POLIANA ROMÃO DA SILVA

Avaliação da expressão gênica dos coativadores da família p160 na progressão do carcinoma prostático

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Programa de Urologia

Orientadora: Profa. Dra. Sabrina Thalita dos Reis Faria

São Paulo

2022

POLIANA ROMÃO DA SILVA

Avaliação da expressão gênica dos coativadores da família p160 na progressão do carcinoma prostático

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Programa de Urologia

Orientadora: Profa. Dra. Sabrina Thalita dos Reis Faria

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Poliana Romão da
Avaliação da expressão gênica dos coativadores da família p160 na progressão do carcinoma prostático / Poliana Romão da Silva. -- São Paulo, 2022.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Urologia.
Orientadora: Sabrina Thalita dos Reis Faria.

Descritores: 1.Andrógenos 2.Expressão gênica 3.Fenótipo 4.Neoplasias da próstata 5.Progressão da doença

USP/FM/DBD-133/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Aos meus pais **Gislaine** e **Reginaldo** que nunca mediram esforços para que eu realizasse os meus sonhos.

Agradecimentos

A **Deus** por ter me permitido chegar até aqui e por nunca ter me desamparado nos momentos mais difíceis;

Aos meus pais **Gislaine** e **Reginaldo**, por serem meu porto seguro, por confiarem e acreditarem em mim, por me incentivarem a seguir em frente por mais difícil que fosse. Só tenho a agradecer por ter vocês na minha vida, por terem me tornado a pessoa que sou hoje;

À **Profa. Dra. Sabrina T. dos Reis**, minha querida orientadora, por ter me aceitado como aluna, acreditado e confiado em mim. Por todo seu empenho, dedicação e carinho com o qual conduz nossos projetos;

À **Profa. Dra. Kátia Ramos Moreira Leite**, que com tanto carinho nos incentiva, nos inspira e nos ensina todos os dias;

As secretárias da urologia, especialmente a **Elisa Cruz** por toda ajuda durante esses anos, e também à **Tereza**, **Aparecida** e **Inisabete** por estarem sempre dispostas quando precisamos;

Ao **Iran A. Silva**, por sempre estar disposto a nos auxiliar e nos ensinar;

À **Patrícia Candido**, minha duplinha nessa jornada de mestrado, que se tornou uma grande amiga. Só tenho a agradecer pelas risadas, conselhos, apoio e companheirismo;

Ao **Msc. Ruan Pimenta, Dra. Nayara I. Viana, Msc. Vanessa Ribeiro, Dra. Juliana Alves de Camargo, Vitória Ghazarian**, por me ajudarem e estarem comigo todos os dias, aguentarem minhas chatices, fazendo do LIM 55 minha segunda casa e minha segunda família.

Aos amigos do LIM 55, **Gabriel Arantes, Daniel Ayres, Gustavo Inoue, Caroline Chiovatto, Carolina Mie, Vinicius Genuíno, Karina Serafim e Guilherme Nebó**, por alegrarem meus dias e fazerem do LIM 55 um lugar tão acolhedor;

As minhas avós **Ernestina de Freitas Romão** e **Maria Sebastiana da Silva**, por todo amor, carinho, orações e vibrações pelas minhas conquistas;

Aos meus avôs **Francisco Romão** (*in memorian*), **Benedicto Netto** (*in memorian*) e minha bisa **Maria Catharina** (*in memorian*) por sempre acreditarem em mim;

Aos meus padrinhos **Paulo Francisco** e **Sônia Maria** e aos meus tios, **Edgar Romão**, **Carla Bocalon**, **Roseli Netto**, **Rivair Netto**, pelo inventivo.

Aos meus primos **Ana Cristina Romão**, **Ana Paula Romão**, **Rafaela Romão**, **Cesar Romão**, **Pedro Henrique Silva**, pelas risadas, pela convivência harmoniosa, pela amizade e carinho.

As minhas doces e amadas crianças **Maria Alice** e **Otávio** pelo amor, pelos sorrisos radiantes e por me ensinarem que a vida pode ser leve;

A minha querida amiga **Marcelle Coelho**, por me aguentar desde a época em que estávamos prestando vestibular, por não ter desistido de mim, mesmo quando eu não estava disponível, por me ouvir e me acolher sempre que precisei;

À **Capes** pelo apoio financeiro.

Essa dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento dessa publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Siglas e Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO 14

1.1. Câncer de Próstata 15

1.2. Biologia Molecular do Câncer de Próstata 17

1.3. Câncer de Próstata Resistente a Castração 18

1.4. Coativadores de Receptor de Andrógeno 19

1.4.1. Coativadores família p160 20

2. OBJETIVOS 22

2.1. Objetivo Primário 23

2.2. Objetivo Secundário 23

3. MATERIAIS E MÉTODOS 24

3.1. Pacientes 25

3.1.1. Espécimes clínicos de CaP primários 25

3.2. Extração do RNA total 26

3.3. Transcrição reversa (RT) 27

3.4. Análise de expressão de gênica (SRC-1, SRC-2 e SRC-3) e RA por PCR em tempo real quantitativo 27

3.5. Análise Estatística 29

4. RESULTADOS 30

5. DISCUSSÃO 40

6. CONCLUSÃO 45

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 47

8. APÊNDICE

Lista de Siglas e Abreviaturas

CaP	Câncer de Próstata
cDNA	DNA Complementar
CPRC	Câncer de Próstata Resistente a Castração
CYP17	C17-20-liase
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotideos Fosfatados
HAT	Histona Acetiltransferase
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ISUP	Sociedade Internacional de Patologia Urológica
NCOA	Subconjunto da Família Nuclear
NRs	Receptor Nuclear
PR	Prostatectomia Radical
PSA	Antígeno Prostático Especifico
qPCR	Reação em Cadeia Polimerase em Tempo Real
RA	Receptor de Andrógeno
RNA	Ácido Ribonucleico
RT	Transcrição Reversa
TDA	Terapia de Privação Androgênica
VA	Vigilância Ativa
ZP	Zona Periférica

Lista de Figuras

Figura 1. Classificação histológica de ISUP baseada no escore de Gleason..... 16
Figura 2. Perfil de expressão dos genes SRC-1, SRC-2, SRC-3 e RA, comparando os tecidos provenientes de zona periférica prostática e pacientes com CaP. 31
Figura 3. Correlação da expressão dos níveis de RA com os níveis de expressão dos coativadores SRC-1, SRC-2 e SRC-3, apenas nos tecidos tumorais, após aplicação do modelo de regressão linear. # Correlação da expressão dos coativadores p160 com os níveis de expressão do AR, * Correlação após aplicação de regressão linear..... 33
Figura 4. Perfil de expressão dos genes SRC-1, SRC-2, SRC-3 e RA, com relação aos níveis séricos de PSA. 34
Figura 5. Correlação da expressão dos coativadores com os níveis séricos de PSA, após aplicação do modelo de regressão linear. # Correlação dos coativadores com o aumento dos níveis de PSA, * Correlação após aplicação de regressão linear. 36
Figura 6. Expressão dos genes SRC-1. SRC-2, SRC-3 e RA, com relação ao escore de Gleason nos pacientes estudados. 37
Figura 7. Relação do volume tumoral com a expressão dos coativadores e gene RA. 38
Figura 8. Expressão dos coativadores da família p160 e gene RA entre os casos sensíveis e que progrediram na resistência à castração no decorrer do seguimento clínico. 39

Lista de Tabelas

Tabela 1. Dados clinico-patológicos dos pacientes selecionados para o estudo 26
Tabela 2. Tabelas de primers e ensaios que foram utilizados no estudo. 28

Resumo

Silva, PR. Avaliação da expressão gênica dos coativadores da família p160 na progressão do carcinoma prostático [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

INTRODUÇÃO: O câncer de próstata (CaP) é um tipo de tumor que apresenta alta dependência de andrógenos para a sua progressão. Em média, 35% dos casos diagnosticados evoluem para a resistência à castração, conferindo pior prognóstico e diminuição da taxa de sobrevida. Na tentativa de bloquear essa condição, comumente se faz o uso de terapias de privação androgênica. Entretanto, quando a doença adquire um fenótipo resistente, essas terapias deixam de ser eficazes. Alguns coativadores de andrógeno, como os que constituem a família p160 (SRC-1, SRC-2 e SRC-3), influenciam na transativação do receptor de andrógeno e frequentemente são identificados desregulados, nos casos com fenótipo resistente à castração. **OBJETIVOS:** Avaliar os níveis de expressão gênica dos coativadores p160 (SRC-1, SRC-2 e SRC-3) nos espécimes clínicos de CaP. Correlacionar os níveis de expressão gênica com os dados clínico patológicos dos pacientes. **MATERIAIS E MÉTODOS:** De forma retrospectiva, selecionamos 44 amostras de tecido prostático de pacientes com carcinoma prostático clinicamente localizados, submetidos à prostatectomia radical. Todos apresentaram recidiva bioquímica e realizaram tratamento hormonal. Nove desses pacientes evoluíram com boa resposta à terapia e 35 progrediram para resistência ao hormônio, com elevação dos níveis de antígeno prostático especifico (PSA). Para o grupo controle foram utilizadas amostras teciduais de cinco pacientes sem diagnóstico de câncer, provenientes de zona periférica da próstata. Para análise dos níveis de expressão gênica dos coativadores, obtivemos o RNA total das amostras através de métodos convencionais de extração. Em seguida realizamos a análise de qPCR, utilizando primers específicos para os genes selecionados. **RESULTADOS:** Encontramos uma superexpressão dos genes SRC-1 ($p = 0,0482$), SRC-2 ($p = 0,0028$), SRC-3 ($p = 0,0330$) e RA ($p<0.0001$) nos casos de CaP, quando comparados ao grupo controle. Ao avaliar os níveis de expressão dos coativadores apenas nos tecidos tumorais, identificamos que o aumento dos níveis de expressão dos genes SRC-1, SRC-2 e SRC-3, foi correlacionado ao aumento da expressão de RA de forma significativa. Ainda associamos os dados obtidos através da expressão com os fatores clínico patológicos dos pacientes diagnosticados com CaP. Dessa forma, identificamos uma associação entre níveis elevados de PSA ($\geq$ 10ng/mL), e a superexpressão dos genes SRC-1 ($p = 0,0236$), SRC-2 ($p = 0,0284$) e SRC-3 ($p = 0,0170$). Através da regressão linear, observamos a correlação significativa das SRCs com o aumento dos níveis de PSA. A expressão dos coativadores foi responsável por cerca de 60% do aumento dos níveis desta molécula. Identificamos também associação entre alta expressão dos coativadores SRC-1 ($p = 0,0323$), SRC-2 ($p = 0,0181$) e SRC-3 ($p = 0,0501$), e maior escore de Gleason (≥ 7). Ainda identificamos que uma maior expressão dos genes SRC-2 ($p = 0,0044$) e SRC-3 ($p = 0,0188$), se associava a um maior volume tumoral (≥ 15 mm^3). Para finalizar encontramos uma menor expressão dos genes SRC-1 ($p = 0,0060$), SRC-2 ($p = 0,0056$), SRC-3 ($p = 0,0172$) e RA ($p = 0,0184$) nas amostras

teciduais de pacientes que evoluíram para o fenótipo resistente à castração. **CONCLUSÃO:** Nossos resultados demonstraram que a desregulação dos coativadores SRC-1, SRC-2, SRC-3 e do gene RA, pode estar envolvida no processo de progressão da doença. A expressão dos genes foi associada aos níveis elevados de PSA, elevação da graduação histológica e aumento do volume tumoral. Dessa forma acreditamos que os coativadores SRC-1, SRC-2, SRC-3, quando avaliados em conjunto, poderiam contribuir com os fatores patológicos já disponíveis na definição do prognóstico de pacientes com CaP.

