

João Emerson Alencar Santos

“Impacto da expressão proteica do gene PTEN na progressão clínica dos pacientes com
câncer de próstata submetidos à vigilância ativa”

Dissertação apresentada ao programa
de Pós-graduação da Fundação Pio XII -
Hospital de Câncer de Barretos para
obtenção do Título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof.Dr. Eliney Ferreira Faria

Co-Orientador: Prof. Dr Vinícius Duval
da Silva.

Barretos, SP 2021

Esta dissertação foi elaborada e está apresentada de acordo com as normas da Pós-Graduação do Hospital de Câncer de Barretos – Fundação Pio XII, baseando-se no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Oncologia e no Manual de Apresentação de Dissertações e Teses do Hospital de Câncer de Barretos. Os pesquisadores declaram ainda que este trabalho foi realizado em concordância com o Código de Boas Práticas Científicas (FAPESP), não havendo nada em seu conteúdo que possa ser considerado como plágio, fabricação ou falsificação de dados. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da Fundação Pio XII–Hospital de Câncer de Barretos.

Os pesquisadores declaram não ter qualquer conflito de interesse relacionado a este estudo.

Dedico este trabalho a minha esposa Fernanda, aos meus filhos João e Eduarda que dividiram comigo essa jornada e com muita compreensão e carinho permitiram que eu a concluísse. Em especial agradeço aos meus pais que sempre se esforçaram para que eu tivesse acesso à melhor formação, viabilizando assim não apenas minha vida profissional, mas principalmente minha formação pessoal.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Eliney Ferreira Faria

Ao Professor Doutor Vinícius Duval da Silva

À Professora Doutora Sandra Regina Morini da Silva.

Ao corpo clínico da Urologia do Hospital de Câncer de Barretos, pelo apoio e disponibilidade permanentes.

Ao serviço de estatística da pós-graduação, em especial o estatístico Marcos Alves.

As secretárias da pós-graduação pela disponibilidade e atenção.

A todos aqueles que na minha ausência puderam dar a devida assistência aos meus pacientes, em especial aos colegas do Urocentro, do Hospital de Base do Distrito Federal e do Serviço de Saúde da Polícia Militar do Distrito Federal.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia	Página 14
1.2 Fatores de Risco	Página 15
1.3 Diagnóstico e Estratificação de Risco	Página 15
1.4 Estadiamento	Página 17
1.5 A Vigilância Ativa	Página 17
1.6 Gene PTEN e Cancer de Próstata	Página 18

2 JUSTIFICATIVA	Página 20
-----------------	-----------

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Primário	Página 22
3.2 Objetivo Secundário	Página 22

4 METODOLOGIA

4.1 População de Estudo	Página 22
4.2 Estudo Imunohistoquímico	Página 23
4.3 Critérios de inclusão	Página 24
4.4 Critérios de exclusão	Página 25
4.5 Critério para retirada do participante do estudo	Página 25
4.6 Amostra de tecido e Processamento	Página 25
4.7 Coleta de Dados e Processo de Gerenciamento	Página 25
4.8 Dados Clínicos	Página 25
4.9 Análise Estatística de Dados	Página 26
4.10 Determinação do Tamanho da Amostra	Página 26
5 Considerações éticas	página 26
6 Local do estudo	página 27
7 Resultados	página 27
8 Discussão	página 35
9 Conclusão	página 40
10 Referências bibliográficas	página 40

