	8	18	10	Sim	11
37	1	29	1	Sim	8
43	4	26	4	Sim	7
45	2	17	4	Sim	17
55	4	14	4	Sim	4
59	3	16	5	Sim	11

Apesar do tamanho reduzido desse subgrupo de interesse em nossa casuística (somente 13 casos), observamos uma correlação linear negativa entre um dos parâmetros de carga tumoral nodal que estudamos (relação linfonodos positivos / linfonodos totais) e o intervalo livre de recorrência bioquímica. Sendo assim, podemos inferir que a carga tumoral nodal guarda uma relação inversamente proporcional à sobrevida livre de recorrência bioquímica.

A análise de correlação linear pelo método de Pearson pode ser encontrada na **tabela 13**. Já o diagrama de dispersão equivalente está disposto logo em seguida (**gráfico 5**).

Tabela 13. Correlação linear entre diferentes parâmetros de quantificação da carga tumoral nodal e a sobrevida livre de recorrência bioquímica.

Carga tumoral nodal	Casos ypN1 com RB PSA (n=13)	Correlação linear Pearson (valor R)	Correlação linear Pearson (valor p)
Linfonodos positivos, n médio (amplitude)	3,9 (1 – 15)	-0,433	0,139
Linfonodos totais, n médio (amplitude)	26,8 (13 – 46)	+0,307	0,306
Relação LN positivos / LN totais, valor (amplitude)	0,177 (0,034 – 0,444)	-0,556	0,048
Tamanho maior foco metastático, mm (amplitude)	5,4 (1 – 22)	-0,217	0,476

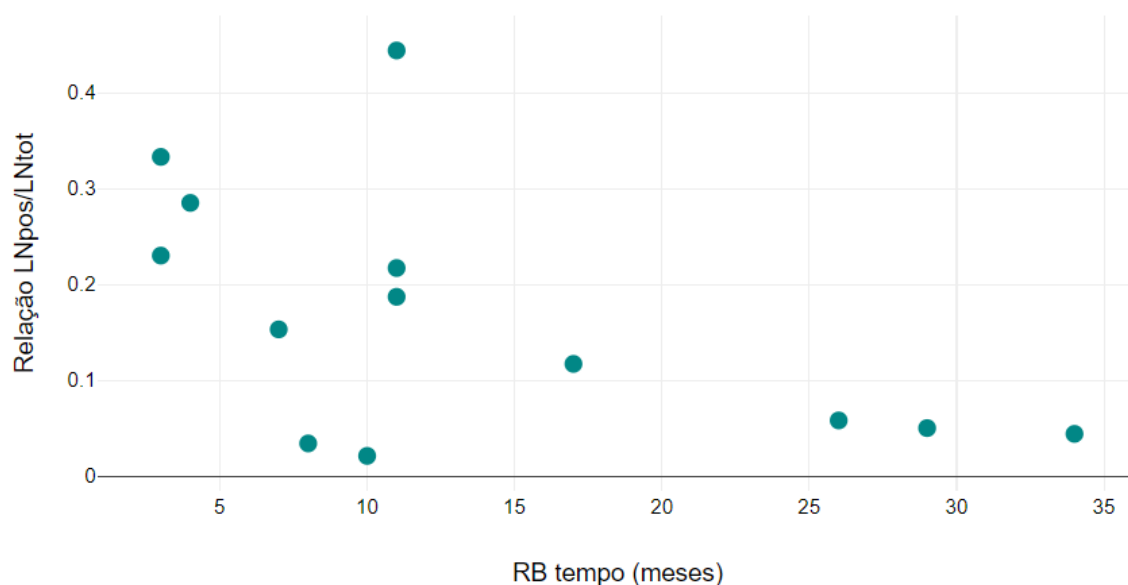


Gráfico 5. Diagrama de dispersão entre a carga tumoral nodal através da relação LN positivos / LN totais em função do intervalo livre de recorrência bioquímica.

5. DISCUSSÃO

A evolução da terapia do câncer de próstata descreveu uma trajetória singular na história da Medicina, uma vez que o controle sistêmico de uma neoplasia glandular exócrina pôde ser alcançado, mesmo que provisoriamente, por uma terapia sistêmica com bases de eficácia essencialmente hormonais. Ao longo da segunda metade do século XX, o aperfeiçoamento técnico e o papel da prostatectomia radical no tratamento curativo do câncer de próstata localizado foram consolidados. Novas propostas terapêuticas, como a neoadjuvância experimentada neste estudo, almejam aprimorar os resultados da cirurgia, sobretudo em situações nas quais, reconhecidamente, múltiplas modalidades terapêuticas são necessárias para o controle da doença.⁴⁵

No decorrer da última década, o surgimento de uma nova geração de fármacos com ação anti-androgênica e o relativo sucesso obtido com sua aplicação no cenário metastático despertou o interesse pela neoadjuvância no CAPLAR. Desfechos oncológicos maiores relativos ao câncer de próstata somente podem ser alcançados no longo / longuíssimo prazo – anos ou décadas – considerando o caráter naturalmente indolente de progressão da doença. Nesse sentido, a avaliação de eficácia terapêutica através da resposta patológica no espécime cirúrgico se tornou uma opção atraente, colocando o patologista em uma posição de grande responsabilidade dentro da equipe oncológica multidisciplinar.

Apesar da evidente vantagem de representar um substituto precoce de desfechos oncológicos tradicionais, a avaliação da resposta patológica após neoadjuvância em CAPLAR ainda é um tema pouco estudado.⁴⁵ Recorrentes são as dificuldades em se obter consenso em relação à quantificação de critérios histopatológicos definidores da resposta satisfatória, ou seja, aquela com impacto clínico e prognóstico.

Em 2010, após a revelação de que o sistema de graduação de Gleason não apresentava o mesmo significado prognóstico no cenário neoadjuvante⁶⁵, Efstathiou et cols propuseram um sistema tripolar de graduação da resposta patológica (sistema ABC de Troncoso) através de análise retrospectiva de 115

portadores de CAPLAR tratados com modalidades variadas de terapia neoadjuvante. O sistema proposto exibiu significativa correlação com variáveis desfavoráveis pré e pós-tratamento.⁶⁴ Entretanto esse sistema não se consolidou como referência na avaliação da resposta patológica em estudos prospectivos subsequentes. Tentativas de incorporá-lo a um conjunto de critérios histopatológicos foram feitas, porém sem ampla aceitação.⁶⁶ Acreditamos que questões relativas à reprodutibilidade interobservador associadas à heterogeneidade do tumor residual possam ter influenciado a baixa aceitação desse sistema.

Estudos prospectivos posteriores, realizados ao longo da década de 2010, abordaram a resposta patológica através de uma análise mais quantitativa, expressa pela carga tumoral residual (RCB). Essa abordagem tornou-se uma tendência, sobretudo após o sucesso obtido com o uso do RCB como substituto na predição de desfechos oncológicos do carcinoma mamário invasivo e do adenocarcinoma colorretal tratados com modalidades de neoadjuvância.⁶⁷⁻⁶⁹

Em 2014, Taplin ME e colaboradores, ao conduzir um ensaio clínico prospectivo de fase 2, propuseram o valor de $0,25 \text{ cm}^3$ como ponto de corte da RCB para a definição de doença residual mínima / resposta patológica satisfatória.³¹ Os autores postularam esse valor a partir da extrapolação de definições e estimativas de volume tumoral e celularidade residuais estabelecidos pela avaliação da resposta patológica em outros órgãos. Seguindo esse raciocínio, e aparentemente guiados pela distribuição de seus próprios resultados, consideraram como parâmetros histopatológicos favoráveis um volume tumoral residual máximo de $0,5 \text{ cm}^2$ e uma celularidade residual máxima de 50% do leito tumoral.³¹ Desse modo, afirmaram que a RCB, sendo o produto do volume tumoral pela celularidade residual, não poderia ultrapassar o valor de $0,25 \text{ cm}^3$ para ser considerada satisfatória.

Concomitantemente, outros autores elaboraram sistemas similares que também incorporaram celularidade e/ou volume tumoral residual. Efstathiou et cols renomearam a RCB como volume epitelial tumoral, utilizando conceitos equivalentes⁴⁸. Já alguns estudos de grupos japoneses seguiram um sistema categórico e generalista adotado pela Associação Urológica Japonesa,

semelhante ao sistema ABC de Efstathiou et cols.⁷⁰⁻⁷¹ A relativa arbitrariedade na determinação do ponto de corte para a RCB representa uma das principais limitações desse método de avaliação.⁴⁵ Ao mesmo tempo, outras limitações podem ser mencionadas, tais como a multicentricidade natural do câncer de próstata, que pode dificultar o reconhecimento da maior dimensão linear cruzada / nódulo dominante, e a aferição visual da celularidade, que guarda certa subjetividade. Apesar disso, acreditamos que o método de avaliação da carga tumoral residual por RCB apresenta vantagens em relação aos demais, pois exhibe boa reprodutibilidade interobservador e flexibilidade durante a análise exploratória, uma vez que o ponto de corte pode ser ajustado em função da distribuição dos dados.

Aparentemente, a celularidade exerce um papel preponderante na determinação da RCB e, conseqüentemente, da resposta patológica. Ao longo da análise dos nossos resultados, essa variável histopatológica nos surpreendeu pela forte associação que apresentou com parâmetros desfavoráveis em todas as etapas do estudo: pré-tratamento (perfil imunohistoquímico desfavorável), pós-tratamento (linfonodos positivos e margens positivas) e seguimento (recorrência bioquímica). A celularidade tumoral no espécime cirúrgico revelou-se como um indicador preponderante tanto de resistência terapêutica quanto de recorrência bioquímica. Nas análises uni e multivariada, esteve entre as variáveis que apresentaram maior significância estatística.