Descritores: Andrógenos; Expressão gênica; Fenótipo; Neoplasias da próstata; Progressão da doença.

Abstract

Silva, PR. *Evaluation of gene expression of p160 family coactivators in prostate carcinoma progression* [*dissertation*]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2022.

INTRODUCTION: Prostate cancer (PCa) is a kind of tumor that is highly dependent on androgens for its progression. On average, 35% of diagnosed cases evolve to castration resistance, leading to a worse prognosis and decreased survival rate. In an attempt to block this condition, androgen deprivation therapies are commonly used. However, when the disease acquires a resistant phenotype, these therapies are no longer effective. Some androgen coactivators, such as those constituting the p160 family (SRC-1, SRC-2, and SRC-3), influence androgen receptor transactivation and are often identified dysregulated in cases with a castration-resistant phenotype. **OBJECTIVES:** To evaluate the gene expression levels of p160 coactivators (SRC-1, SRC-2, and SRC-3) in clinical specimens of PCa. Correlate the gene expression levels with the clinical-pathological data of the patients. **MATERIALS AND METHODS:** We retrospectively selected 44 prostate tissue samples from patients with clinically localized prostate carcinoma who underwent radical prostatectomy, all of whom had a biochemical recurrence and underwent hormone treatment, nine of these patients evolved with good response to therapy, and 35 progressed to hormone resistance, with elevated levels of prostate-specific antigen (PSA). For the control group, tissue samples from five patients without cancer diagnosis from the peripheral zone of the prostate were used. To analyze the gene expression levels of coactivators, we obtained total RNA from the samples by conventional extraction methods, then performed qPCR analysis using specific primers for the selected genes. **RESULTS:** We found an overexpression of SRC-1 ($p = 0.0482$), SRC-2 ($p = 0.0028$), SRC-3 ($p = 0.0330$) and RA ($p<0.0001$) genes in CaP cases when compared to the control group. When evaluating the expression levels of coactivators only in tumor tissues, we identified that the increased expression levels of SRC-1, SRC-2, and SRC-3 genes, was significantly correlated with increased expression of AR. We further associated the data obtained through expression with the clinicopathological factors of patients diagnosed with PCa. Thus, we identified an association between elevated PSA levels ($\geq$ 10ng/mL) and the overexpression of SRC-1 ($p = 0.0236$), SRC-2 ($p = 0.0284$) and SRC-3 ($p = 0.0170$) genes. We observed the significant correlation of SRCs with increasing PSA levels through linear regression. The expression of coactivators was responsible for about 60% of the increase in the levels of this molecule. We also identified association between high expression of SRC-1 ($p = 0.0323$), SRC-2 ($p = 0.0181$) and SRC-3 ($p = 0.0501$) coactivators, and higher Gleason score (≥ 7), we also identified that a higher expression of SRC-2 ($p = 0.0044$) and SRC-3 ($p = 0.0188$) genes, was associated with higher tumor volume ($\geq$ 15 mm3). To conclude we found lower expression of SRC-1 ($p = 0.0060$), SRC-2 ($p = 0.0056$), SRC-3 ($p = 0.0172$) and AR ($p = 0.0184$) genes in tissue samples from patients who evolved to the castration-resistant phenotype. **CONCLUSION:** Our results demonstrated that downregulation of SRC-1, SRC-2, SRC-3 coactivators, and the RA gene might be involved in the disease progression process. The expression of the

genes was associated with elevated PSA levels, increased histological grade, and increased tumor volume. Thus we believe that the SRC-1, SRC-2, SRC-3 coactivators, when evaluated together, may help define the prognosis of patients with PCa.

Descriptors: Androgens; Disease progression, Gene expression, Phenotype, Prostatic neoplasms.

1. INTRODUÇÃO

1.1.Câncer de Próstata

O câncer é um grande problema de saúde pública no mundo, sendo ele uma das principais causas de morte precoce (antes dos 70 anos de idade) na grande maioria dos países. A incidência e a mortalidade pela doença vêm aumentando com o passar dos anos. Isso se dá devido a alguns fatores, como o aumento da expectativa de vida, crescimento populacional, fatores de risco (genética) e até mesmo a mudanças no estilo de vida (1).

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo de tumor mais frequente em homens e a quinta causa de morte no mundo (2), com estimativa de aproximadamente 1,4 milhão de novos casos e aproximadamente 375 mil mortes em escala mundial (3). Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), no Brasil foram estimados para o triênio de 2020-2022 a ocorrência de aproximadamente 66 mil novos casos a cada ano (4), o que corresponde a cerca de 29,2% dos tumores diagnosticados em homens, e com uma projeção de aproximadamente 15 mil óbitos no ano de 2019 (5).

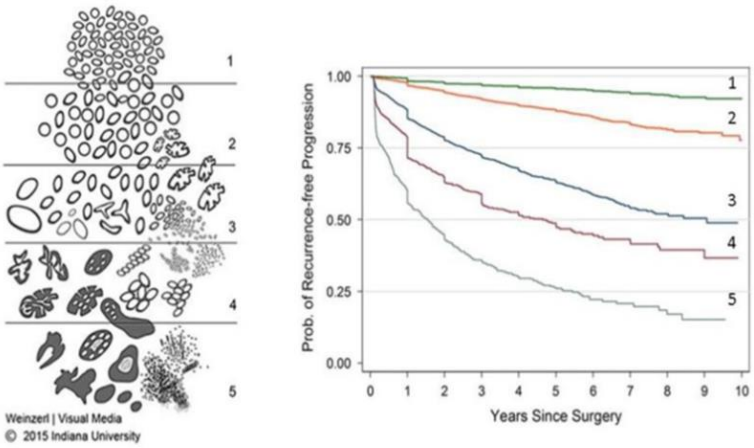
A grande maioria dos diagnósticos são dados para pacientes com idade superior ou igual a 65 anos, sendo 80% dos casos em homens com idade superior ou igual a 80 anos e de 10 a 15% dos casos com idade por volta dos 50 anos (6, 7). Acredita-se que o aumento do diagnóstico de CaP para homens mais velhos seja devido ao aumento da expectativa de vida e ao aumento do rastreamento da doença, através de exames como o antígeno prostático específico (PSA). O risco para o desenvolvimento da doença é aumentado após os 50 anos de idade para homens brancos sem histórico familiar, e após os 40 anos em homens negros ou com histórico familiar para o CaP (8).

Usualmente os casos de CaP são detectados através do rastreamento (9), que em sua fase inicial apresenta evolução lenta e silenciosa, podendo também apresentar sintomas não específicos assemelhando-se ao desenvolvimento da Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) (10). Apesar de que a sobrevida em cinco anos seja de aproximadamente 100% em homens diagnosticados com CaP localizado, isso diminui significantemente (para cerca de 30%) entre os homens diagnosticados pela primeira vez com a forma metastática da doença (11), mostrando-nos assim a importância da prevenção e a realização do rastreamento.

O rastreamento de CaP é realizado inicialmente através de toque retal e dosagem de PSA e posteriormente, a fim de confirmação diagnóstica, é realizada biópsia, guiada

por ultrassonografia transretal e estudo histológico (10, 12). Nos últimos anos a Ressonância Magnética Multiparamétrica vem sendo utilizada para melhorar a acurácia da biópsia. Esse exame é um método importante para a localização de áreas suspeitas para o CaP, principalmente em pacientes com biópsias prévias negativas (13, 14).

O prognóstico para o CaP depende de fatores clínicos patológicos, que são utilizados para prever falha no tratamento, incluindo dosagem de PSA, escore de Gleason, estádio patológico e volume tumoral (15). A classificação do escore de Gleason é baseada no padrão histológico das células, arranjo celular e grau de diferenciação celular. O diagnóstico final é dado pela soma dos valores dos dois focos neoplásicos mais representativos do tumor (16, 17). Nos últimos anos a Sociedade Internacional de Patologia Urológica (ISUP) propôs uma nova graduação histológica derivada do escore de Gleason. Esse sistema atribui grupos de 1 a 5 (Figura 1).



Gleason	ISUP/WHO
Até 3+3	1
3+4	2
4+3	3
4+4, 3+5, 5+3	4
4+5, 5+4, 5+5	5

Figura 1. Classificação histológica de ISUP baseada no escore de Gleason.

A escolha da terapia depende do estágio tumoral e das condições clínicas dos pacientes. Nos últimos anos muito se tem discutido sobre a vigilância ativa (VA). Em casos de CaP de baixo risco e alguns de risco intermediário, a VA é uma opção para os pacientes (23). Em pacientes diagnosticados com carcinoma prostático localmente avançado e/ou não elegíveis para o tratamento por VA, é recomendado a realização da prostatectomia radical (PR) ou radioterapia como tratamento curativo (25). Cerca de 27

a 53% dos pacientes submetidos a PR, sofrem recorrência bioquímica, ou seja, aumento dos níveis de PSA (22, 26) de > 0,2 ng/ml após a PR (27), indicando uma possível progressão da doença.

1.2.Biologia Molecular do Câncer de Próstata

O CaP primário apresenta uma alta complexidade para o seu diagnóstico, devido a sua natureza ser multifatorial, com múltiplos focos tumorais e morfologicamente distintos (18, 19). Estudos já demonstraram que o CaP apresenta uma alta heterogeneidade, que pode promover uma doença mais agressiva, que evolui de uma patologia indolente até uma patologia incurável, tornando até mesmo a sua terapêutica limitada (20), além de existir diferenças no panorama genético nos diferentes estágios patológicos da doença (21). Essa heterogeneidade, além da interpaciente, ainda pode ser classificada como intratumoral (dentro de um determinado tumor primário) e intertumoral (focos tumorais distintos e diferentes locais metastáticos) (22-24).

Sabe-se que as mutações decorrentes do CaP são associadas a mutações somáticas. Acredita-se que cerca de 89% dos tumores metastáticos resistentes à castração tenham uma mutação em potencial na linhagem somática, contra cerca de 9% das mutações presentes na linhagem germinativa (25). Alteração no receptor de andrógeno (RA), como mutações, amplificações, variantes estruturais estão associadas ao desenvolvimento da resistência à castração (26, 27).

Frequentemente são identificadas mutações nos genes envolvidos com o reparo de dano de DNA. Das alterações mais comuns, destacam-se as presentes nos genes BRCA1 e BRCA2, que estão envolvidas no reparo de recombinação homóloga, gene ATM que é um ponto de verificação ao dano de DNA e, de forma indireta ativa, o reparo de recombinação. Alteração ou perda funcional nesses genes estão associadas a uma maior agressividade do CaP (28, 29). Além disso, já foi demonstrado que a presença de mutações nos genes BRCA1, BRCA2 e ATM levam a uma maior letalidade nos casos de CaP (28).

Dificilmente são identificados polimorfismos de nucleotídeo único na fase inicial do CaP. Nesse estágio costuma ser identificado um acúmulo de rearranjos estruturais e genômicos (30). Cerca de 15% dos casos apresentam mutações ou ganho no gene

FOXA1, também são identificadas nos casos localizados da doença, deleções no gene PTEN e mutações no gene TP53 em 10-20%. Essa frequência aumenta para mais de 50% quando se analisam os casos avançados da doença (31). Além disso, deleções e mutações no PTEN estão presentes em cerca de 40% dos casos de pacientes com CaP resistente à castração (CPRC) (32); 20-30% dos casos apresentam mutações no oncogene MYC (33).;20-50% dos casos apresentam mutações nos genes RB1 e TP53 (21, 34). A perda de RB1 está associada a um pior prognóstico (34). Comumente, a progressão do CaP está associada à desregulação dos genes adicionais implicados no controle do crescimento e na estabilidade genética (30).