ANEXOS

Anexo A - Figuras e Tabelas	Página 44
Anexo B - Ficha de Coleta de Dados	Página 54
Anexo C - Parecer Consubstanciado do CEP	Página 58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Incidência Mundial de Câncer por sítio primário	Página 14
Figura 2 – Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil homens, estimadas para o ano de 2020, segundo Unidade da Federação (neoplasia maligna da próstata).	Página 16
Figura 3 – Estadiamento do Câncer de Próstata	Página 18
Figura 4 – Ação intracelular gene PTEN	Página 19
Figura 5 – Expressão proteica do gene PTEN em espécimes de tecido prostático em humanos	Página 24
Figura 6 – Distribuição dos pacientes de acordo com resultado imunohistoquímico	Página 28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição proporcional dos tipos de câncer no Brasil	Página 15
Tabela 2 – Características da Coorte	Página 29
Tabela 3 – Formas de progressão durante a Vigilância Ativa (VA)	Página 30
Tabela 4 – Resultado Imunohistoquímica do gene PTEN	Página 31
Tabela 5 – Progressão de doença X resultado imunohistoquímica na biópsia diagnóstica (N=95)	Página 32
Tabela 6 – Progressão de doença X resultado imunohistoquímica na primeira biópsia de controle (N=129)	Página 32
Tabela 7 – Progressão de doença X resultado imunohistoquímica na segunda biópsia de controle (N=36)	Página 32
Tabela 8 – Progressão de doença X resultado imunohistoquímica na peça cirúrgica (N=11)	Página 33
Tabela 9 – Progressão de doença X resultado imunohistoquímica em todos os cenários (N=156)	Página 33
Tabela 10 – Relação entre PTEN intacto ao diagnóstico e progressão na biópsia de controle	Página 34
Tabela 11 - Relação entre alteração na expressão do gene PTEN ao diagnóstico e progressão na biópsia de controle	Página 34
Tabela 12 - Seguimento dos Pacientes durante a VA	Página 35

LISTA DE ABREVIATURAS

Cap	Câncer de Próstata
VA	Vigilância Ativa
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
PRIAS	Prostate Cancer Research International Active Surveillance
ISUP	International Society of Urological Pathology
RNM	Ressonância Nuclear Magnética

RESUMO

Impacto da expressão proteica do gene PTEN na progressão clínica dos pacientes com câncer de próstata submetidos à vigilância ativa. Dissertação (Mestrado). Barretos: Hospital de Câncer de Barretos; 2021.

INTRODUÇÃO: O objetivo desse trabalho foi avaliar o impacto da expressão proteica do gene PTEN na condução clínica dos pacientes que se encontravam em vigilância ativa em um centro de referência em Oncologia no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS: Foi analisado o material proveniente das biópsias diagnósticas e de controle dos pacientes em vigilância ativa, assim como o material da peça cirúrgica daqueles pacientes que foram submetidos a tratamento cirúrgico com finalidade curativa. A análise foi feita por método imunohistoquímico com anticorpo monoclonal de rato anti - PTEN humano, com posterior leitura das lâminas pelo serviço de Patologia do Hospital do Câncer de Barretos.

RESULTADOS: Não houve diferença estatística na progressão da doença durante o seguimento dos pacientes em vigilância ativa quando comparamos aqueles que evoluíram com progressão com aqueles que não apresentaram progressão. A já conhecida baixa incidência da alteração da expressão proteica do gene PTEN em pacientes de baixo risco, assim como a grande perda de material para análise por se tratar de um estudo retrospectivo, foram os fatores que mais contribuíram para diminuição acentuada da amostra inicial e consequentemente para o resultado do trabalho.

CONCLUSÃO: A alteração na expressão proteica do gene PTEN não se mostrou útil quando utilizado como método auxiliar na avaliação de progressão de doença em pacientes submetidos a vigilância ativa.

ABSTRACT

Impact of PTEN gene protein expression on clinical progression of prostate cancer patients undergoing active surveillance. **Dissertation (Master's degree)**. Barretos: Hospital de Câncer de Barretos; 2021.

INTRODUCTION: The aim of this study is to evaluate the impact of protein expression of the PTEN gene on the clinical management of patients who were under active surveillance at a reference center for Oncology in Brazil.

MATERIALS AND METHODS: We analyzed the proven material from diagnostic and control biopsies of patients under active surveillance, as well as the material of the surgical piece of those patients who underwent surgical treatment with curative purpose. An analysis was performed by immunohistochemical method with mouse monoclonal antibody anti-human PTEN, with subsequent reading of the slides by the Pathology Service of the Hospital do Câncer de Barretos.

RESULTS: There was no statistical difference in disease progression during the follow-up of patients under active surveillance when comparing those who progressed with those who did not. The already known low incidence of altered PTEN gene protein expression in low-risk patients, as well as the great loss of material for analysis because it is a retrospective study, were the factors that most contributed to a marked decrease in the initial sampling and consequently for the result of the study.