Alguns estudos recentes abordaram o significado prognóstico da celularidade. Em uma extensa revisão sobre o tema, Devos et al destacaram que o impacto prognóstico e os critérios histopatológicos para definição da resposta patológica satisfatória ainda não foram bem estabelecidos, de modo que diversos parâmetros (RCB, maior diâmetro tumoral) e sistemas (ABC de Troncoso) têm sido utilizados.⁴⁵ Os autores discutiram que a participação da celularidade é importante na composição da definição de doença residual mínima e defenderam a idéia de que a incorporação de volume e celularidade na definição da resposta patológica é provavelmente o método mais acurado para a determinação da resposta patológica,⁴⁵ opinião com a qual particularmente concordamos. O mesmo grupo belga publicou um ensaio

clínico fase 2 bastante semelhante ao PCR2044, tendo como desfecho primário a resposta patológica avaliada pelo método de RCB com incorporação da celularidade.⁷²

Ao longo da análise dos resultados de RCB em nossa casuística, observamos que o primeiro intervalo interquartil, que continha os indivíduos que apresentaram a menor carga de tumor residual, foi de aproximadamente 0,31 cm³ (vide **gráfico 1**), ou seja, ligeiramente superior aos 0,25 cm³ de Taplin ME et al.³¹ A princípio, fizemos nossas análises a partir dessa referência. Posteriormente, ajustamos nosso ponto de corte, ligeiramente, ora para baixo (0,15 cm³), ora para cima (0,35 cm³), e acompanhamos os efeitos desses ajustes. O intervalo de RCB em questão (0,15 a 0,35 cm³) pode parecer estreito, mas compreende seis pacientes, ou seja, cerca de 10% da casuística. Metade dos pacientes cujo RCB encontra-se situado nesse intervalo exibiu resposta satisfatória. Percebemos que o uso mais restritivo (RCB<0,15 cm³) permitia, em algumas situações, uma distinção mais evidente, do ponto de vista estatístico, entre os grupos de resposta patológica. Quando diante de uma significância limítrofe para determinada variável com o ponto de corte referencial (0,25 cm³), lançamos mão do ponto de corte restritivo (0,15 cm³). Constatamos que o ajuste fino no ponto de corte da RCB foi fundamental para a análise estatística da resposta patológica e de sua relação com as demais variáveis.

A opção por essa abordagem teve especial impacto na análise dos resultados imuno-histoquímicos, sobretudo os relativos ao status PTEN/ERG, discutidos em detalhes adiante. Na **tabela 8**, organizamos de modo sequencial os diferentes pontos de corte de RCB (0,15, 0,25 e 0,35 cm³) em função dos dois grupos de status PTEN/ERG (favorável x desfavorável). É notável que a associação estatística do status PTEN/ERG se torna mais evidente na medida em que adotamos uma postura mais restritiva no ponto de corte de RCB.

Considerando o ponto de corte referencial, encontramos uma taxa global de resposta patológica satisfatória de aproximadamente 22,5%, valor condizente aos relatados recentemente na literatura por estudos prospectivos recentes com neoadjuvância hormonal ou quimiohormonal no cenário de CAPLAR.⁴⁸⁻⁴⁹⁻⁷¹⁻⁷²

Nossa busca por marcadores preditores da resposta patológica reforçou a relevância de alguns parâmetros histopatológicos bem conhecidos. Como podemos observar a partir dos dados dispostos na **tabela 2**, parâmetros clínico-patológicos relacionados à doença mais avançada ao diagnóstico (estadio clínico inicial, invasão perineural e maior carga tumoral) exibiram significativa associação com resposta insatisfatória na análise univariada. Após a análise multivariada, o parâmetro que demonstrou maior tenacidade foi a carga tumoral elevada. Apesar de ser até certo ponto previsível, esse resultado nos trouxe alguma surpresa, na medida em que representou uma variável cuja coleta de dados foi predominantemente qualitativa, em parte limitada pelas características de biópsias colhidas em diferentes serviços externos, compostas por número variável de fragmentos, frascos e padrões topográficos de amostragem. Diante dessas limitações, ao invés de realizarmos uma abordagem mais analítica da carga tumoral, muitas vezes preconizada pela literatura, fomos levados a buscar uma análise mais abrangente aplicável de modo uniforme a todas as amostras e baseada na porcentagem de acometimento tumoral em cada bloco, independentemente do número de fragmentos. Após o crivo estatístico, tal abordagem metodológica revelou uma variável de significado maior que nos sinaliza, em sintonia com as demais analisadas (estadio clínico avançado, invasão perineural), que indivíduos portadores de doença mais avançada possuem menor chance de obter sucesso terapêutico com a modalidade terapêutica experimental do que aqueles portadores de doença mais precoce. Por mais simples e previsível que essa interpretação possa parecer, ela aparenta ser a mensagem maior que podemos interpretar a partir dos nossos resultados histopatológicos pré-tratamento.

Conforme mencionado, o status alterado (desfavorável) de PTEN/ERG esteve dentre as variáveis que mostraram associação significativa com parâmetros de potencial impacto clínico-terapêutico. Como observado na **tabela 7**, o status imuno-histoquímico desfavorável mostrou associação concomitante com duas variáveis pré-tratamento: estágio clínico inicial avançado e raça branca. Ambas essas associações já foram objeto de debate na literatura.

Estudos da década de 1990 abordaram o status imuno-histoquímico de PTEN em amostras tumorais parafinadas de biópsias de próstata por agulha e indicaram clara correlação de casos PTEN-deficientes com estádios mais avançados.⁷³ Estudos mais recentes, baseados em casuísticas maiores e dados moleculares complementares, apontam no mesmo sentido e colocam o PTEN como um marcador tumoral fundamental em eventuais tentativas de classificação molecular do câncer de próstata.⁷⁴ Em 2012, Chaux et al demonstraram que o status alterado de PTEN (perda completa ou parcial) representa um fator de risco independente para recorrência bioquímica e clínico-radiológica.⁷⁵ Além disso, sabe-se também que a inativação de PTEN no adenocarcinoma prostático é um achado alta frequência e está associado a desfechos oncológicos adversos, tais como estágio clínico avançado, recorrência bioquímica precoce após a cirurgia, menor sobrevida livre de metástase e maiores taxas de morte específica por câncer de próstata.⁷⁴

Adicionalmente, a ancestralidade é um fator que exhibe associação com o status de PTEN. A ocorrência de tumores prostáticos PTEN-deficientes é menor em indivíduos afrodescendentes do que em homens de ascendência europeia.⁷⁶⁻⁷⁸ No entanto, a associação da perda de PTEN com prognóstico desfavorável parece ser independente da ancestralidade racial.⁷⁷ Nossos resultados corroboram e adicionam novas informações às evidências pregressas, uma vez que os ensaios clínicos com neoadjuvância hormonal tipo TDAi no cenário de CAPLAR são recentes, experimentais e realizados predominantemente em populações de ancestralidade caucasiana. Como podemos ver na **tabela 9** e no **gráfico 2**, a taxa de resposta patológica foi significativamente maior em indivíduos não-brancos com status PTEN/ERG favorável do que nos demais. Em outras palavras, indivíduos categorizados como brancos mostraram-se constitucionalmente resistentes à terapia neoadjuvante e, aparentemente, não se beneficiam dela. Enquanto isso, verificamos que indivíduos pardos e negros (não-brancos), sobretudo aqueles com perfil PTEN/ERG favorável, exibiram índices promissores de resposta patológica, indicando potencial benefício oncológico para esse subgrupo. Essa constatação, embora repleta de limitações, tais como o reduzido tamanho amostral, o curto intervalo de seguimento e o método de categorização racial

(inspeção clínica), proporciona um referencial que, embora modesto, consideramos suficiente para estimular estudos adicionais a fim de obter melhor detalhamento na categorização racial da nossa casuística através de métodos genéticos de avaliação da ancestralidade.

A essa altura, avançaremos na direção de um dos méritos centrais deste estudo: a predição da resposta patológica a partir de marcadores imuno-histoquímicos. A avaliação combinada do perfil “PTEN inativado ou ERG positivo” foi essencial para atingirmos resultados significativos. A interação biológica entre esses dois genes e as vias de ativação androgênica aparenta ser funcionalmente complexa e tem impactos relevantes em desfechos clínicos e mecanismos de resistência à terapia anti-androgênica no câncer de próstata.⁷⁴ Segundo McKay et al, o perfil desfavorável está significativamente associado a maior carga tumoral residual (maior índice RCB) e também à supressão transcripcional do receptor de andrógeno.⁴⁹ Em uma análise molecular extensa de bons respondedores, Tewari et cols ponderam que a inativação de PTEN, geralmente fruto da perda do número de cópias, está fortemente associada com resistência à terapia anti-androgênica e que indivíduos portadores dessa alteração não são os melhores candidatos à TDAi neoadjuvante.⁷⁹ Nossos achados corroboram tais resultados e reforçam o conceito de que o perfil PTEN/ERG desfavorável é um relevante marcador de resistência terapêutica à TDAi neoadjuvante.