1.3. Câncer de Próstata Resistente à Castração

Sabe-se que o CaP apresenta uma alta dependência de andrógenos para a sua progressão, assim, uma estratégia terapêutica muito utilizada na prática clínica é a privação de andrógenos (35). Dessa forma, as terapias de castração mostram-se efetivas, em seu estágio inicial, gerando regressão clínica e respostas bioquímicas rápidas como declínio dos níveis de PSA em cerca de 80-90% dos pacientes com metástase (36, 37). Entretanto, após cerca de 2-3 anos, a doença poderá progredir para um estágio de CPRC, o que acarreta em pior prognóstico dos pacientes, diminuindo a taxa de sobrevida em 16-18 meses a partir do início da progressão (38, 39).

Ainda não se sabe por que o CaP evolui para CPRC, sendo essa a indagação de uma série de estudos. Entretanto, acredita-se que durante a transição de um fenótipo dependente para um fenótipo resistente, ocorra uma seleção de células resistentes que crescem e repovoam o tumor (40). Já se sabe que amostras tumorais de CRPC apresentam vários mecanismos em que a via de sinalização androgênica pode ser ativada na presença de terapias de privação androgênica (41). A progressão da doença é comumente identificada através do aumento dos níveis de testosterona nos pacientes castrados, sinalizando assim a transição para a resistência à castração (42).

Dos mecanismos que podem justificar essa progressão, estão correlacionadas mutações em nível do RA (43), superexpressão do gene RA (44), aumento da expressão de proteínas que atuam como coativadores transcricionais (43), além da regulação positiva das enzimas envolvidas na síntese de andrógenos como CYP17α–hidroxilase e C17-20-liase (CYP17) (45). Assim, acredita-se que diversas vias estejam envolvidas na

patogênese do CPRC, as quais são potenciais alvos de algumas drogas de terapia de privação androgênica (TDA), interferindo na via de RA, ou na inibição de CYP17, assim bloqueando a síntese de andrógenos (46).

Dentre os fármacos utilizados encontra-se o Acetato de Abiraterona, que inibe a síntese androgênica através da inibição de CYP17A1 (47). A inibição dessa enzima, possivelmente diminui a produção de andrógenos suprarrenais e intratumorais, assim reduzindo a disponibilidade de ligantes de andrógenos para RA em células tumorais (48).

Outro fármaco amplamente utilizado é a Enzalutamida, que é um potente inibidor oral da via de sinalização de RA, através da inibição da ligação ligante/receptor, translocação nuclear de RA ativado e inibição da transcrição nuclear regulada por RA (49).

Utiliza-se também quimioterápicos baseados em taxanos como Docetaxel e Cabazitaxel,, na tentativa de reverter a progressão. Esses fármacos atuam na interrupção da função dos microtúbulos seguida de inibição mitótica (50). Até o ano de 2009, o Docetaxel era a única terapia disponível para os indivíduos com CPRC (51), posteriormente, a eficácia de outros fármacos foi comprovada, como Cabazitaxel, imunoterapia com Sipuleucel-T, Pembrolizumab, Flutamida e Radium-233.

Embora a medicina esteja em constante avanço e com a descoberta de novas terapias eficazes para o tratamento de CPRC, levando a uma melhora na taxa de sobrevida, o mesmo ainda se mantém sensível à inibição a via de RA (52). Devido à diminuição da atividade de RA, ocorre o surgimento de outros mecanismos associados à resistência, como a modulação dos coativadores de RA. Os cânceres que apresentam resistência inicial a essa abordagem devem ser mais dependentes de modificações pós-traducionais de RA e sinalização oncogênica alternativa. Além disso, a descoberta de que a RA reprime mediadores oncogênicos críticos explica a observação clínica de que um subconjunto de pacientes se torna rapidamente resistente à terapia hormonal e não responde a novos antiandrogênicos (53).

1.4. Coativadores de Receptor de Andrógeno

Os coativadores (cofatores) de RA são proteínas que interagem com o RA e aumentam (coativadores) e/ou reduzem (correpressores) o processo de transativação,

todavia não apresentam efeito significativo na taxa de transcrição basal, logo, não possuem capacidade intrínseca de ligação ao DNA. Por outro lado, os coativadores induzem a transcrição mediada por RA, levando a estabilidade de RA, formação de homodímero, translocação nuclear, remodelação da cromatina, recrutamento de fatores de transcrição gerais, incluindo RNA polimerase II, além de aumentar a capacidade do RA aumentar, de forma direta, a expressão de genes (54, 55).

Acredita-se que os cofatores de RA são importantes para a patogênese decorrente da sinalização androgênica, principalmente pela sinalização desempenhar um importante papel na tumorigênese e progressão do CaP (56). Dessa forma, a desregulação dos coativadores de RA tende a aumentar com a progressão tumoral, estando intimamente correlacionados com a agressividade e um pior prognóstico, além de poder contribuir para a progressão do CPRC. Portanto, os mecanismos moleculares que confirmam a expressão e função anormal dos coativadores de RA, e suas interações com RA, são amplamente investigados como possíveis novos alvos terapêuticos (57, 58).

Os coativadores de receptores nucleares têm uma variedade de papéis no CaP, bem como na fisiologia normal (59). Já foi demonstrado que muitos coativadores estão associados à estimulação dependente de RA, como um mecanismo de resistência à castração, principalmente no que se diz respeito à perda de função repressiva ou ganho de função de ativação (60, 61).

1.4.1. Coativadores família p160

A família p160/receptor coativador de esteroides, representada pelo subconjunto da família nuclear (NCOA), consiste em três correguladores de transcrição conservados evolutivamente: SRC1 (NCOA1), SRC2 (NCOA2/TIF2/GRIP1) e SRC3 (NCOA3/AIB1/pCIP/RAC3/ACTR/TRAM-1) (62). Já foi demonstrado que a família p160, influencia diretamente na transativação do RA pela via da atividade intrínseca da histona acetiltransferase (HAT) (63), além de alterações nos genes p160 em casos de CPRC (64).

A família p160 realiza a promoção da carcinogênese através de múltiplas vias, bem como promove a transcrição gênica através da interação com quinases, fosfatases,

ubiquitina quinase, HAT e histona metiltransferase, através da modulação da expressão gênica controlada por uma série de fatores de transcrição de receptores nucleares (NRs) e por fatores não NRs, regulando assim diversas funções fisiológicas (65).

A expressão dos genes da família p160 são amplamente estudadas em uma série de tumores, inclusive no CaP. A amplificação de SRC-1 costuma ser rara em tumores humanos, entretanto já foi identificado que a sua alta expressão está correlacionada com tumores prostáticos de alto grau (64, 66, 67). Além disso, já foi demonstrado que há mais proteína SRC-1 no núcleo de células neoplásicas de pacientes com CaP, independente de andrógenos, se compararmos com casos de CPRC (68).

O gene SRC-2, comumente se apresenta amplificado no CaP primário e metastático (69). Quando há privação androgênica, o SRC-2 é induzido, ativando a sinalização de PI3K o que contribui para o desenvolvimento de metástases e evolução para CPRC (70). A diminuição dos níveis de SRC-2, leva à redução da expressão dos genes alvos de RA, inibindo a proliferação de células de CaP dependentes e independentes de RA. Entretanto, o aumento de sua expressão pode levar ao aumento do crescimento de células de CaP (71).

A alta expressão de SRC-3 em tumores de próstata é identificada em cerca de 38% dos casos de CaP diagnosticados (72). Além disso, sabe-se que aumento dos níveis de SRC-3 estão associados ao aumento dos níveis séricos de PSA e metástases, o que indica pior prognostico em relação a este tumor (73). Também já foi descrito que mutações do RA podem estar correlacionadas com a alteração de expressão de SRC-3, promovendo o desenvolvimento do CaP, dependente ou independente de RA. Esses achados demonstram que o SRC-3 pode estar correlacionado à progressão para CRPC (65).

Diante da necessidade de compreender a via de sinalização do RA e seus cofatores associados, estudos presentes na literatura têm investigado a transativação do RA, o aumento de sua expressão e mutações pontuais nesse receptor, além de já terem identificado que a alta expressão dos coativadores de RA, estão frequentemente associadas ao CaP, contribuindo com a progressão da doença, devido a seus diversos mecanismos moleculares (74).

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo Primário

Avaliar os níveis de expressão gênica dos coativadores da família p160 (SRC-1, 2 e 3) nos espécimes clínicos de CaP.

2.2. Objetivo Secundário

Correlacionar os níveis de expressão gênica com dados clínicos e patológicos dos pacientes.

Avaliar a expressão dos coativadores entre os pacientes que progrediram ou não para o fenótipo resistente à castração durante a evolução clínica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.Pacientes

3.1.1. Espécimes clínicos de CaP primários

As amostras de tecido de neoplasia primária que foram utilizadas para análise de expressão gênica deste trabalho, são referentes a um estudo anterior, realizado por nosso grupo e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (75). O estudo foi realizado, utilizando 44 amostras de espécimes cirúrgicos de pacientes com CaP clinicamente localizado, que foram submetidos à PR. Todos os 44 pacientes apresentaram recidiva bioquímica e iniciaram tratamento hormonal. Dos 44 pacientes apenas nove responderam inicialmente à terapia hormonal, em um período mínimo de um ano, e 35 pacientes se mostraram resistentes a hormônio, em um período máximo de um ano de tratamento, e consequentemente apresentaram elevações nos níveis do PSA. O grupo controle foi constituído por cinco amostras provenientes de zona periférica (ZP) da próstata de pacientes sem diagnóstico de câncer. As características dos pacientes selecionados para o estudo estão descritas na tabela 1.

Os pacientes com CaP foram classificados de acordo com as características clinico patológicas e progressão para a resistência à castração durante o seguimento clínico. Em relação às características clínicas patológicas, o grupo foi subclassificado conforme o nível de PSA pré-operatório (< 10ng/mL e ≥ 10ng/mL), escore de Gleason (< 7 e ≥7) e volume tumoral (< 15mm^3 e ≥ 15mm^3).

Todas as amostras que fazem parte deste estudo são provenientes de pacientes que são acompanhados na clínica particular do Prof. Dr. Miguel Srougi. O presente estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob parecer de número: 5.188.366.

Tabela 1. Dados clínico-patológicos dos pacientes selecionados para o estudo

	Casos CaP (N=44)	**Casos ZP (N=5)**
Idade (anos)		
Variação	47-76	58-66
Média ± (DP)	63,64 (8,38)	62,60 (2,88)
PSA (ng/mL)		
Variação	0,22 – 58,40	2,2 – 5,6
Média (DP)	9,16 (4,28)	4,22 (1,30)
<10 N(%)	21 (48,84)	
≥10 N(%)	22 (51,16)	
Escore de Gleason		
Variação	2 - 9	
Média ± (DP)	7 (1,41)	
≤ 7 N(%)	27 (61,36)	
> 7 N(%)	17 (38,64)	
Resistência Androgênica		
Sim N(%)	35 (79,5)	
Não N (%)	9 (20,5)	

3.2. Extração do RNA total

Para extração de RNA foi utilizado o kit de isolamento *miRVana*®miRNA (Ambion, Austin, Tx), de acordo com as recomendações do fabricante. Este kit permite o isolamento de todos os tipos de RNA, e por isso também foi utilizado para a extração do RNA dos espécimes. As preparações das amostras de tecidos frescos foram realizadas em gelo e da maneira mais rápida possível para prevenir a degradação por proteases. A maceração foi realizada no equipamento *Tissue Laser*, ao tecido macerado foram adicionados 500µL do tampão de lise (10 vezes o volume da massa tecidual), e 10% do volume total de aditivo para homogeneização. Logo após, os tubos foram colocados em

gelo por 10 minutos. Foram adicionados 500µL de fenol clorofórmio, e as amostras foram agitadas em *vortex* e centrifugadas na velocidade máxima (10.000g) por 5 minutos em temperatura ambiente. A fase aquosa foi removida e transferida para um novo tubo onde foi adicionado um terço do volume de etanol 100% em temperatura ambiente. A solução então foi passada para o filtro (coluna GFX) e as amostras foram novamente centrifugadas a 10.000g por 1 minuto. Neste momento o filtro contém RNA. Nos filtros com o RNA, foram realizadas lavagens com soluções próprias do kit, intercaladas com centrifugações. Após o descarte do filtrado, as amostras foram centrifugadas por mais 1 min a 10.000g para secagem da coluna. As colunas foram repassadas para um novo tubo e foi adicionado 50µL de água livre de RNase pré-aquecida a 95ºC, no centro da coluna. Após 1 min em temperatura ambiente, o RNA foi centrifugado e armazenado a -20ºC até o processamento. A pureza e concentração do RNA foram mensuradas em espectrofotômetro Nanodrop ® (ND1000, Wilmington, EUA) (260/280nM).

3.3. Transcrição reversa (RT)

A síntese do cDNA do RNA foi realizada, utilizando-se o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription® (AppliedBiosystems) que utiliza a Transcriptase reversa MultiscribeTM e primers randômicos. O RNA total foi diluído em H_2O livre de nucleases em um volume final de 20µl e concentração de 500µL/ng. A este volume foram acrescentados 4µL de oligonucleotídeos randômicos (10X), 1,6µl do mix de dNTPs (25X), 4µL do tampão da enzima (10X), 2µL da enzima transcriptase reversa e 8,4µL de água livre de nuclease. A solução foi submetida a ciclos de temperaturas (25ºC por 10 min, 37ºC por 120 min e 85ºC por 5 min) no termociclador Vertiti® (AppliedBiosystems). Ao final das reações, ambos os cDNA foram armazenados a -20°C até o uso.

3.4. Análise de expressão de gênica (SRC-1, SRC-2 e SRC-3) e RA por PCR em tempo real quantitativo

As expressões dos RNAs estudados foram avaliadas a partir do cDNA, utilizando a metodologia de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qPCR) no sistema ABI 7500 Fast RT-PCR, no modo standard utilizando-se Master Mix PCR TaqMan Universal (Applied Biosystems, Foster City,

CA). As expressões dos RNA individuais foram analisadas, usando primers de sequência específicos, tabela 2. Este protocolo TaqMan® utilizou dois iniciadores não fluorescentes e uma sonda com dupla marcação que se anela à região localizada entre os iniciadores. Esta marcação dupla é formada por um fluoróforo que emite luz quando excitado e um *quencher* que absorve luz emitida pelo fluoróforo. Durante os ciclos da PCR, a sonda é quebrada pela Taq polimerase na etapa de extensão do iniciador anelado. Esta quebra da sonda elimina a absorção pelo *quencher* que pode ser então medida, através de uma câmera situada na parte superior do equipamento. A quantificação da emissão absorvida pela câmera após quebra da sonda permite a quantificação indireta do RNA, alvo contido na reação após cada ciclo da PCR. Para amplificação dos fragmentos desejados, as reações serão feitas com 0,5µL de uma solução, contendo um par de primer conforme tabela 2 e a sonda (com a marcação), 5µL do TaqMan Master Mix, 3,5µL de água free nucleasene 1µL de cDNA, somando um total de 10µL para cada reação. As condições das reações foram: 2min a 50ºC, 10min a 95ºC e 40 ciclos de 15seg a 95ºC e 1 min a 60ºC. O nível de expressão dos genes alvo foram obtidos pela quantificação relativa, e dos níveis de expressão em vezes determinado pelo método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (76).

Tabela 2. Tabelas de primers e ensaios que foram utilizados no estudo.

Genes e microRNAs	***Primer* para qPCR**	**Marca**
SRC-1	Hs00186661_m1	Applied Biosystems
SRC-2	Hs00896109_m1	Applied Biosystems
SRC-3	Hs00180722_m1	Applied Biosystems
AR	Hs00171172_m1	Applied Biosystems
GAPDH	Hs99999905	Applied Biosystems

Os dados foram analisados, utilizando o software DataAssist (Applied Biosystems, USA). Todas as reações foram realizadas em duplicata.

3.5.Análise Estatística

Os dados estatísticos foram apresentados como média e desvio padrão para as variáveis quantitativas. A comparação entre os grupos foi realizada através de Test t de Student e Anova (variáveis homogêneas) e Mann Whitney (variáveis não homogêneas). Para análise estatística foi utilizado o software GraphPad Prism 9.0. Foram realizadas análises de correlação e regressão linear. Em toda análise foi adotado um nível de significância de 5%, ou seja, foram considerados como estatisticamente significantes os resultados que apresentaram p-valor inferior a 5% ($p<0,05$).

4. RESULTADOS

4.1.Expressão gênica da família p160 em espécimes clínicos de CaP primário

Encontramos uma superexpressão dos genes SRC-1 (p = 0,0482), SRC-2 (p = 0,0028) e SRC-3 (p = 0,0330) e RA (p = 0,0001) no CaP quando comparados a tecidos provenientes de ZP de pacientes sem câncer (Figura 2A, 2B, 2C e 2D).

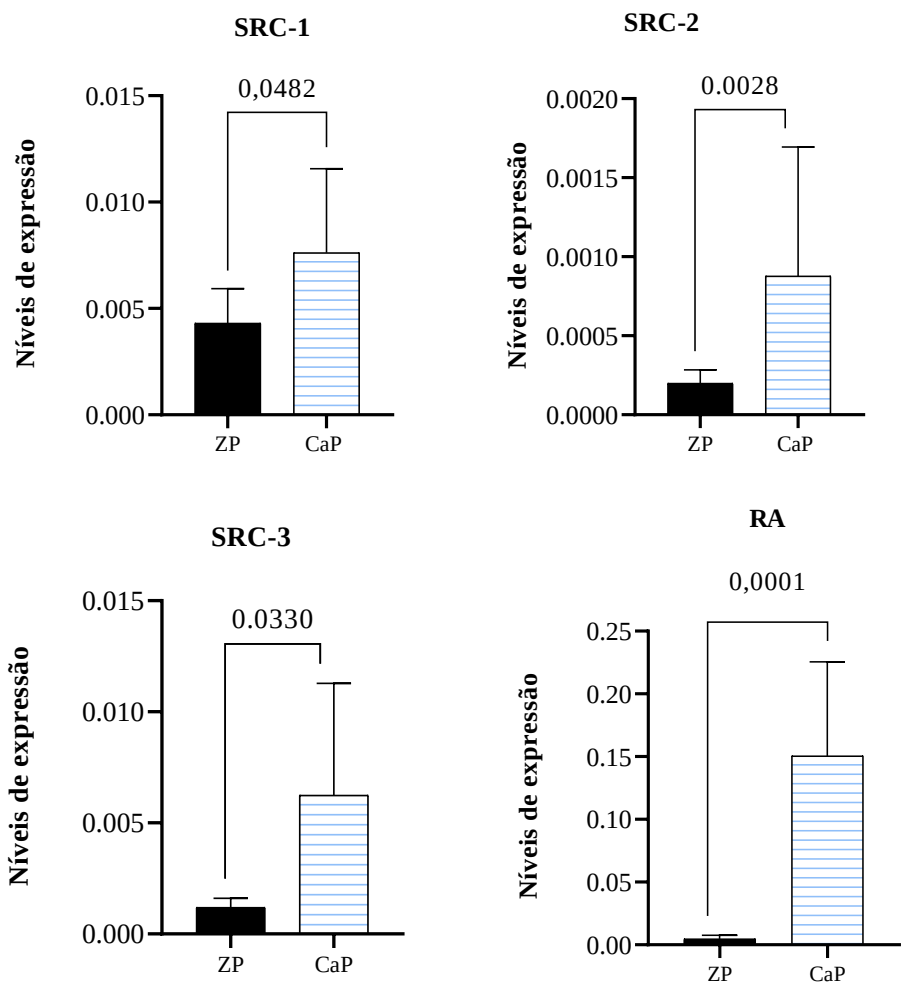


Figura 2. Perfil de expressão dos genes SRC-1, SRC-2, SRC-3 e RA, comparando os tecidos provenientes de zona periférica prostática e pacientes com CaP.

Avaliando os níveis de expressão apenas nos tecidos tumorais, ao correlacionarmos os níveis de expressão dos coativadores p160 com os níveis de expressão do AR, observamos que quanto maior a expressão dos coativadores SRC1 (R = 0,560, p = 0,002, figura 3A), SRC-2 (R = 0,600, p = 0,0007, figura 3B) e SRC-3 (R = 0,590, p = 0,001, figura 3C), maior foi a expressão do RA. Após aplicação do modelo de

regressão linear, observamos que o aumento nos níveis de expressão dos genes SRC-1 [F (1,25)=36,51, p <0,0001, R^2=0,594, figura 3A], SRC-2 [F (1,26)=37,41, p <0,0001, R^2=0,590, figura 3B] e SRC-3 [F (1,26)=39,57, p <0,0001, R^2=0,603, figura 3C] pode ser responsável por aproximadamente 60% do aumento de expressão do RA.

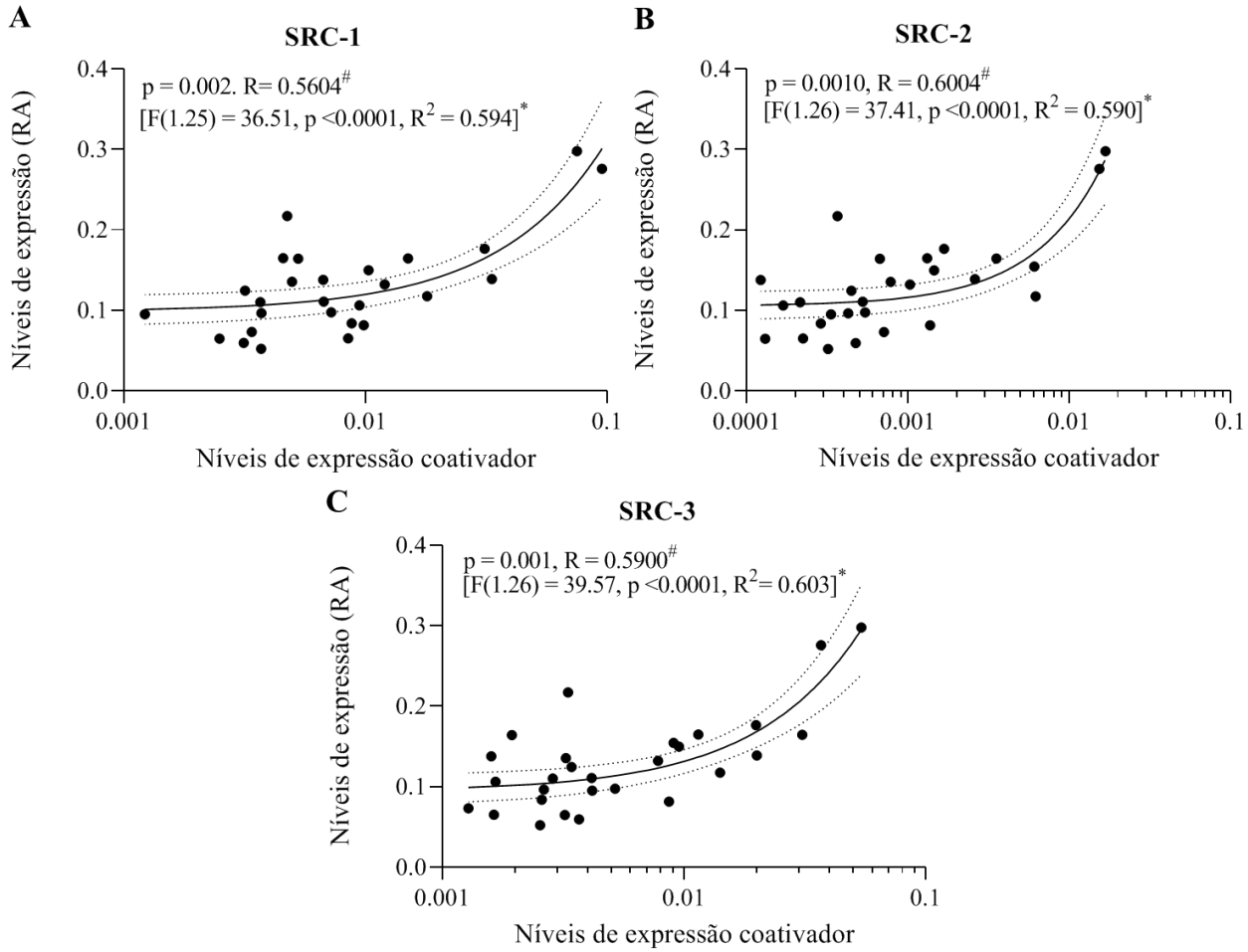


Figura 3. Correlação da expressão dos níveis de RA com os níveis de expressão dos coativadores SRC-1, SRC-2 e SRC-3, apenas nos tecidos tumorais, após aplicação do modelo de regressão linear. # Correlação da expressão dos coativadores p160 com os níveis de expressão do AR, * Correlação após aplicação de regressão linear.