Ao mesmo tempo, a ocorrência simultânea de um perfil duplamente desfavorável (bivalente) - PTEN-deficiente e ERG-positivo - no mesmo indivíduo também está associado a um maior volume tumoral residual após TDAi neoadjuvante em comparação a tumores contendo nenhuma ou somente uma única alteração na expressão protéica.⁴⁹ Como podemos ver na **tabela 5** e nos **gráficos 3A e 3B**, sete dos vinte e quatro indivíduos com perfil desfavorável em nossa casuística apresentaram essa alteração combinada de PTEN e ERG. Os indivíduos com perfil duplamente desfavorável (bivalente) exibiram parâmetros piores de resposta patológica (RCB média = 6,255 cm³ e celularidade média = 52,1%) do que os indivíduos portadores de perfil desfavorável simples (RCB média = 2,988 cm³ e celularidade média = 37,3%). O indivíduo ID 55 é especialmente ilustrativo nesse sentido, pois exibiu perfil

esse duplamente desfavorável (bivalente) na biópsia e apresentou a maior carga residual pós-tratamento (RCB = 24,9) de toda a nossa casuística (RCB = 24,9).

É interessante observar ainda que o perfil imuno-histoquímico desfavorável mostrou-se independente de outros marcadores prognósticos conhecidos, tais como o escore de Gleason, o estadiamento patológico e a recorrência bioquímica (vide **tabela 8**). Essa observação está em sintonia com os achados de estudos prévios.⁴⁹⁻⁷²⁻⁷⁹

Dentre as variáveis pós-tratamento, encontramos maior proporção de estadiamento patológico avançado e linfonodos comprometidos no grupo de resposta patológica insatisfatória. Embora seja um resultado até certo ponto esperado, vale lembrar que nenhuma dessas variáveis participa diretamente da composição do RCB. Essa associação entre resposta insatisfatória e doença avançada no espécime cirúrgico corrobora as observações obtidas através dos parâmetros histopatológicos iniciais e indica que resistência terapêutica está diretamente relacionada ao avanço da doença. A literatura sobre esse fenômeno ainda é incipiente. Vale ressaltar que a maior parte dos casos com detecção tardia exibiu um perfil PTEN/ERG desfavorável (vide **tabela 7**).

Ao longo deste estudo, percebemos também a associação de diversas variáveis histopatológicas com a recorrência bioquímica. Considerando as variáveis pré-tratamento, encontramos valores e taxas significativamente maiores de PSA inicial, invasão perineural e carga tumoral no grupo com recorrência bioquímica. Ao mesmo tempo, parâmetros pós-tratamento relacionados à resposta patológica insatisfatória (RCB elevado, celularidade elevada e maior diâmetro tumoral) e à doença avançada (estadio patológico, linfonodos comprometidos e margens cirúrgicas positivas) mostraram associação significativa com recorrência bioquímica no intervalo estudado na análise univariada. Na multivariada, os melhores preditores de recorrência bioquímica a partir da peça cirúrgica foram o acometimento linfonodal e a celularidade. Embora não seja inédita, essa constatação corrobora evidências pregressas que apontam para a resposta patológica e o estadiamento patológico como parâmetros eficazes na predição de desfechos oncológicos.

O intervalo livre de recorrência bioquímica é um preditor independente de mortalidade câncer-específica no CAPLAR.⁸⁰ Segundo Efstathiou et al, a redução no volume tumoral, ou seja, a resposta patológica satisfatória após TDAi neoadjuvante, está relacionada com maior intervalo livre de recorrência bioquímica.⁴⁸ Em uma análise agrupada de ensaios prospectivos, McKay et al demonstraram que a resposta patológica satisfatória gera um impacto significativo e favorável na recorrência bioquímica.⁸¹ Estudos japoneses com neoadjuvância quimiohormonal mostraram resultados semelhantes.⁷¹ Nossos achados apontaram no mesmo sentido e revelaram, adicionalmente, que cada uma das variáveis inseridas na composição da resposta patológica (celularidade, maior diâmetro tumoral e RCB) estiveram independentemente associadas com a recorrência bioquímica. Dentre elas, aquela de maior significado estatístico foi a justamente celularidade, cujo impacto pôde ser observado tanto durante a análise univariada quanto a multivariada.

Portanto, podemos afirmar que aqueles indivíduos com resposta patológica satisfatória tendem a evoluir de modo mais favorável em termos de recidiva bioquímica quando comparados àqueles com resposta patológica insatisfatória. Seguindo esse raciocínio, seria natural nos questionarmos se haveria benefício oncológico ao se adicionar a neoadjuvância à prostatectomia radical no cenário CAPLAR. Embora o presente estudo não tenha sido desenhado com esse objetivo, optamos por ampliar nossa análise para um âmbito exploratório e realizamos uma análise comparativa utilizando dados referentes a uma coorte concorrente.

Nessa análise comparativa, observamos índices equivalentes de recidiva bioquímica global e intervalo livre de recorrência bioquímica em ambos os grupos (vide **tabela 12**). Um estudo prospectivo recente direcionado a essa finalidade específica demonstrou que a neoadjuvância quimiohormonal seguida de RP não foi superior à RP *upfront* no intervalo estudado.⁸² Outros desfechos oncológicos, porém, exibiram curvas favoráveis à intervenção neoadjuvante durante a evolução do ensaio clínico.⁸² Os autores ponderam que seus resultados podem ter sido prejudicados em função de um desfecho primário curto (três anos) e do uso precoce de radioterapia de resgate.⁸² Mais recentemente, outros autores abordaram o mesmo tópico e chegaram a

conclusões opostas. Em um estudo prospectivo controlado com uma coorte observacional histórica de prostatectomia *upfront*, Ravi et al encontraram benefício significativo em desfechos cirúrgicos, patológicos e oncológicos intermediários, tais como menor taxa de margens positivas e curvas significativamente mais favoráveis de sobrevida livre de recorrência bioquímica e sobrevida livre de metástase para indivíduos tratados com TDAi neoadjuvante.⁸³ Estudos prospectivos mais robustos, contendo casuísticas maiores e intervalos mais longos de seguimento, serão necessários para esclarecer essa questão controversa.

As diferenças mais consistentes que encontramos na análise comparativa foram justamente referentes aos parâmetros patológicos. Em primeiro lugar, o peso médio final da próstata foi substancialmente menor na coorte experimental, tendo apresentado um peso médio 34% menor em relação ao peso médio da coorte concorrente. Para o melhor de nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que demonstrou diferença no peso médio da próstata nesse contexto. Em segundo lugar, a taxa de margem positiva também foi significativamente menor na coorte experimental em relação à coorte concorrente. Houve ainda uma tendência a maior taxa de doença localizada na coorte experimental, embora não tenha atingido significância estatística. Nossos resultados estão em sintonia com aqueles obtidos por Shelley et cols em uma revisão sistemática de ensaios de neoadjuvância com terapia de deprivação androgênica convencional seguidos de RP, indicando que os benefícios cirúrgicos e patológicos da neoadjuvância são superiores aos benefícios oncológicos de curto e médio prazo.⁸⁴ Essa constatação permanece como entendimento predominante na literatura e foi discutida mais recentemente por Devos et al.⁴⁵ Ao nosso ver, a neoadjuvância aparenta ser um potencial recurso terapêutico somente para um subgrupo selecionado de indivíduos portadores de CAPLAR (grupo não-branco com perfil imuno-histoquímico favorável) e o seu real benefício oncológico, em termos de controle local no longo prazo, deve ser investigado em novos estudos prospectivos.

O acometimento linfonodal foi um parâmetro patológico pós-tratamento independentemente associado à recidiva bioquímica na análise multivariada.

Todos os indivíduos com linfonodos positivos apresentaram recorrência bioquímica no intervalo de trinta meses. Interessante observar também que nenhum dos bons respondedores (resposta patológica satisfatória) apresentou acometimento linfonodal. A presença de metástases em linfonodos regionais representa o fator de risco mais relevante na predição de recorrência em indivíduos portadores de câncer de próstata localizado tratado cirurgicamente.⁸⁵⁻⁸⁷ Ao mesmo tempo, a carga tumoral nodal correlaciona-se inversamente com desfechos oncológicos.⁸⁶ Apesar do tamanho reduzido de nossa casuística (somente 13 casos com linfonodos positivos), nossos resultados revelaram uma correlação linear negativa entre um dos parâmetros de carga tumoral nodal que estudamos (relação linfonodos positivos / linfonodos totais) e a sobrevida livre de recorrência bioquímica, demonstrando que o valor prognóstico da carga tumoral nodal persiste também no contexto de terapia neoadjuvante.

Diferentes parâmetros patológicos para aferição de carga tumoral nodal já foram estudados no câncer de próstata localizado. Naturalmente, o número total de linfonodos positivos está dentre os mais investigados e alguns defendem que a presença de três ou mais linfonodos comprometidos estaria associada a desfechos oncológicos piores e, portanto, requereria intervenções terapêuticas complementares para controle de doença pélvica locorregional.⁸⁸ Porém, alguns estudos apontam que a carga tumoral micrometastática talvez seja subestimada em decorrência de linfadenectomias subótimas contendo baixo número total de linfonodos dissecados.⁸⁶ Segundo Kluth et al, a probabilidade de não-detecção de uma micrometástase diminui na medida em que o número total de linfonodos dissecados aumenta.⁸⁶ Por isso, alguns defendem que a carga tumoral nodal deve ser avaliada a partir de múltiplos derivativos, com destaque para o número de linfonodos positivos, a relação linfonodos positivos / linfonodos totais e o tamanho do maior foco metastático.⁸⁹⁻⁹⁰ Dentre as variáveis que estudamos, a relação linfonodo positivos / linfonodos totais foi a que apresentou melhor associação estatística com a recorrência bioquímica. Consideramos que a linfadenectomia pélvica estendida proporciona informações prognósticas estratégicas para o

estadiamento patológico e o planejamento terapêutico no CAPLAR e novos estudos prospectivos abordando esse tópico são necessários.