4.2. Relação entre a expressão gênica dos coativadores p160 com fatores clinicopatológicos do CaP

Níveis elevados de PSA (≥ 10ng/mL), relacionaram-se de maneira significativa com a superexpressão dos genes SRC-1 (p = 0,0236, figura 4A), SRC-2 (p = 0,0284, figura 4B) e SRC-3 (p = 0,0170, figura 4C). Já para o gene RA não identificamos correlação entre sua expressão e o aumento dos níveis de PSA (figura 4D).

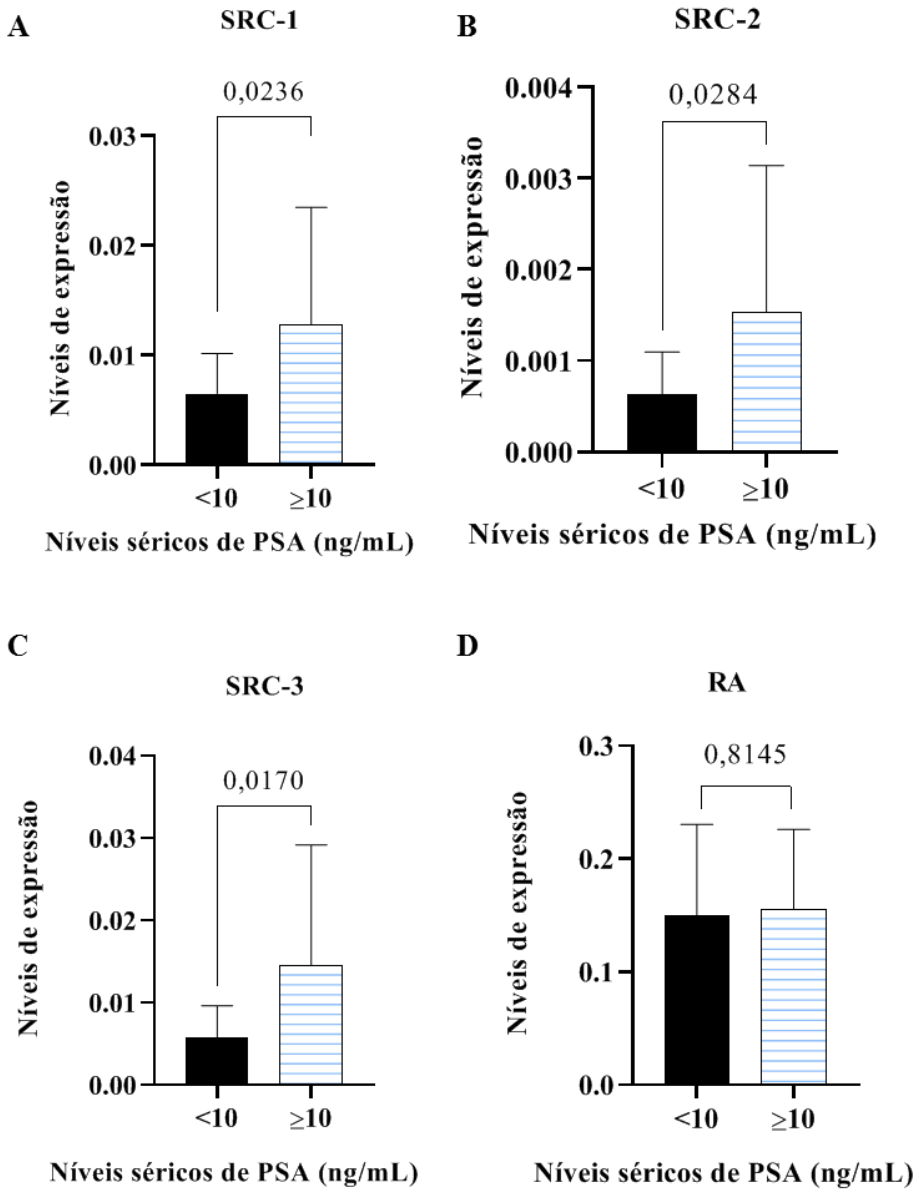


Figura 4. Perfil de expressão dos genes SRC-1, SRC-2, SRC-3 e RA, com relação aos níveis séricos de PSA.

Além disso, observamos uma correlação significativa destes coativadores com o aumento dos níveis de PSA. Sendo, SRC1 (R = 0,580, p = 0,0006, figura 5A), SRC-2 (R = 0,534, p = 0,0014, figura 5B) e SRC-3 (R = 0,584, p = 0,0012, figura 5C). Novamente, após aplicação do modelo de regressão linear, verificamos que o aumento dos níveis de expressão dos genes SRC-1 [F (1,29) = 14,27, p = 0,0006, R^2 = 0,336, figura 5A], SRC-2 [F (1,31) = 12.40, p = 0,0014, R^2 = 0,285, figura 5B] e SRC-3 [F (1,31) = 12,65, p = 0,0012, R^2 = 0,289, figura 5C] pode ser responsável por aproximadamente 30% do aumento dos níveis de PSA.

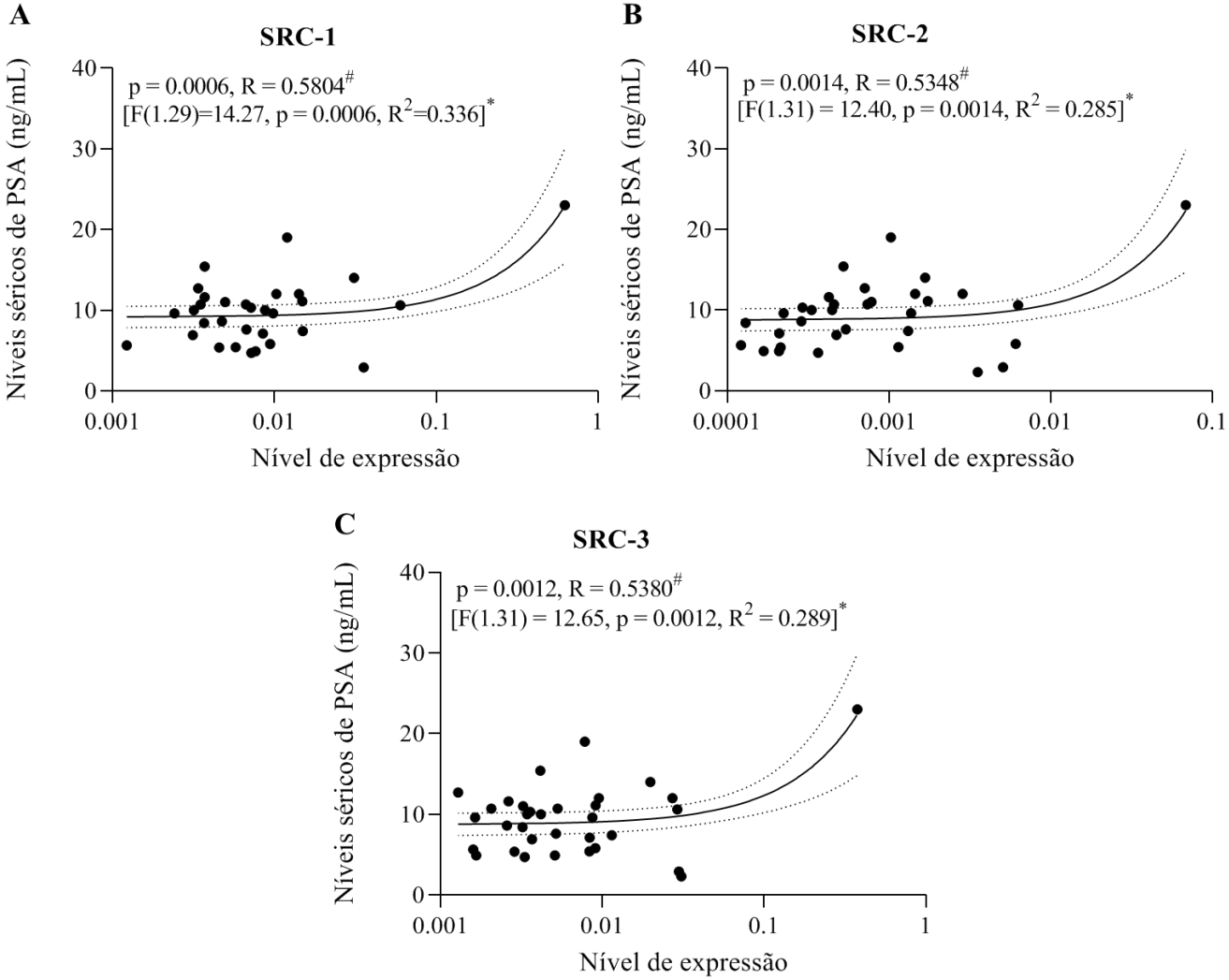


Figura 5. Correlação da expressão dos coativadores com os níveis séricos de PSA, após aplicação do modelo de regressão linear. # Correlação dos coativadores com o aumento dos níveis de PSA, * Correlação após aplicação de regressão linear.

Os coativadores p160 apresentaram maior expressão nas amostras de pacientes que apresentavam maior Escore de Gleason (≥ 7) sendo estatisticamente significante para os genes SRC-1 (p = 0,0323, figura 6A), SRC-2 (p = 0,0181, figura 6B) e SRC-3 (p = 0,0501, figura 6C). O gene RA não apresentou relação entre seus níveis de expressão e a graduação histológica de Gleason (figura 6D).

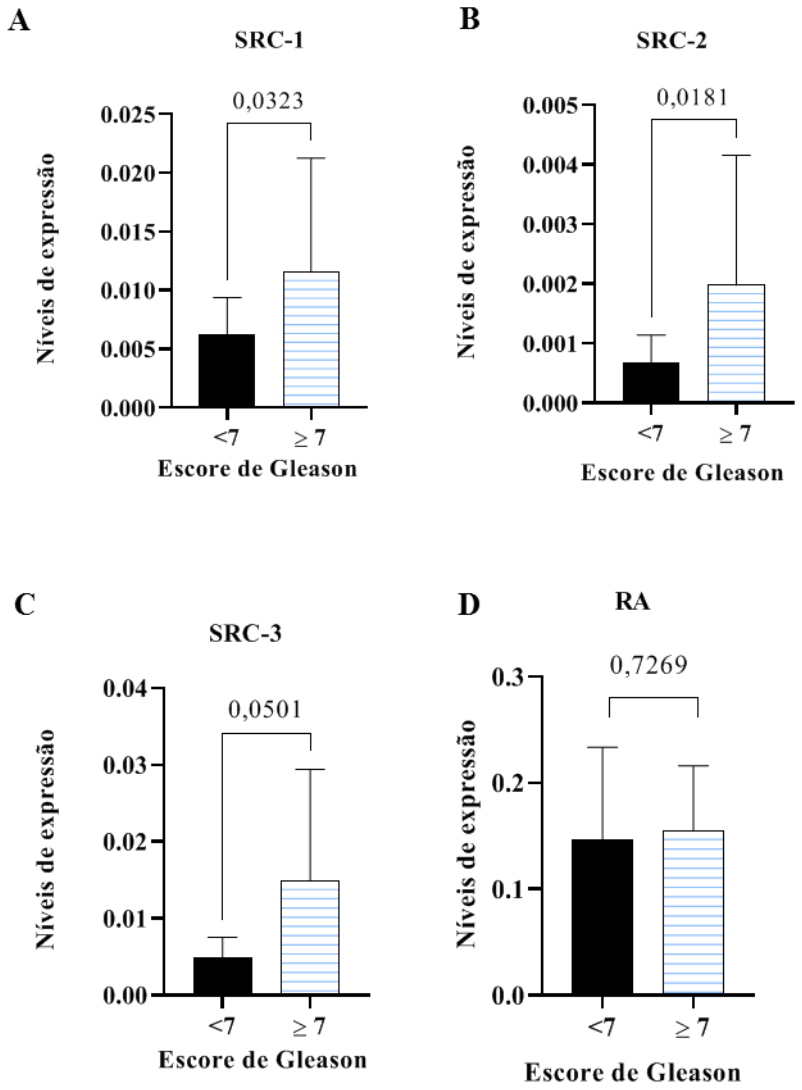


Figura 6. Expressão dos genes SRC-1. SRC-2, SRC-3 e RA, com relação ao escore de Gleason nos pacientes estudados.

Quanto ao volume tumoral, demonstramos relação significativa entre o aumento da expressão dos genes SRC-2 (p = 0,0044, figura 7B) e SRC-3 (p = 0,0188, figura 7C) com próstatas que exibiam volumes tumorais ≥ 15mm^3. Os genes SRC-1 e RA (figura 7A e 7D) não apresentaram associações entres seus níveis de expressão e volume tumoral.

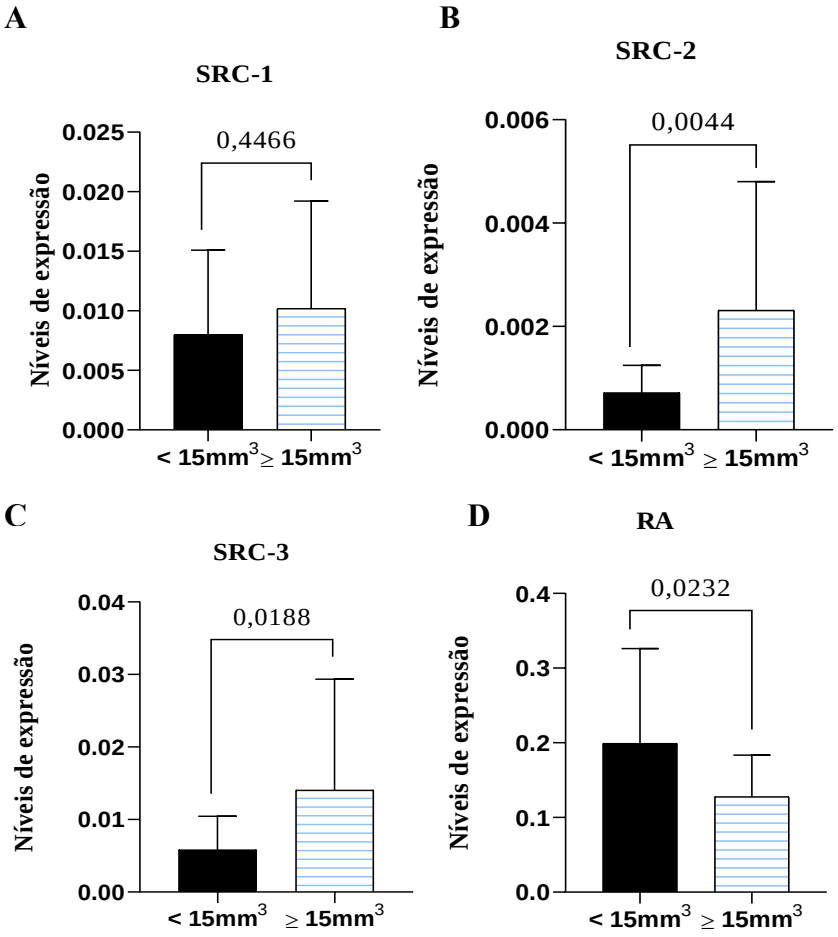


Figura 7. Relação do volume tumoral com a expressão dos coativadores e gene RA.

É interessante observar que a expressão dos genes SRC-1 (p = 0,0060, figura 8A), SRC-2 (p = 0,0056, figura 8B), SRC-3 (p = 0,0172, figura 8C) e RA (p = 0,0184, figura 8D) foram menores nas amostras primárias daqueles pacientes que progrediram para resistência à resposta ao bloqueio androgênico quando comparadas àqueles que evoluíram com boa resposta ao tratamento.

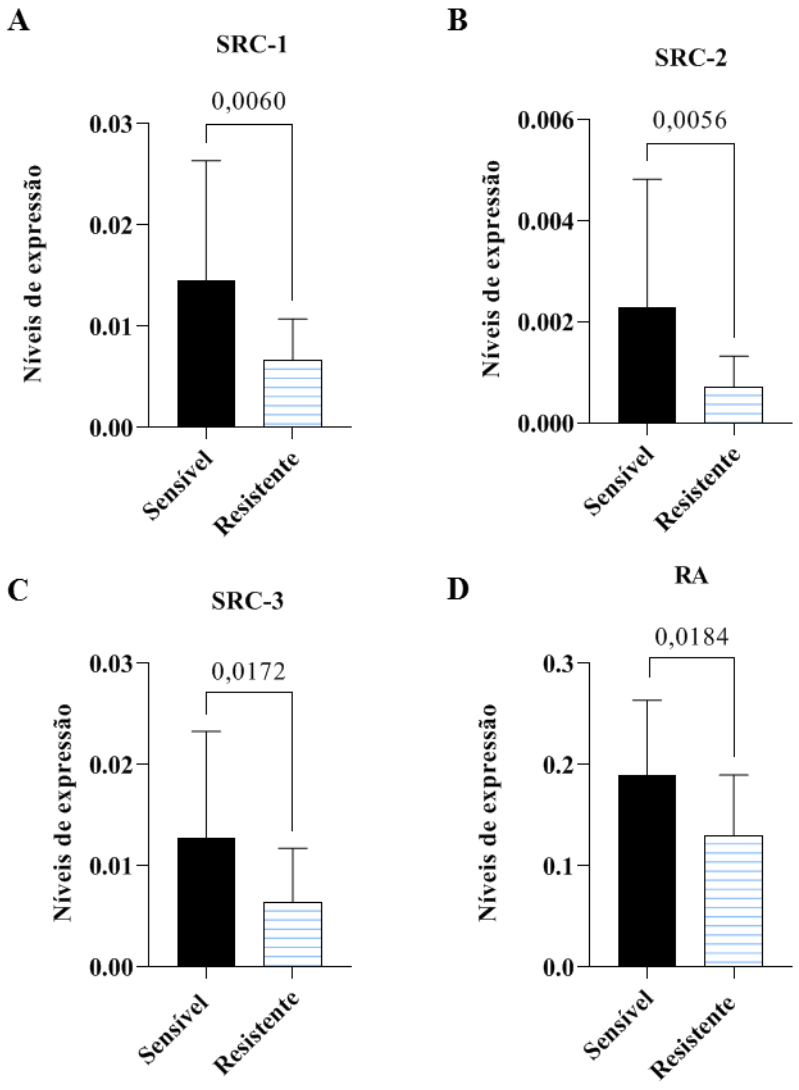


Figura 8. Expressão dos coativadores da família p160 e gene RA entre os casos sensíveis e que progrediram na resistência à castração no decorrer do seguimento clínico.

5. DISCUSSÃO

Em nosso estudo identificamos uma superexpressão dos genes SRC-1, SRC-2, SRC-3 e RA nos casos de CaP quando comparados a amostras não tumorais. Linja, M et al, 2004, utilizando a técnica de qPCR, identificou uma subexpressão do gene SRC-1 nos casos de CPRC quando comparado com tecidos prostáticos benignos e carcinoma primário localizado, que ainda não foi submetido ao tratamento com TDA (77). Entretanto no estudo realizado por Gregory, C et al, 2001, foi demonstrado uma maior expressão da proteína SRC-1 nos casos de CPRC em comparação aos casos de tecido benigno e carcinoma prostático primário (64).

No que se diz respeito ao SRC-2, em nosso estudo, identificamos uma superexpressão desse gene nos casos de CaP. Estudos demonstram que o mesmo é encontrado amplificado em cerca de 8% dos casos de tumores primários e em 37% dos pacientes com metástase (69), em estudo realizado por Agoulnik A, et al, 2006, corroborando com nossos achados, foi demonstrado um aumento da expressão de SRC-2 nos casos de CaP localizado, e ainda os autores postulam que esse gene pode ser um possível fator de predição para recorrência bioquímica da doença (71). Além da superexpressão do SRC-2, identificamos que a maior expressão desse gene se correlaciona positivamente com maiores níveis de PSA. Dessa forma, assim como Agoulnik A, et al, acreditamos que esse gene pode apresentar influência no prognóstico de pacientes com CaP.

Em nosso estudo, identificamos uma superexpressão de SRC-3 nos casos de CaP quando comparado ao grupo controle. Corroborando com nossos resultados, outros trabalhos na literatura já demonstraram superexpressão deste gene nos casos de CaP, comparado a tecidos não neoplásicos (72, 73, 77). Além disso, outros estudos já demonstraram que a superexpressão do coativador SRC-3, nos casos diagnosticados com CaP, pode estar correlacionada com a proliferação de células tumorais, aumento dos níveis de PSA e a um pior prognóstico, consequentemente, causando uma maior agressividade na doença (72, 73, 77, 78). Dessa forma, acreditamos que a desregulação desse coativador pode estar correlacionada com a piora do curso clínico da doença e a possível progressão para um fenótipo resistente à castração.

Sabe-se que a sinalização androgênica e o RA são importantes para o desenvolvimento normal da próstata, porém a desregulação da sinalização promove um crescimento e uma progressão desordenada em células de CaP (79). Em nosso estudo,

identificamos uma maior expressão de RA nos casos de CaP sensível à castração, quando comparado com os casos de CaP que se tornaram resistentes à castração ao longo do seguimento clínico. Estudos presentes na literatura já demonstraram que a alteração genética mais frequente nos casos de CPRC é a superexpressão de RA (80). Essa alteração costuma ser observada em até 80% dos casos estudados (69, 81).

Curiosamente, identificamos que a expressão dos níveis de RA acompanha a expressão dos coativadores SRC-1, SRC-2 e SRC-3, ou seja, quanto maior a expressão dos coativadores, maior a expressão de RA. Obtivemos uma maior expressão dos coativadores e do RA no fenótipo sensível à castração quando comparado com os casos que se tornaram resistentes ao longo do seguimento. Dessa forma, acreditamos que esses coativadores podem ser utilizados em novos estudos com o objetivo de estudarem novos marcadores de progressão para a doença.