Nosso estudo não está isento de limitações. Vieses de aferição devem ser considerados nas variáveis patológicas pré-tratamento relacionadas às amostras de biópsia por agulha coletadas em diferentes laboratórios externos. Conforme discutido previamente, há significativas limitações inerentes aos métodos de avaliação de resposta patológica em espécimes cirúrgicos, sobretudo no que se refere à estimativa de volume tumoral residual. Além disso, considerando o caráter indolente de evolução da história natural do câncer de próstata, o intervalo de seguimento clínico disponível é sensivelmente curto, de modo que o único desfecho oncológico disponível (recorrência bioquímica) é relativo e talvez insuficiente para verificação de relações prognósticas maiores, reconhecidamente acessíveis no longo prazo através de desfechos oncológicos tardios tais como sobrevida livre de metástase e sobrevida câncer-específica.⁹¹ A ausência de dados referentes ao tempo de recuperação de testosterona representa outro fator limitante da qualidade dos resultados relacionados à recidiva bioquímica. Deve ser mencionado ainda que, embora a neoadjuvância não esteja atrelada a um risco maior de morbidade peri-operatória, houve um aumento do risco relativo de fenômenos tromboembólicos no primeiro mês de seguimento pós-operatório da coorte experimental, conforme detalhado em estudo direcionado conduzido pelos pesquisadores do eixo cirúrgico do projeto PCR2044.⁹² Acredita-se que esse risco adicional seja atribuível à linfadenectomia pélvica estendida.⁹²

Em síntese, realizamos um estudo prospectivo e multidisciplinar com análise centralizada de parâmetros histopatológicos que revelou uma ampla gama de resultados sobre um tema atual e com potencial de impacto clínico-assistencial. Acreditamos que a neoadjuvância no cenário CAPLAR é um recurso seguro e inovador que aprimora alguns parâmetros patológicos importantes. A eficácia terapêutica aferida pela resposta patológica mostrou ser mais evidente em um subgrupo selecionado de indivíduos com perfil PTEN/ERG favorável. Embora limitados e preliminares, nossos resultados apontaram que pode haver espaço para a neoadjuvância com TDAi no cenário CAPLAR.

6. CONCLUSÕES

Nosso estudo permitiu as seguintes conclusões:

i) A avaliação imuno-histoquímica dos marcadores PTEN e ERG em biópsia de próstata por agulha pré-tratamento de portadores de CAPLAR apresentou valor na predição da resposta terapêutica (confirmação da hipótese H^o).

ii) O perfil imuno-histoquímico desfavorável (PTEN-deficiente ou ERG positivo) observado na biópsia por agulha mostrou-se associado à resposta patológica insatisfatória na peça cirúrgica, à detecção tardia da doença e ao grupo racial branco, porém não mostrou associação com recorrência bioquímica.

iii) A resposta patológica satisfatória exibiu associação com menores taxas de recorrência bioquímica no intervalo estudado.

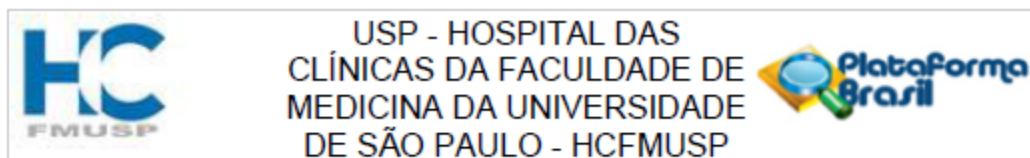
iv) Os demais marcadores imuno-histoquímicos (AR, ARV7, PSMA, p53, Ki67, GlicoR, NKX3.1) não apresentaram associação significativa com parâmetros clínicos ou patológicos.

v) A análise comparativa revelou que a coorte experimental apresentou menor peso médio da próstata e menor taxa de margens positivas em relação à coorte concorrente.

vi) O acometimento de linfonodos regionais mostrou-se positivamente associado às taxas de recorrência bioquímica, de modo que a carga tumoral nodal exibiu correlação linear inversa com o intervalo livre de recorrência bioquímica.

7. ANEXOS

Anexo A: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo de Fase 2 Randomizado de Tratamento Neoadjuvante com Terapia de Deprivação Androgênica e Acetato de Abiraterona Associado ou Não a Apalutamida em Pacientes com Câncer de Próstata Localizado de Alto Risco Candidatos à Prostatectomia Radical

Pesquisador: Diogo Assed Bastos

Área Temática:

Versão: 18

CAAE: 57790216.7.0000.0065

Instituição Proponente: FUNDACAO FACULDADE DE MEDICINA

Patrocinador Principal: JANSSEN-CILAG FARMACEUTICA LTDA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.027.663

Apresentação do Projeto:

Nova documentação foi encaminhada

Objetivo da Pesquisa:

Trata-se da Emenda instituindo alterações no Protocolo do estudo

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem alterações

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A Versão 6.3 do Protocolo (Set/ 2021) foi enviada e justificada

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não se aplica

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 5.027.663

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1831104_E11.pdf	27/09/2021 08:47:33		Aceito
Outros	MM_1699_2021_Emenda_v_6_3.pdf	27/09/2021 08:46:30	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_1699_2021_Emenda_v_6_3.doc	27/09/2021 08:46:01	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_3_de_22SET2021_limpo.pdf	27/09/2021 08:45:17	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_3_de_22SET2021_limpo.docx	27/09/2021 08:44:58	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_3_de_22SET2021_com_a_iteracoes.pdf	27/09/2021 08:44:26	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_3_de_22SET2021_com_a_iteracoes.docx	27/09/2021 08:43:50	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_0104_2021_Resposta_parecer_V_6_2.pdf	28/01/2021 16:02:03	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_0104_2021_Resposta_parecer_V_6_2.docx	28/01/2021 16:01:36	Diogo Assed Bastos	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_4489031_E10.pdf	28/01/2021 14:15:51	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_grupo_controle.pdf	28/01/2021 14:15:40	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_grupo_controle.docx	28/01/2021 14:15:27	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE_grupo_controle.doc	28/01/2021 14:15:15	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	Dispensa_TCLE_grupo_controle.pdf	28/01/2021 14:15:01	Diogo Assed Bastos	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 5.027.663

Ausência	Dispensa_TCLE_grupo_controle.pdf	28/01/2021 14:15:01	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE.pdf	25/11/2020 11:02:41	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_1965_2020_Emenda_v_6_2.pdf	25/11/2020 11:01:15	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_1965_2020_Emenda_v_6_2.doc	25/11/2020 10:59:37	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE.doc	25/11/2020 10:58:54	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_2_de_24NOV2020_limpo.docx	25/11/2020 10:57:39	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_2_de_24NOV2020_com_alteracoes.docx	25/11/2020 10:56:58	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_2_de_24NOV2020_limpo.pdf	25/11/2020 10:55:11	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v6_2_de_24NOV2020_com_alteracoes.pdf	25/11/2020 10:52:55	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_4307465_E9.pdf	01/10/2020 08:56:09	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_1619_2020_Resposta_ao_parecer.pdf	01/10/2020 08:55:56	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v6_1_10_08_2020_track_changes.pdf	12/08/2020 09:09:29	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v6_1_10_08_2020_Limpo.pdf	12/08/2020 09:09:22	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v6_1_10_08_2020_track_changes.docx	12/08/2020 09:07:57	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v6_1_10_08_2020_Limpo.docx	12/08/2020 09:07:52	Diogo Assed Bastos	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 5.027.663

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_V6_1_10_08_2020_track _changes.pdf	12/08/2020 09:07:29	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_V6_1_10_08_2020_Limp o.pdf	12/08/2020 09:07:16	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_V6_1_10_08_2020_track _changes.docx	12/08/2020 09:06:20	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_V6_1_10_08_2020_Limp o.docx	12/08/2020 09:05:30	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_1268_2020_Emenda_v_6_1.pdf	12/08/2020 09:05:14	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_v6_17MAR2020_limpo.d ocx	05/05/2020 10:30:41	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_v6_17MAR2020_alterac oes.docx	05/05/2020 10:30:25	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	Memo_353_Emenda.pdf	05/05/2020 10:30:08	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	QuestionarioADAM.pdf	23/04/2020 10:44:00	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v6_17MAR2020_limpo.docx	23/04/2020 10:43:21	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v6_17MAR2020_alteracoes.docx	23/04/2020 10:43:03	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v5_1_07NOV2019_limpo.pdf	13/11/2019 16:00:28	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v5_1_07NOV2019_limpo.docx	13/11/2019 16:00:18	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v5_1_07NOV2019_alteracoes.pdf	13/11/2019 16:00:12	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_v5_1_07NOV2019_alteracoes.do cx	13/11/2019 16:00:02	Diogo Assed Bastos	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 5.027.663

Ausência	TCLE_v5_1_07NOV2019_alteracoes.docx	13/11/2019 16:00:02	Diogo Assed Bastos	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_3689399_E7.pdf	13/11/2019 15:59:29	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_1608_2019_resposta_ao_parecer.pdf	13/11/2019 15:59:17	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	Memo_EMENDA_1464_2019_assinado.pdf	16/10/2019 14:04:52	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	Questionario_EPIC.docx	16/10/2019 14:04:12	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v5_09OUT2019_limpo.docx	16/10/2019 14:03:48	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v5_09OUT2019_alteracoes.docx	16/10/2019 14:03:42	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_v5_09OUT2019_limpo.docx	16/10/2019 14:03:23	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_v5_09OUT2019_alteracoes.docx	16/10/2019 14:03:13	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MM_0928_2019_protocolo_v4.pdf	18/07/2019 11:14:28	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v4_21JUN2019_track_changes.pdf	18/07/2019 11:14:00	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v4_21JUN2019_track_changes.docx	18/07/2019 11:13:30	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v4_21JUN2019.pdf	18/07/2019 11:13:13	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v4_21JUN2019.docx	18/07/2019 11:13:02	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v4_21JUN2019_track_changes.pdf	18/07/2019 11:12:32	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v4_21JUN2019_track_changes.docx	18/07/2019 11:12:16	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de	TCLE_v4_21JUN2019.pdf	18/07/2019	Diogo Assed Bastos	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 5.027.663