A progressão do fenótipo sensível para um fenótipo resistente à castração está associada ao aumento dos níveis séricos de PSA (82, 83). Identificamos em nosso estudo uma relação direta entre o aumento da expressão gênica dos níveis de todos os coativadores avaliados com o aumento dos níveis séricos de PSA. Agoulnik et al, 2005 (66), não encontrou correlação entre os níveis de PSA pré operatório, ou aumento dos níveis de PSA após a realização da PR com a expressão de SRC-1. Em um estudo posterior, este mesmo autor, avaliando a expressão do SRC-2 através da técnica de imunohistoquímica em amostras de CPRC, encontrou uma associação entre níveis mais altos de SRC-2 e aumento dos níveis de PSA (71). Em um estudo realizado por Gnanapragasam, V.J et al, 2001 (72), através de imunohistoquímica, não foi identificada correlação do aumento da expressão do gene SRC-3 com maiores níveis de PSA. Por outro lado, Zhou et al, 2005, em um estudo semelhante, avaliou 480 amostras de pacientes diagnosticados com CaP localizado, que não haviam realizado TDA, e demonstrou uma relação significativa entre maior expressão proteica de SRC-3 com um aumento dos níveis de PSA (73). Vale ressaltar que em nosso estudo, apesar de também termos identificado uma correlação com o aumento da expressão dos coativadores SRC-1, SRC-2 e SRC-3 com o aumento dos níveis de PSA, realizamos a técnica de qPCR que analisa expressão gênica.

O escore de Gleason é um dos fatores prognósticos mais importantes utilizado no manejo para o CaP (84), sendo ele baseado no padrão histológico de arranjo de células

do câncer (85). Agoulnik et al, 2005, identificou que o aumento da expressão de SRC-1, estava associado ao aumento do escore de Gleason (≥ 7). Em estudo posterior, demonstraram também uma associação entre um aumento da expressão do gene SRC-2 com maior escore de Gleason (≥ 7). Os autores acreditam que a expressão desses dois genes está associada a uma maior agressividade tumoral (66, 71). Ngollo, M et al, 2014 (86), realizou a análise da expressão dos genes SRC-3 e RA, em casos de CaP em comparação com tecidos prostáticos benignos. Ao analisarem os fatores prognósticos, encontraram que a superexpressão desses genes se associavam a tumores com escore de Gleason > 7. Esses autores ainda postulam que o SRC-3 é um fator chave para o desenvolvimento do CaP, e que o RA tem um papel primordial no desenvolvimento da doença e na progressão de metástases e resistência à castração. Em nosso estudo, também encontramos maior expressão desses genes nas amostras de pacientes com maior escore de Gleason, assim, também postulamos que o aumento dessa expressão pode estar associado a uma maior agressividade tumoral e evolução para um pior cenário clínico.

Surpreendentemente, identificamos que maiores expressões dos genes SRC-2 e SRC-3, estão associadas com maiores volumes tumorais (≥15mm^3), diferente dos genes SRC-1 e RA que não apresentam nenhuma associação de sua expressão com o volume tumoral. Com relação ao SRC-1, Redmond, A.M, et al 2009 (87), estudando amostras de pacientes com câncer de mama, não encontrou associação da expressão deste gene com volume tumoral. No que tange à expressão dos genes SRC-2, SRC-3 e RA, não foram encontrados dados na literatura que pudessem justificar nossos achados. Acreditamos que a desregulação desses coativadores, podem influenciar na agressividade da doença. Estudos já demonstraram que os cofatores SRC-1 e SRC-3 estão superexpressos em casos de CaP e estão correlacionados com o grau tumoral e recorrência (72), além de demonstrarem que o SRC-1 está associado com a resistência precoce a terapias (87). Tumores prostáticos primários com amplificação de SRC-2, apresentam uma alta sinalização de RA (88), além de sua alta expressão estar correlacionada com alto grau tumoral e baixa taxa de sobrevida (60, 64, 71) e progressão de metástases (69).

Considerando as amostras tumorais utilizadas, uma importante limitação do estudo é que o número amostral estudado foi restrito, visto que, no grupo controle foram utilizadas cinco amostras provenientes de zona periférica de CaP e no grupo acometido por câncer foram analisadas 44 amostras de pacientes tratados cirurgicamente. Entretanto

ressaltamos a dificuldade de encontrarmos amostras teciduais em nosso biorrepositório de pacientes com CaP localizado, que apresentaram recidiva bioquímica, iniciaram a TDA e responderam por mais de 12 meses.

Postulamos que a superexpressão dos coativadores nos pacientes que progrediram com boa resposta à terapia endócrina em seu curso clínico, se deva à via ativa e responsiva do RA. Já nos pacientes que se apresentaram resistentes, acreditamos que possa haver alterações precoces, ainda não identificadas, que podem influenciar na transição de um fenótipo sensível para um fenótipo CPRC. Assim, acreditamos que tanto os coativadores quanto o RA possam estar associados ao desenvolvimento e progressão do CaP e que a avaliação em conjunto destas moléculas em amostras primárias pode auxiliar na distinção de pacientes que virão ou não a evoluir com boa resposta às terapias endócrinas no CaP. Entretanto, mais estudos são necessários para confirmar os nossos achados.

6. CONCLUSÃO

Os coativadores SRC-1, SRC-2, SRC-3 e RA se encontraram superexpressos nos casos de carcinoma prostático primários;

O aumento da expressão dos coativadores foi relacionado com altos níveis de PSA (>10ng/mL);

A superexpressão dos coativadores SRC-1, SRC-2 e SRC-3 estão correlacionadas com a elevação do escore de Gleason;

A superexpressão dos coativadores SRC-2 e SRC-3, está associada com um maior volume tumoral ($\geq$15 mm^3);

Os coativadores SRC-1, SRC-2 e SRC-3 se apresentaram superexpressos nos casos de CaP primário que responderam a terapias.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin. 2018;68(6):394-424.

2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. CA Cancer J Clin. 2020;70(1):7-30.

3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209-49.

4. Saúde Md, INCA. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. 2019. p. 120.

5. INCA. Tipos de Câncer - Câncer de Próstata 2021 [Available from: www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-prostata.

6. Stanford JL, Stephenson RA, Coyle LM, Cerhan J, Correa R, Eley JW, et al. *Prostate Cancer Trends 1973-1995*. Bethesda, MD: SEER Program, National Cancer Institute; 1999.

7. Graefen M, Karakiewicz PI, Cagiannos I, Quinn DI, Henshall SM, Grygiel JJ, et al. International validation of a preoperative nomogram for prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. J Clin Oncol. 2002;20(15):3206-12.

8. NIH. Cancer Stat Facts: Prostate Cancer SEER; 2018.

9. Vincent T. DeVita Jr , Theodore S. Lawrence , Steven A. Rosenberg , Ronald A. DePinho , Weinberg RA. Cancer: Principles and Practive of Oncology. 9th ed2011.

10. Januário Barcelar Junior A, Souza Menezes C, De Almeida Barbosa C, Silva Freitas GB, Gonçalves Silva G, Sousa Vaz JP, et al. Prostate Cancer: Diagnostic Methods, Prevention and Treatment. 2015.

11. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013. Bethesda, MD: National Cancer Institute.

12. Daniyal M, Siddiqui ZA, Akram M, Asif HM, Sultana S, Khan A. Epidemiology, etiology, diagnosis and treatment of prostate cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(22):9575-8.

13. Selnæs KM, Heerschap A, Jensen LR, Tessem MB, Schweder GJ, Goa PE, et al. Peripheral zone prostate cancer localization by multiparametric magnetic resonance at 3 T: unbiased cancer identification by matching to histopathology. Invest Radiol. 2012;47(11):624-33.

14. Bratan F, Niaf E, Melodelima C, Chesnais AL, Souchon R, Mège-Lechevallier F, et al. Influence of imaging and histological factors on prostate cancer detection and localisation on multiparametric MRI: a prospective study. Eur Radiol. 2013;23(7):2019-29.

15. Bostwick DG. Grading prostate cancer. Am J Clin Pathol. 1994;102(4 Suppl 1):S38-56.

16. Gleason DF. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. Hum Pathol. 1992;23(3):273-9.

17. Epstein JI, Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Humphrey PA, Mikuz G, et al. Prognostic factors and reporting of prostate carcinoma in radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy specimens. Scand J Urol Nephrol Suppl. 2005(216):34-63.

18. Andreoiu M, Cheng L. Multifocal prostate cancer: biologic, prognostic, and therapeutic implications. Hum Pathol. 2010;41(6):781-93.

19. Arora R, Koch MO, Eble JN, Ulbright TM, Li L, Cheng L. Heterogeneity of Gleason grade in multifocal adenocarcinoma of the prostate. Cancer. 2004;100(11):2362-6.

20. Brawley OW. Prostate cancer epidemiology in the United States. World J Urol. 2012;30(2):195-200.

21. Armenia J, Wankowicz SAM, Liu D, Gao J, Kundra R, Reznik E, et al. The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. Nat Genet. 2018;50(5):645-51.

22. Spratt DE, Zumsteg ZS, Feng FY, Tomlins SA. Translational and clinical implications of the genetic landscape of prostate cancer. Nat Rev Clin Oncol. 2016;13(10):597-610.

23. Marusyk A, Janiszewska M, Polyak K. Intratumor Heterogeneity: The Rosetta Stone of Therapy Resistance. Cancer Cell. 2020;37(4):471-84.

24. Løvf M, Zhao S, Axcrona U, Johannessen B, Bakken AC, Carm KT, et al. Multifocal Primary Prostate Cancer Exhibits High Degree of Genomic Heterogeneity. Eur Urol. 2019;75(3):498-505.

25. Robinson D, Van Allen EM, Wu YM, Schultz N, Lonigro RJ, Mosquera JM, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. Cell. 2015;161(5):1215-28.

26. Henzler C, Li Y, Yang R, McBride T, Ho Y, Sprenger C, et al. Truncation and constitutive activation of the androgen receptor by diverse genomic rearrangements in prostate cancer. Nat Commun. 2016;7:13668.

27. Antonarakis ES, Lu C, Wang H, Luber B, Nakazawa M, Roeser JC, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. N Engl J Med. 2014;371(11):1028-38.

28. Na R, Zheng SL, Han M, Yu H, Jiang D, Shah S, et al. Germline Mutations in ATM and BRCA1/2 Distinguish Risk for Lethal and Indolent Prostate Cancer and are Associated with Early Age at Death. Eur Urol. 2017;71(5):740-7.

29. Castro E, Romero-Laorden N, Del Pozo A, Lozano R, Medina A, Puente J, et al. PROREPAIR-B: A Prospective Cohort Study of the Impact of Germline DNA Repair Mutations on the Outcomes of Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. J Clin Oncol. 2019;37(6):490-503.

30. Sandhu S, Moore CM, Chiong E, Beltran H, Bristow RG, Williams SG. Prostate cancer. Lancet. 2021;398(10305):1075-90.

31. Fraser M, Sabelnykova VY, Yamaguchi TN, Heisler LE, Livingstone J, Huang V, et al. Genomic hallmarks of localized, non-indolent prostate cancer. Nature. 2017;541(7637):359-64.

32. Carver BS, Chapinski C, Wongvipat J, Hieronymus H, Chen Y, Chandarlapaty S, et al. Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN-deficient prostate cancer. Cancer Cell. 2011;19(5):575-86.

33. Quigley DA, Dang HX, Zhao SG, Lloyd P, Aggarwal R, Alumkal JJ, et al. Genomic Hallmarks and Structural Variation in Metastatic Prostate Cancer. Cell. 2018;174(3):758-69.e9.

34. Abida W, Cyrta J, Heller G, Prandi D, Armenia J, Coleman I, et al. Genomic correlates of clinical outcome in advanced prostate cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019;116(23):11428-36.

35. Huggins C. The Treatment of Cancer of the Prostate : (The 1943 Address in Surgery before the Royal College of Physicians and Surgeons of Canada). Can Med Assoc J. 1944;50(4):301-7.

36. Harris WP, Mostaghel EA, Nelson PS, Montgomery B. Androgen deprivation therapy: progress in understanding mechanisms of resistance and optimizing androgen depletion. Nat Clin Pract Urol. 2009;6(2):76-85.

37. Sun S, Sprenger CC, Vessella RL, Haugk K, Soriano K, Mostaghel EA, et al. Castration resistance in human prostate cancer is conferred by a frequently occurring androgen receptor splice variant. J Clin Invest. 2010;120(8):2715-30.

38. Marques RB, Dits NF, Erkens-Schulze S, van Weerden WM, Jenster G. Bypass mechanisms of the androgen receptor pathway in therapy-resistant prostate cancer cell models. PLoS One. 2010;5(10):e13500.

39. Attar RM, Takimoto CH, Gottardis MM. Castration-resistant prostate cancer: locking up the molecular escape routes. Clin Cancer Res. 2009;15(10):3251-5.

40. Albertsen PC, Hanley JA, Gleason DF, Barry MJ. Competing risk analysis of men aged 55 to 74 years at diagnosis managed conservatively for clinically localized prostate cancer. JAMA. 1998;280(11):975-80.

41. Ferraldeschi R, Welti J, Luo J, Attard G, de Bono JS. Targeting the androgen receptor pathway in castration-resistant prostate cancer: progresses and prospects. Oncogene. 2015;34(14):1745-57.

42. Teo MY, Rathkopf DE, Kantoff P. Treatment of Advanced Prostate Cancer. Annu Rev Med. 2019;70:479-99.

43. Chen CD, Welsbie DS, Tran C, Baek SH, Chen R, Vessella R, et al. Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. Nat Med. 2004;10(1):33-9.

44. Stanbrough M, Bubley GJ, Ross K, Golub TR, Rubin MA, Penning TM, et al. Increased expression of genes converting adrenal androgens to testosterone in androgen-independent prostate cancer. Cancer Res. 2006;66(5):2815-25.

45. Agarwal N, Hutson TE, Vogelzang NJ, Sonpavde G. Abiraterone acetate: a promising drug for the treatment of castration-resistant prostate cancer. Future Oncol. 2010;6(5):665-79.

46. Tucci M, Scagliotti GV, Vignani F. Metastatic castration-resistant prostate cancer: time for innovation. Future Oncol. 2015;11(1):91-106.

47. Attard G, Reid AH, Olmos D, de Bono JS. Antitumor activity with CYP17 blockade indicates that castration-resistant prostate cancer frequently remains hormone driven. Cancer Res. 2009;69(12):4937-40.

48. Chism DD, De Silva D, Whang YE. Mechanisms of acquired resistance to androgen receptor targeting drugs in castration-resistant prostate cancer. Expert Rev Anticancer Ther. 2014;14(11):1369-78.

49. Scher HI, Beer TM, Higano CS, Anand A, Taplin ME, Efstathiou E, et al. Antitumour activity of MDV3100 in castration-resistant prostate cancer: a phase 1-2 study. Lancet. 2010;375(9724):1437-46.

50. de Bono JS, Oudard S, Ozguroglu M, Hansen S, Machiels JP, Kocak I, et al. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. Lancet. 2010;376(9747):1147-54.

51. Kafka M, Eder IE, Klocker H, Heidegger I. Emerging promising biomarkers for treatment decision in metastatic castration-resistant prostate cancer. Urol Oncol. 2020;38(11):801-15.

52. Toren PJ, Gleave ME. Evolving landscape and novel treatments in metastatic castrate-resistant prostate cancer. Asian J Androl. 2013;15(3):342-9.

53. Karantanos T, Evans CP, Tombal B, Thompson TC, Montironi R, Isaacs WB. Understanding the mechanisms of androgen deprivation resistance in prostate cancer at the molecular level. Eur Urol. 2015;67(3):470-9.

54. Heinlein CA, Chang C. Androgen receptor (AR) coregulators: an overview. Endocr Rev. 2002;23(2):175-200.

55. Wang L, Hsu CL, Chang C. Androgen receptor corepressors: an overview. Prostate. 2005;63(2):117-30.

56. Shiota M, Yokomizo A, Fujimoto N, Naito S. Androgen receptor cofactors in prostate cancer: potential therapeutic targets of castration-resistant prostate cancer. Curr Cancer Drug Targets. 2011;11(7):870-81.

57. Heemers HV, Sebo TJ, Debes JD, Regan KM, Raclaw KA, Murphy LM, et al. Androgen deprivation increases p300 expression in prostate cancer cells. Cancer Res. 2007;67(7):3422-30.

58. Heemers HV, Regan KM, Dehm SM, Tindall DJ. Androgen induction of the androgen receptor coactivator four and a half LIM domain protein-2: evidence for a role for serum response factor in prostate cancer. Cancer Res. 2007;67(21):10592-9.

59. Lonard DM, O'Malley BW. Nuclear receptor coregulators: modulators of pathology and therapeutic targets. Nat Rev Endocrinol. 2012;8(10):598-604.

60. Agoulnik IU, Weigel NL. Coactivator selective regulation of androgen receptor activity. Steroids. 2009;74(8):669-74.

61. Yuan X, Balk SP. Mechanisms mediating androgen receptor reactivation after castration. Urol Oncol. 2009;27(1):36-41.

62. Szwarc MM, Kommagani R, Lessey BA, Lydon JP. The p160/steroid receptor coactivator family: potent arbiters of uterine physiology and dysfunction. Biol Reprod. 2014;91(5):122.

63. Spencer TE, Jenster G, Burcin MM, Allis CD, Zhou J, Mizzen CA, et al. Steroid receptor coactivator-1 is a histone acetyltransferase. Nature. 1997;389(6647):194-8.

64. Gregory CW, He B, Johnson RT, Ford OH, Mohler JL, French FS, et al. A mechanism for androgen receptor-mediated prostate cancer recurrence after androgen deprivation therapy. Cancer Res. 2001;61(11):4315-9.

65. Xu J, Wu RC, O'Malley BW. Normal and cancer-related functions of the p160 steroid receptor co-activator (SRC) family. Nat Rev Cancer. 2009;9(9):615-30.

66. Agoulnik IU, Vaid A, Bingman WE, Erdeme H, Frolov A, Smith CL, et al. Role of SRC-1 in the promotion of prostate cancer cell growth and tumor progression. Cancer Res. 2005;65(17):7959-67.

67. Fujimoto N, Mizokami A, Harada S, Matsumoto T. Different expression of androgen receptor coactivators in human prostate. Urology. 2001;58(2):289-94.

68. Mäki HE, Waltering KK, Wallén MJ, Martikainen PM, Tammela TL, van Weerden WM, et al. Screening of genetic and expression alterations of SRC1 gene in prostate cancer. Prostate. 2006;66(13):1391-8.

69. Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, Gopalan A, Xiao Y, Carver BS, et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. Cancer Cell. 2010;18(1):11-22.

70. Qin J, Lee HJ, Wu SP, Lin SC, Lanz RB, Creighton CJ, et al. Androgen deprivation-induced NCoA2 promotes metastatic and castration-resistant prostate cancer. J Clin Invest. 2014;124(11):5013-26.

71. Agoulnik IU, Vaid A, Nakka M, Alvarado M, Bingman WE, Erdem H, et al. Androgens modulate expression of transcription intermediary factor 2, an androgen receptor coactivator whose expression level correlates with early biochemical recurrence in prostate cancer. Cancer Res. 2006;66(21):10594-602.

72. Gnanapragasam VJ, Leung HY, Pulimood AS, Neal DE, Robson CN. Expression of RAC 3, a steroid hormone receptor co-activator in prostate cancer. Br J Cancer. 2001;85(12):1928-36.

73. Zhou HJ, Yan J, Luo W, Ayala G, Lin SH, Erdem H, et al. SRC-3 is required for prostate cancer cell proliferation and survival. Cancer Res. 2005;65(17):7976-83.

74. Culig Z. Androgen Receptor Coactivators in Regulation of Growth and Differentiation in Prostate Cancer. J Cell Physiol. 2016;231(2):270-4.

75. Pimenta RC, Viana NI, Amaral GQ, Park R, Morais DR, Pontes J, et al. MicroRNA-23b and microRNA-27b plus flutamide treatment enhances apoptosis rate and decreases CCNG1 expression in a castration-resistant prostate cancer cell line. Tumour Biol. 2018;40(11):1010428318803011.

76. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods. 2001;25(4):402-8.

77. Linja MJ, Porkka KP, Kang Z, Savinainen KJ, Jänne OA, Tammela TL, et al. Expression of androgen receptor coregulators in prostate cancer. Clin Cancer Res. 2004;10(3):1032-40.

78. Yan J, Erdem H, Li R, Cai Y, Ayala G, Ittmann M, et al. Steroid receptor coactivator-3/AIB1 promotes cell migration and invasiveness through focal adhesion turnover and matrix metalloproteinase expression. Cancer Res. 2008;68(13):5460-8.

79. Jamroze A, Chatta G, Tang DG. Androgen receptor (AR) heterogeneity in prostate cancer and therapy resistance. Cancer Lett. 2021;518:1-9.

80. Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P, Tanner M, Keinänen R, Palmberg C, et al. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. Nat Genet. 1995;9(4):401-6.

81. Liu W, Xie CC, Zhu Y, Li T, Sun J, Cheng Y, et al. Homozygous deletions and recurrent amplifications implicate new genes involved in prostate cancer. Neoplasia. 2008;10(8):897-907.

82. 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.

83. Ryan CJ, Tindall DJ. Androgen receptor rediscovered: the new biology and targeting the androgen receptor therapeutically. J Clin Oncol. 2011;29(27):3651-8.

84. Humphrey PA. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. Mod Pathol. 2004;17(3):292-306.

85. Chen N, Zhou Q. The evolving Gleason grading system. Chin J Cancer Res. 2016;28(1):58-64.

86. Ngollo M, Lebert A, Dagdemir A, Judes G, Karsli-Ceppioglu S, Daures M, et al. The association between histone 3 lysine 27 trimethylation (H3K27me3) and prostate cancer: relationship with clinicopathological parameters. BMC Cancer. 2014;14:994.

87. Redmond AM, Bane FT, Stafford AT, McIlroy M, Dillon MF, Crotty TB, et al. Coassociation of estrogen receptor and p160 proteins predicts resistance to endocrine treatment; SRC-1 is an independent predictor of breast cancer recurrence. Clin Cancer Res. 2009;15(6):2098-106.

88. Lonard DM, O'Malley BW. Molecular Pathways: Targeting Steroid Receptor Coactivators in Cancer. Clin Cancer Res. 2016;22(22):5403-7.

8. APÊNDICE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da assinatura genética e molecular dos coativadores p160 na progressão clínica do câncer de próstata

Pesquisador: Sabrina Thalita dos Reis

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 52385721.8.0000.0068

Instituição Proponente: FUNDACAO FACULDADE DE MEDICINA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.188.336

Apresentação do Projeto:

Nova documentação foi submetida

Objetivo da Pesquisa:

Trata-se de projeto voltado para a análise dos coativadores p160 e seu impacto prognóstico na evolução do câncer de próstata

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são modestos (estudo retrospectivo sem novas intervenções)

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O protocolo encontra-se corretamente elaborado e poderá representar um avanço dos conhecimentos

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Segundo normas da CONEP, TCLEs aprovados previamente que não mencionam explicitamente o atual protocolo necessitam de reconsentimento. O projeto pode ser mantido já que está em continuidade com outras linhas de pesquisa, porém convém reconvocar os participantes para aprová-lo.

Recomendações:

Não há

Endereço: Rua Ovidio 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

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c)apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1830531.pdf	06/10/2021 11:27:49		Aceito
Folha de Rosto	PlataformaBrasilfolhaderosto.pdf	28/09/2021 12:55:51	Sabrina Thalita dos Reis	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	22/09/2021 13:59:15	Sabrina Thalita dos Reis	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	22/09/2021 13:45:06	Sabrina Thalita dos Reis	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DispensaTCLE.pdf	22/09/2021 13:42:21	Sabrina Thalita dos Reis	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