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v4_21JUN2019.pdf	11:12:04	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v4_21JUN2019.docx	18/07/2019 11:11:55	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v3_3_limpo.docx	05/10/2018 09:28:29	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v_comparada_v3_3_v3_2_alteracoes_destacadas.docx	05/10/2018 09:28:14	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v_comparada_v3_3_v3_2_alteracoes_destacadas.docx	05/10/2018 09:27:30	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_v3_3_limpo.docx	05/10/2018 09:27:19	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
Outros	MM1458_Emenda.pdf	05/10/2018 09:27:01	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
Outros	MEMO_1071_18.pdf	27/07/2018 11:13:04	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_altdestacadas_3_2vs3_1.docx	27/07/2018 11:12:24	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_final_3_2.pdf	27/07/2018 11:12:13	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_altdestacadas_v3_2_vs_v3_1.docx	27/07/2018 11:11:34	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_final_v3_2.pdf	27/07/2018 11:11:27	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_v3_1_22_Junho_2018_LIMPO.pdf	25/06/2018 14:45:13	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_comparado_v2_v3_1_22_Junho_2018_ALT_DE.pdf	25/06/2018 14:44:18	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 5.027.663

Ausência	TCLE_comparado_v2_v3_1_22_Junho_2018_ALT_DE.pdf	25/06/2018 14:44:18	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_v3_1_22_Junho_2018_L IMPO.pdf	25/06/2018 14:42:52	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROTOCOLO_comparado_v2_v3_1_22 _Junho_2018_ALT_DE.pdf	25/06/2018 14:42:36	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
Outros	Memo_856_Emenda_3_1.pdf	25/06/2018 14:27:05	INGRID PEREIRA RODRIGUES BARBOSA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	memo_icesp_564_2018.pdf	20/04/2018 09:42:22	Diogo Assed Bastos	Aceito
Outros	MemolCESP_1296_2017.pdf	31/10/2017 11:13:10	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Apalutamida_NP779_15_v2_30o ut2017_TC.pdf	31/10/2017 11:12:41	Diogo Assed Bastos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Apalutamida_NP779_15_v2_30o ut2017_limpo.pdf	31/10/2017 11:12:01	Diogo Assed Bastos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_Apalutamida_V2_alt_destaca das.docx	31/08/2017 16:17:36	Mariana Nigro Fiuza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_Apalutamida_V2_01mar2017. docx	31/08/2017 16:17:26	Mariana Nigro Fiuza	Aceito
Outros	MM_0629_2016_Declaracao_ref_aNAO assinatura na FR.pdf	22/06/2016 10:17:52	Diogo Assed Bastos	Aceito
Folha de Rosto	MM_0629_2016_FR_assinada.pdf	22/06/2016 10:11:06	Diogo Assed Bastos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 5.027.663

SAO PAULO, 08 de Outubro de 2021

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Página 08 de 08

Anexo B. Emenda do investigador principal: ensaio PCR2044



Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa CAPPesq



Memo Pesquisa ICESP 1268/2020

FORMULÁRIO PARA SUBMISSÃO DE EMENDAS E BROCHURAS

Título do Protocolo de Pesquisa: Estudo de Fase 2 Randomizado de Tratamento Neoadjuvante com Terapia de Deprivação Androgênica e Acetato de Abiraterona Associado ou Não a Apalutamida em Pacientes com Câncer de Próstata Localizado de Alto Risco Candidatos à Prostatectomia Radical.

Nº CAAE: 57790216.7.0000.0065

Nome do Pesquisador Responsável: Dr. Diogo Assed Bastos

Local/Departamento/Serviço: ICESP / Pesquisa Clínica

- 1) Listar documentos, informando data e versão que estão sendo entregues à CAPPesq;
- 2) Termo de Consentimento versão 6.1 de 10 de Agosto de 2020 com alterações;
- 3) Termo de Consentimento versão 6.1 de 10 de Agosto de 2020 versão limpa;
- 4) Protocolo versão 6.1 de 10 de Agosto de 2020 com alterações;
- 5) Protocolo versão 6.1 de 10 de Agosto de 2020 versão limpa;
- 6) Informar quais as modificações propostas em relação ao projeto aprovado pela CAPPesq

Item do projeto aprovado pela CAPPesq	Alteração
<ul style="list-style-type: none">• Protocolo versão 6 de 17 de Março de 2020;• TCLE versão 6 de 17 de Março de 2020.	Resumo de alterações do protocolo: <ul style="list-style-type: none">• Inclusão da descrição das análises exploratórias translacionais que serão realizadas nas amostras coletadas pelo biobanco dos pacientes do estudo.• Atualização das análises de imuno-histoquímicas a serem realizadas no setor de Anatomia Patológica, sendo parte do

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
Fone: 2661-7585-2661-1548-2661-1549 - e-mail: cappesq_adm@hc.fm.usp.br

Atualizado-12-04-17-matc



Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa CAPPesq



- projeto de doutorado do sub-investigador Leonardo Cardili sob orientação da Dra. Kátia Leite.
- Correção nas janelas dos exames clínicos, sinais vitais e aplicação de questionário ADAM no screening.

Resumo de alterações do Termo de Consentimento:

- Inserido informação da finalidade da utilização do material biológico, incluindo as amostras colhidas armazenadas no biobanco.

7) Proceda a uma análise crítica dessas alterações, avaliando em que medida elas implicam aumento de risco para os voluntários da pesquisa. Informe que as alterações mencionadas não trarão riscos adicionais aos pacientes e não afetarão o andamento do estudo.

8) Conclusão: (informar se a pesquisa deve continuar no Complexo HCFMUSP com essas modificações)

A pesquisa deve prosseguir.

Data: 11 / 08 / 2020

Diogo Assed Bastos

Assinatura do(a) Pesquisador(a) Responsável e número de registro no Conselho de sua categoria profissional (CRM, COREN ou número de RG)

Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5º andar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP.
Fone: 2661-7585-2661-1548-2661-1549 - e-mail: cappesq_adm@hc.fm.usp.br

Atualizado-12-04-17-matc

Anexo C. Protocolo institucional de pesquisa clínica (capa)

Instituto do Câncer de São Paulo

Protocolo Clínico

Estudo de Fase 2 Randomizado de Tratamento Neoadjuvante com Terapia de Deprivação Androgênica e Acetato de Abiraterona Associado ou Não a Apalutamida em Pacientes com Câncer de Próstata Localizado de Alto Risco Candidatos à Prostatectomia Radical

Protocolo [NP 779/15] – Versão 6.3
ICESP (Acetato de Abiraterona/Apalutamida)

Situação: Aprovado
Data: 22 de Setembro de 2021
Preparado por: CoreBoxLtda

Patrocinador do Estudo: Instituto do Câncer do Estado de São Paulo
Rua Dr. Arnaldo 251 – Cerqueira César
São Paulo – SP – CEP: 01246-000

Empresa colaboradora: Janssen Research & Development, LLC
Representado no Brasil por: Janssen-Cilag Farmacêutica Ltda.
Rua Gerivatiba, 207 – 9º andar – Butantã
São Paulo – SP – CEP: 055001-900

Conformidade: O presente estudo será conduzido em conformidade com esse protocolo, com as Boas Práticas Clínicas e com os requerimentos regulatórios aplicáveis

Declaração de Confidencialidade

As informações desse documento contêm segredos de negócio e informações comerciais que são privilegiadas ou confidenciais e não podem ser compartilhadas a menos que por exigência da lei ou regulação. Em qualquer situação, as pessoas que tiverem acesso as informações devem ser informadas que a informação é privilegiada ou confidencial e não pode ser compartilhada por eles para outros. Essas restrições se aplicarão igualmente para *todas* informações futuras fornecidas para você que será indicada como *privilegiada* ou *confidencial*.

8. REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional Do Câncer (INCA). *Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro. INCA, 2019.
2. Adams J. *The case of scirrhus of the prostate gland with corresponding affliction of the lymphatic glands in the lumbar region and in the pelvis*. Lancet. 1853; 1, 393.
3. Denmeade SR, Isaacs JT. *A history of prostate cancer treatment*. Nat Rev Cancer. 2002;2(5):389-396.
4. Young HH. *Four cases of radical prostatectomy*. Johns Hopkins Bull. 1905; 16, 315.
5. Huggins CB, Hodges CV. *Studies on prostate cancer: 1. The effects of castration, of estrogen and androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate*. Cancer Res. 1941; 1, 203.
6. Huggins CB, Stephens RC, Hodges CV. *Studies on prostatic cancer: 2. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland*. Arch. Surg. 1941; 43, 209.
7. Veterans Administration Cooperative Urological Research Group. *Treatment and survival of patients with cancer of the prostate*. Surg. Gynecol. Obstet. 1967;124,1011.
8. Schally AV, Kastin AJ, Arimura A. *Hypothalamic FSH and LH-regulating hormone. Structure, physiology and clinical studies*. Fertil. Steril. 1971; 22,703–721.
9. Vilchez-Martinez JA, Pedroza E, Arimura A, Schally AV. *Paradoxical effects of D-Trp6-luteinizing hormone-releasing hormone on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in immature female rats*. Fertil. Steril. 1979.31,677–682.
10. Tolis G, Ackman D, Stellos A, Mehta A, Labrie F, Fazekas AT, Comaru-Schally AM, Schally AV. *Tumor growth inhibition in patients with prostatic carcinoma treated with luteinizing hormone-releasing hormone agonists*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1982 Mar;79(5):1658-62.
11. The Leuprolide Study Group. *Leuprolide versus diethylstilbestrol for metastatic prostate cancer*. N. Engl. J. Med. 1984; 311,1281–1286.
12. Pont A, Williams PL, Loose DS, Feldman D, Reitz RE, Bochra C, Stevens DA. *Ketoconazole blocks adrenal steroid synthesis*. Ann Intern Med. 1982 Sep;97(3):370-2.
13. Varenhorst E, Wallentin L, Carlstrom K. *The effects of orchidectomy, estrogens, and cyproterone acetate on plasma testosterone, LH, and FSH concentrations in patients with carcinoma of the prostate*. Scand. J. Urol. Nephrol. 1982;16,31–36.
14. Pavone-Macaluso M, de Voogt HJ, Viggiano G, Barasolo E, Lardennois B, de Pauw M, Sylvester R. *Comparison of diethylstilbestrol, cyproterone acetate and medroxyprogesterone acetate in the treatment of advanced prostatic cancer: final analysis of a randomized phase III trial of the European Organization for Research on Treatment of Cancer Urological Group*. J Urol. 1986 Sep;136(3):624-31.
15. Chodak G, Sharifi R, Kasimis B, Block NL, Macramalla E, Kennealey GT. *Single-agent therapy with bicalutamide: a comparison with medical or surgical castration in the treatment of advanced prostate carcinoma*. Urology. 1995 Dec;46(6):849-55.

16. Walsh PC, Lepor H, Eggleston JC. *Radical prostatectomy with preservation of sexual function: anatomical and pathological considerations*. Prostate. 1983, 4:473–485.
17. Millin T. Retropubic prostatectomy; a new extravesical technique; report of 20 cases. Lancet. 1945 Dec 1;2(6380):693-6.
18. Papsidero LD, Wang MC, Valenzuela LA, Murphy GP, Chu TM. A prostate antigen in sera of prostatic cancer patients. Cancer Res. 1980 Jul;40(7):2428-32.
19. Kuriyama M, Wang MC, Lee CI, Papsidero LD, Killian CS, Inaji H, Slack NH, Nishiura T, Murphy GP, Chu TM. Use of human prostate-specific antigen in monitoring prostate cancer. Cancer Res. 1981 Oct;41(10):3874-6.
20. Ragde H, Aldape HC, Bagley CM Jr. Ultrasound-guided prostate biopsy. Biopsy gun superior to aspiration. Urology. 1988 Dec;32(6):503-6.
21. Bastian PJ, Boorjian SA, Bossi A, Briganti A, Heidenreich A, Freedland SJ, Montorsi F, Roach M 3rd, Schröder F, van Poppel H, Stief CG, Stephenson AJ, Zelefsky MJ. High-risk prostate cancer: from definition to contemporary management. Eur Urol. 2012 Jun;61(6):1096-106.
22. Faisal FA, Sundi D, Cooper JL, Humphreys EB, Partin AW, Han M, Ross AE, Schaeffer EM. Racial disparities in oncologic outcomes after radical prostatectomy: long-term follow-up. Urology. 2014 Dec;84(6):1434-41.
23. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, Tomaszewski JE, Renshaw AA, Kaplan I, Beard CJ, Wein A. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. JAMA. 1998 Sep 16;280(11):969-74.
24. Joniau S, Tosco L, Briganti A, Vanden Broeck T, Gontero P, Karnes RJ, Spahn M, Van Poppel H; European Multicenter Prostate Cancer Clinical and Translational research group. Results of surgery for high-risk prostate cancer. Curr Opin Urol. 2013 Jul;23(4):342-8.
25. Meyer F, Moore L, Bairati I, Lacombe L, Têtu B, Fradet Y. Neoadjuvant hormonal therapy before radical prostatectomy and risk of prostate specific antigen failure. J Urol. 1999 Dec;162(6):2024-8.
26. Fair WR, Cookson MS, Stroumbakis N, Cohen D, Aprikian AG, Wang Y, Russo P, Soloway SM, Sogani P, Sheinfeld J, Herr H, Dalgabni G, Begg CB, Heston WD, Reuter VE. The indications, rationale, and results of neoadjuvant androgen deprivation in the treatment of prostatic cancer: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center results. Urology. 1997 Mar;49(3A Suppl):46-55.
27. Soloway MS, Pareek K, Sharifi R, Wajzman Z, McLeod D, Wood DP Jr, Puras-Baez A; Lupron Depot Neoadjuvant Prostate Cancer Study Group. Neoadjuvant androgen ablation before radical prostatectomy in cT2bNxMo prostate cancer: 5-year results. J Urol. 2002 Jan;167(1):112-6.

28. Aus G, Abrahamsson PA, Ahlgren G, Hugosson J, Lundberg S, Schain M, Schelin S, Pedersen K. Hormonal treatment before radical prostatectomy: a 3-year followup. *J Urol.* 1998 Jun;159(6):2013-6; discussion 2016-7.
29. Mostaghel EA, Page ST, Lin DW, Fazli L, Coleman IM, True LD, Knudsen B, Hess DL, Nelson CC, Matsumoto AM, Bremner WJ, Gleave ME, Nelson PS. Intraprostatic androgens and androgen-regulated gene expression persist after testosterone suppression: therapeutic implications for castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res.* 2007 May 15;67(10):5033-41.
30. Attard G, Reid AH, Yap TA, Raynaud F, Dowsett M, Settatee S, Barrett M, Parker C, Martins V, Folkard E, Clark J, Cooper CS, Kaye SB, Dearnaley D, Lee G, de Bono JS. Phase I clinical trial of a selective inhibitor of CYP17, abiraterone acetate, confirms that castration-resistant prostate cancer commonly remains hormone driven. *J Clin Oncol.* 2008 Oct 1;26(28):4563-71.
31. Taplin ME, Montgomery B, Logothetis CJ, Bublely GJ, Richie JP, Dalkin BL, Sanda MG, Davis JW, Loda M, True LD, Troncoso P, Ye H, Lis RT, Marck BT, Matsumoto AM, Balk SP, Mostaghel EA, Penning TM, Nelson PS, Xie W, Jiang Z, Haqq CM, Tamae D, Tran N, Peng W, Kheoh T, Molina A, Kantoff PW. Intense androgen-deprivation therapy with abiraterone acetate plus leuprolide acetate in patients with localized high-risk prostate cancer: results of a randomized phase II neoadjuvant study. *J Clin Oncol.* 2014 Nov 20;32(33):3705-15.
32. O'Donnell A, Judson I, Dowsett M. *Hormonal impact of the 17alpha-hydroxylase/C17,20-lyase inhibitor acetato de abiraterona (CB7630) in patients with prostate cancer.* *Br J Cancer.* 2004, 90:2317-2325.
33. Van Allen EM, Ryan CJ. *Novel secondary hormonal therapy in advanced prostate cancer: an update.* *Curr Opin Urol.* 2009, 19(3):315-21.
34. Scher HI, Sawyers CL. *Biology of progressive, castration-resistant prostate cancer: directed therapies targeting the androgen-receptor signaling axis.* *J Clin Oncol.* 2005, 23(32):8253-61.
35. Bonkhoff H, Berges R. *From pathogenesis to prevention of castration resistant prostate cancer.* *Prostate.* 2010, 70(1):100-12.
36. Montgomery RB, Mostaghel EA, Vessella R. *Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: a mechanism for castration-resistant tumor growth.* *Cancer Res.* 2008, 68:4447-4454.
37. Fizazi K, Scher HI, Molina A, Logothetis CJ, Chi KN, Jones RJ, Staffurth JN, North S, Vogelzang NJ, Saad F, Mainwaring P, Harland S, Goodman OB Jr, Sternberg CN, Li JH, Kheoh T, Haqq CM, de Bono JS; COU-AA-301 Investigators. Abiraterone acetate for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer: final overall survival analysis of the COU-AA-301 randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2012 Oct;13(10):983-92. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70379-0.

38. Clegg NJ, Wongvipat J, Joseph JD, Tran C, Ouk S, Dilhas A, Chen Y, Grillot K, Bischoff ED, Cai L, Aparicio A, Dorow S, Arora V, Shao G, Qian J, Zhao H, Yang G, Cao C, Sensintaffar J, Wasielewska T, Herbert MR, Bonnefous C, Darimont B, Scher HI, Smith-Jones P, Klang M, Smith ND, De Stanchina E, Wu N, Ouerfelli O, Rix PJ, Heyman RA, Jung ME, Sawyers CL, Hager JH. ARN-509: a novel antiandrogen for prostate cancer treatment. *Cancer Res.* 2012 Mar 15;72(6):1494-503.
39. Bambury RM, Rathkopf DE. Novel and next-generation androgen receptor-directed therapies for prostate cancer: Beyond abiraterone and enzalutamide. *Urol Oncol.* 2016 Aug;34(8):348-55.
40. Rathkopf DE, Morris MJ, Fox JJ, Danila DC, Slovin SF, Hager JH, Rix PJ, Chow Maneval E, Chen I, Gönen M, Fleisher M, Larson SM, Sawyers CL, Scher HI. Phase I study of ARN-509, a novel antiandrogen, in the treatment of castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2013 Oct 1;31(28):3525-30.
41. DeBono JS, Logothetis CJ, Molina A, Fizazi K, North S, Chu L, Chi KN, Jones RJ, Goodman OB Jr, Saad F, Staffurth JN, Mainwaring P, Harland S, Flaig TW, Hutson TE, Cheng T, Patterson H, Hainsworth JD, Ryan CJ, Sternberg CN, Ellard SL, Fléchon A, Saleh M, Scholz M, Efstathiou E, Zivi A, Bianchini D, Loriot Y, Chieffo N, Kheoh T, Haqq CM, Scher HI; COU-AA-301 Investigators. Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med.* 2011 May 26;364(21):1995-2005.
42. Ryan CJ, Smith MR, de Bono JS, Molina A, Logothetis CJ, de Souza P, Fizazi K, Mainwaring P, Piulats JM, Ng S, Carles J, Mulders PF, Basch E, Small EJ, Saad F, Schrijvers D, Van Poppel H, Mukherjee SD, Suttman H, Gerritsen WR, Flaig TW, George DJ, Yu EY, Efstathiou E, Pantuck A, Winkquist E, Higano CS, Taplin ME, Park Y, Kheoh T, Griffin T, Scher HI, Rathkopf DE; COU-AA-302 Investigators. Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. *N Engl J Med.* 2013 Jan 10;368(2):138-48.
43. Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, Sternberg CN, Miller K, de Wit R, Mulders P, Chi KN, Shore ND, Armstrong AJ, Flaig TW, Fléchon A, Mainwaring P, Fleming M, Hainsworth JD, Hirmand M, Selby B, Seely L, de Bono JS; AFFIRM Investigators. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med.* 2012 Sep 27;367(13):1187-97.
44. Beer TM, Tombal B. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N Engl J Med.* 2014 Oct 30;371(18):1755-6.
45. Devos G, Devlies W, De Meerleer G, Baldewijns M, Gevaert T, Moris L, Milonas D, Van Poppel H, Berghen C, Everaerts W, Claessens F, Joniau S. Neoadjuvant hormonal therapy before radical prostatectomy in high-risk prostate cancer. *Nat Rev Urol.* 2021 Dec;18(12):739-762.
46. Cancer Genome Atlas Research Network. The Molecular Taxonomy of Primary Prostate Cancer. *Cell.* 2015;163(4):1011-1025.

47. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F, Drier Y, Cibulskis K, Sivachenko AY, Sboner A, Esgueva R, Pflueger D, Sougnez C, Onofrio R, Carter SL, Park K, Habegger L, Ambrogio L, Fennell T, Parkin M, Saksena G, Voet D, Ramos AH, Pugh TJ, Wilkinson J, Fisher S, Winckler W, Mahan S, Ardlie K, Baldwin J, Simons JW, Kitabayashi N, MacDonald TY, Kantoff PW, Chin L, Gabriel SB, Gerstein MB, Golub TR, Meyerson M, Tewari A, Lander ES, Getz G, Rubin MA, Garraway LA. The genomic complexity of primary human prostate cancer. *Nature*. 2011 Feb 10;470(7333):214-20.
48. Efsthathiou E, Davis JW, Pisters L, Li W, Wen S, McMullin RP, Gormley M, Ricci D, Titus M, Hoang A, Zurita AJ, Tran N, Peng W, Kheoh T, Molina A, Troncoso P, Logothetis CJ. Clinical and Biological Characterisation of Localised High-risk Prostate Cancer: Results of a Randomised Preoperative Study of a Luteinising Hormone-releasing Hormone Agonist with or Without Abiraterone Acetate plus Prednisone. *Eur Urol*. 2019 Oct;76(4):418-424.
49. McKay RR, Ye H, Xie W, Lis R, Calagua C, Zhang Z, Trinh QD, Chang SL, Harshman LC, Ross AE, Pienta KJ, Lin DW, Ellis WJ, Montgomery B, Chang P, Wagner AA, Bublely GJ, Kibel AS, Taplin ME. Evaluation of Intense Androgen Deprivation Before Prostatectomy: A Randomized Phase II Trial of Enzalutamide and Leuprolide With or Without Abiraterone. *J Clin Oncol*. 2019 Apr 10;37(11):923-931.
50. Epstein JI, Egevad L, Humphrey PA, Montironi R; Members of the ISUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group. *Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference*. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(8):6-19.
51. Efsthathiou E, Titus M, Wen S, Hoang A, Karlou M, Ashe R, Tu SM, Aparicio A, Troncoso P, Mohler J, Logothetis CJ. Molecular characterization of enzalutamide-treated bone metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol*. 2015 Jan;67(1):53-60.
52. Gurel B, Ali TZ, Montgomery EA, Begum S, Hicks J, Goggins M, Eberhart CG, Clark DP, Bieberich CJ, Epstein JI, De Marzo AM. NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am J Surg Pathol*. 2010 Aug;34(8):1097-105.
53. Nicolaidis NC, Chrousos G, Kino T. Glucocorticoid Receptor. *Comprehensive Endocrinology Book*. 2021 Nov. Endotext [Internet].
54. Armenia J, Wankowicz SAM, Liu D, Gao J, Kundra R, Reznik E, Chatila WK, Chakravarty D, Han GC, Coleman I, Montgomery B, Pritchard C, Morrissey C, Barbieri CE, Beltran H, Sboner A, Zafeiriou Z, Miranda S, Bielski CM, Penson AV, Tolonen C, Huang FW, Robinson D, Wu YM, Lonigro R, Garraway LA, Demichelis F, Kantoff PW, Taplin ME, Abida W, Taylor BS, Scher HI, Nelson PS, de Bono JS, Rubin MA, Sawyers CL, Chinnaiyan AM; PCF/SU2C International Prostate Cancer Dream Team, Schultz N, Van Allen EM. The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. *Nat Genet*. 2018 May;50(5):645-651.

55. Tomlins SA, Bjartell A, Chinnaiyan AM, Jenster G, Nam RK, Rubin MA, Schalken JA. ETS gene fusions in prostate cancer: from discovery to daily clinical practice. *Eur Urol*. 2009 Aug;56(2):275-86.
56. Marchal C, Redondo M, Padilla M, Caballero J, Rodrigo I, García J, Quian J, Boswick DG. Expression of prostate specific membrane antigen (PSMA) in prostatic adenocarcinoma and prostatic intraepithelial neoplasia. *Histol Histopathol*. 2004 Jul;19(3):715-8.
57. Pierorazio PM, Walsh PC, Partin AW, Epstein JI. Prognostic Gleason grade grouping: data based on the modified Gleason scoring system. *BJU Int*. 2013 May;111(5):753-60.
58. Cornejo KM, Rice-Stitt T, Wu CL. Updates in Staging and Reporting of Genitourinary Malignancies. *Arch Pathol Lab Med*. 2020 Mar;144(3):305-319.
59. Welti J, Rodrigues DN, Sharp A, Sun S, Lorente D, Riisnaes R, Figueiredo I, Zafeiriou Z, Rescigno P, de Bono JS, Plymate SR. Analytical Validation and Clinical Qualification of a New Immunohistochemical Assay for Androgen Receptor Splice Variant-7 Protein Expression in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2016 Oct;70(4):599-608.
60. Spieker AJ, Gordetsky JB, Maris AS, Dehan LM, Denney JE, Arnold Egloff SA, Scarpato K, Barocas DA, Giannico GA. PTEN expression and morphological patterns in prostatic adenocarcinoma. *Histopathology*. 2021 Dec;79(6):1061-1071.
61. Hashmi AA, Khan EY, Irfan M, Ali R, Asif H, Naeem M, Nisar L, Faridi N, Khan A, Edhi MM. ERG oncoprotein expression in prostatic acinar adenocarcinoma; clinicopathologic significance. *BMC Res Notes*. 2019 Jan 18;12(1):35.
62. Woythal N, Arsenic R, Kempkensteffen C, Miller K, Janssen JC, Huang K, Makowski MR, Brenner W, Prasad V. Immunohistochemical Validation of PSMA Expression Measured by ⁶⁸Ga-PSMA PET/CT in Primary Prostate Cancer. *J Nucl Med*. 2018 Feb;59(2):238-243.
63. Gan Q, Joseph CT, Guo M, Zhang M, Sun X, Gong Y. Utility of NKX3.1 Immunostaining in the Detection of Metastatic Prostatic Carcinoma on Fine-Needle Aspiration Smears. *Am J Clin Pathol*. 2019 Sep 9;152(4):495-501.
64. Efstathiou E, Abrahams NA, Tibbs RF, Wang X, Pettaway CA, Pisters LL, Mathew PF, Do KA, Logothetis CJ, Troncoso P. Morphologic characterization of preoperatively treated prostate cancer: toward a post-therapy histologic classification. *Eur Urol*. 2010 Jun;57(6):1030-8.
65. Têtu B. Morphological changes induced by androgen blockade in normal prostate and prostatic carcinoma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2008 Apr;22(2):271-83.
66. Murphy C, True L, Vakar-Lopez F, Xia J, Gulati R, Montgomery B, Tretiakova M. A Novel System for Estimating Residual Disease and Pathologic Response to Neoadjuvant Treatment of Prostate Cancer. *Prostate*. 2016 Oct;76(14):1285-92.
67. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, Bonnefoi H, Cameron D, Gianni L, Valagussa P, Swain SM, Prowell T, Loibl S, Wickerham DL,

- Bogaerts J, Baselga J, Perou C, Blumenthal G, Blohmer J, Mamounas EP, Bergh J, Semiglazov V, Justice R, Eidtmann H, Paik S, Piccart M, Sridhara R, Fasching PA, Slaets L, Tang S, Gerber B, Geyer CE Jr, Pazdur R, Ditsch N, Rastogi P, Eiermann W, von Minckwitz G. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014 Jul 12;384(9938):164-72.
68. Peintinger F, Sinn B, Hatzis C, Albarracin C, Downs-Kelly E, Morkowski J, Gould R, Symmans WF. Reproducibility of residual cancer burden for prognostic assessment of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Mod Pathol*. 2015 Jul;28(7):913-20.
69. Rödel C, Martus P, Papadopoulos T, Füzesi L, Klimpfinger M, Fietkau R, Liersch T, Hohenberger W, Raab R, Sauer R, Wittekind C. Prognostic significance of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Dec 1;23(34):8688-96.
70. Narita S, Tsuchiya N, Kumazawa T, Maita S, Numakura K, Obara T, Tsuruta H, Saito M, Inoue T, Horikawa Y, Satoh S, Nanjyo H, Habuchi T. Short-term clinicopathological outcome of neoadjuvant chemohormonal therapy comprising complete androgen blockade, followed by treatment with docetaxel and estramustine phosphate before radical prostatectomy in Japanese patients with high-risk localized prostate cancer. *World J Surg Oncol*. 2012 Jan 4;10:1.
71. Sasaki T, Nishikawa K, Kato M, Masui S, Yoshio Y, Sugimura Y, Inoue T. Neoadjuvant Chemohormonal Therapy before Radical Prostatectomy for Japanese Patients with High-Risk Localized Prostate Cancer. *Med Sci (Basel)*. 2021 Apr 9;9(2):24.
72. Devos G, Tosco L, Baldewijns M, Gevaert T, Goffin K, Petit V, Mai C, Laenen A, Raskin Y, Van Haute C, Goeman L, De Meerleer G, Berghen C, Devlies W, Claessens F, Van Poppel H, Everaerts W, Joniau S. ARNEO: A Randomized Phase II Trial of Neoadjuvant Degarelix with or Without Apalutamide Prior to Radical Prostatectomy for High-risk Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2022 Sep 24:S0302-2838(22)02638-0.
73. McMenamin ME, Soung P, Perera S, Kaplan I, Loda M, Sellers WR. Loss of PTEN expression in paraffin-embedded primary prostate cancer correlates with high Gleason score and advanced stage. *Cancer Res*. 1999 Sep 1;59(17):4291-6.
74. Jamaspishvili T, Berman DM, Ross AE, Scher HI, De Marzo AM, Squire JA, Lotan TL. Clinical implications of PTEN loss in prostate cancer. *Nat Rev Urol*. 2018 Apr;15(4):222-234.
75. Chaux A, Peskoe SB, Gonzalez-Roibon N, Schultz L, Albadine R, Hicks J, De Marzo AM, Platz EA, Netto GJ. Loss of PTEN expression is associated with increased risk of recurrence after prostatectomy for clinically localized prostate cancer. *Mod Pathol*. 2012 Nov;25(11):1543-9.
76. Khani F, Mosquera JM, Park K, Blattner M, O'Reilly C, MacDonald TY, Chen Z, Srivastava A, Tewari AK, Barbieri CE, Rubin MA, Robinson BD. Evidence for molecular differences in prostate cancer between African American and Caucasian men. *Clin Cancer Res*. 2014 Sep 15;20(18):4925-34.

77. Tosoian JJ, Almutairi F, Morais CL, Glavaris S, Hicks J, Sundi D, Humphreys E, Han M, De Marzo AM, Ross AE, Tomlins SA, Schaeffer EM, Trock BJ, Lotan TL. Prevalence and Prognostic Significance of PTEN Loss in African-American and European-American Men Undergoing Radical Prostatectomy. *Eur Urol.* 2017 May;71(5):697-700.
78. Lindquist KJ, Paris PL, Hoffmann TJ, Cardin NJ, Kazma R, Mefford JA, Simko JP, Ngo V, Chen Y, Levin AM, Chitale D, Helfand BT, Catalona WJ, Rybicki BA, Witte JS. Mutational Landscape of Aggressive Prostate Tumors in African American Men. *Cancer Res.* 2016 Apr 1;76(7):1860-8.
79. Tewari AK, Cheung ATM, Crowdis J, Conway JR, Camp SY, Wankowicz SA, Livitz DG, Park J, Lis RT, Bosma-Moody A, He MX, AlDubayan SH, Zhang Z, McKay RR, Leshchiner I, Brown M, Balk SP, Getz G, Taplin ME, Van Allen EM. Molecular features of exceptional response to neoadjuvant anti-androgen therapy in high-risk localized prostate cancer. *Cell Rep.* 2021 Sep 7;36(10):109665.
80. Briganti A, Karnes RJ, Gandaglia G, Spahn M, Gontero P, Tosco L, Kneitz B, Chun FK, Zaffuto E, Sun M, Graefen M, Marchioro G, Frohneberg D, Giona S, Karakiewicz PI, Van Poppel H, Montorsi F, Joniau S; European Multicenter Prostate Cancer Clinical and Translational Research Group (EMPaCT). Natural history of surgically treated high-risk prostate cancer. *Urol Oncol.* 2015 Apr;33(4):163.e7-13.
81. McKay RR, Berchuck J, Kwak L, Xie W, Silver R, Bublely GJ, Chang PK, Wagner A, Zhang Z, Kibel AS, Taplin ME. Outcomes of Post-Neoadjuvant Intense Hormone Therapy and Surgery for High Risk Localized Prostate Cancer: Results of a Pooled Analysis of Contemporary Clinical Trials. *J Urol.* 2021 Jun;205(6):1689-1697.
82. Eastham JA, Heller G, Halabi S, Monk JP 3rd, Beltran H, Gleave M, Evans CP, Clinton SK, Szmulewitz RZ, Coleman J, Hillman DW, Watt CR, George S, Sanda MG, Hahn OM, Taplin ME, Parsons JK, Mohler JL, Small EJ, Morris MJ. Cancer and Leukemia Group B 90203 (Alliance): Radical Prostatectomy With or Without Neoadjuvant Chemohormonal Therapy in Localized, High-Risk Prostate Cancer. *J Clin Oncol.* 2020 Sep 10;38(26):3042-3050.
83. Ravi P, Kwak L, Xie W, Kelleher K, Acosta AM, McKay RR, Kibel AS, Taplin ME. Neoadjuvant Novel Hormonal Therapy Followed by Prostatectomy versus Up-Front Prostatectomy for High-Risk Prostate Cancer: A Comparative Analysis. *J Urol.* 2022 Oct;208(4):838-845.
84. Shelley MD, Kumar S, Wilt T, Staffurth J, Coles B, Mason MD. A systematic review and meta-analysis of randomised trials of neo-adjuvant hormone therapy for localised and locally advanced prostate carcinoma. *Cancer Treat Rev.* 2009; 35(1):9–17.
85. Briganti A, Blute ML, Eastham JH, Graefen M, Heidenreich A, Karnes JR, Montorsi F, Studer UE. Pelvic lymph node dissection in prostate cancer. *Eur Urol.* 2009 Jun;55(6):1251-65.
86. Kluth LA, Abdollah F, Xylinas E, Rieken M, Fajkovic H, Sun M, Karakiewicz PI, Seitz C, Schramek P, Herman MP, Becker A, Loidl W, Pummer K, Nonis A, Lee RK, Lotan Y,

- Scherr DS, Seiler D, Chun FK, Graefen M, Tewari A, Gönen M, Montorsi F, Shariat SF, Briganti A. Pathologic nodal staging scores in patients treated with radical prostatectomy: a postoperative decision tool. *Eur Urol*. 2014 Sep;66(3):439-46.
87. Heidenreich A, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, Matveev V, Mottet N, Schmid HP, van der Kwast T, Wiegel T, Zattoni F; European Association of Urology. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. *Eur Urol*. 2011 Jan;59(1):61-71.
88. Preisser F, Marchioni M, Nazzani S, Bandini M, Tian Z, Pompe RS, Montorsi F, Saad F, Abdollah F, Steuber T, Heinzer H, Huland H, Graefen M, Tilki D, Karakiewicz PI. The Impact of Lymph Node Metastases Burden at Radical Prostatectomy. *Eur Urol Focus*. 2019 May;5(3):399-406.
89. Guo XX, Guo RQ, Hou HM, Wang X, Wang JY, Liu M. Positive node burden rather than the number of removed nodes impacts survival in patients with node-positive prostate cancer. *Int J Clin Oncol*. 2020 Dec;25(12):2115-2121.
90. Passoni NM, Fajkovic H, Xylinas E, Kluth L, Seitz C, Robinson BD, Rouprêt M, Chun FK, Lotan Y, Roehrborn CG, Crivelli JJ, Karakiewicz PI, Scherr DS, Rink M, Graefen M, Schramek P, Briganti A, Montorsi F, Tewari A, Shariat SF. Prognosis of patients with pelvic lymph node (LN) metastasis after radical prostatectomy: value of extranodal extension and size of the largest LN metastasis. *BJU Int*. 2014 Oct;114(4):503-10.
91. Gharzai LA, Jiang R, Wallington D, Jones G, Birer S, Jairath N, Jaworski EM, McFarlane MR, Mahal BA, Nguyen PL, Sandler H, Morgan TM, Reichert ZR, Alumkal JJ, Mehra R, Kishan AU, Fizazi K, Halabi S, Schaeffer EM, Feng FY, Elliott D, Dess RT, Jackson WC, Schipper MJ, Spratt DE. Intermediate clinical endpoints for surrogacy in localised prostate cancer: an aggregate meta-analysis. *Lancet Oncol*. 2021 Mar;22(3):402-410.
92. Ilario EN, Bastos DA, Guglielmetti GB, Murta CB, Cardili L, Cordeiro MD, Junior JP, Coelho RF, Nahas WC. Perioperative Morbidity of Radical Prostatectomy After Intensive Neoadjuvant Androgen Blockade in Men With High-Risk Prostate Cancer: Results of Phase II Trial Compared to a Control Group. *Clin Genitourin Cancer*. 2023 Feb;21(1):43-54.