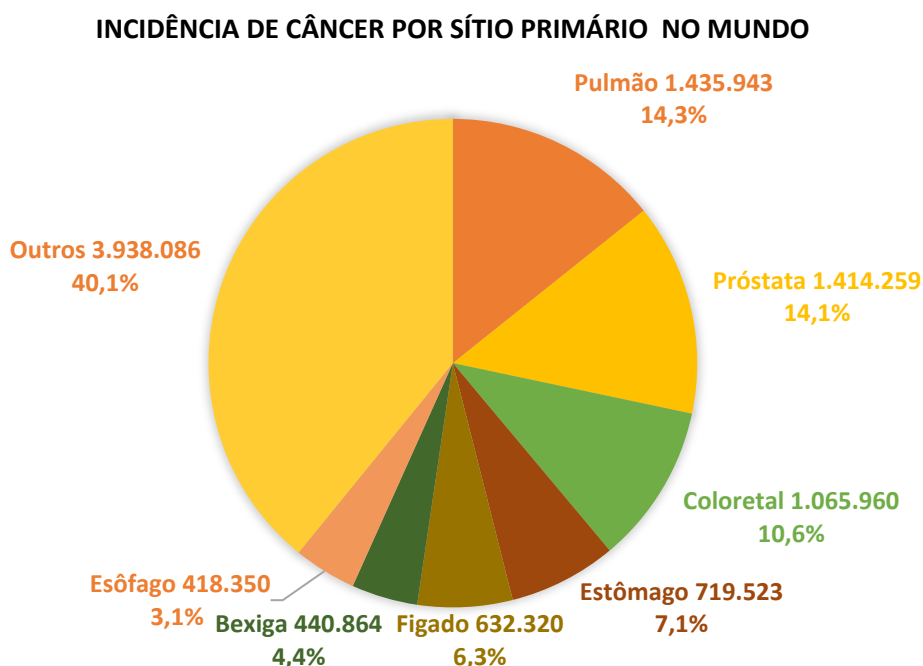
CONCLUSION: The alteration in the protein expression of the PTEN gene did not prove to be useful when used as an auxiliary method in the evaluation of disease progression in patients undergoing active surveillance.

1- INTRODUÇÃO

1.1 - Epidemiologia

O câncer de próstata (CaP) é o terceiro câncer mais frequente na população masculina mundial, perdendo em incidência apenas para o câncer de pele não melanoma e para o câncer de pulmão. Segundo o último levantamento realizado pelo *Global Cancer Observatory*, a incidência mundial foi de 1.414.259 novos casos em 2020^[1] – Figura 1. Estudos de autópsia mostram que é uma doença relacionada a idade, com um aumento progressivo da sua incidência a cada década de vida, variando de 5% para homens com menos de 30 anos até 59% para aqueles com mais de 79 anos^[2]. A maior incidência mundial permanece sendo no norte europeu com um risco cumulativo de 10,4% e a menor no sul da Ásia com 0,72%, havendo ainda uma relação direta entre a incidência e o índice de desenvolvimento humano (IDH), sendo mais frequente em países com maior IDH^[1].

Figura 1 – Incidência Mundial de Câncer por sítio primário



Fonte: Globocan 2020. Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>). International Agency for Research on Cancer 2021.

No Brasil, excetuando-se o câncer de pele não melanoma, o CaP é o mais comum no sexo masculino, acometendo 65.840 homens por ano, o que corresponde a 29,2% dos novos casos de câncer nessa população diagnosticados em 2020. Esses valores correspondem a 62,95 novos casos para cada 100 mil homens, com uma mortalidade anual de 15.983 pacientes, tornando o CaP a segunda causa de morte por câncer entre homens no Brasil, atrás apenas do câncer de pulmão.

Tabela 1 – Distribuição proporcional dos tipos de câncer no Brasil
Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma*

Homens			Mulheres		
Localização Primária	Casos	%	Localização Primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%	Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e reto	20.520	9,1%	Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%	Colo do útero	16.590	7,4%
Estômago	13.360	5,9%	Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
Cavidade oral	11.180	5,0%	Glândula tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%	Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%	Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%	Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%	Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%	Sistema nervoso central	5.220	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019.

Conforme dados do INCA (Instituto Nacional do Câncer) a maior incidência é nas regiões Nordeste e Centro Oeste seguidas pelas regiões Sul e Sudeste.

1.2 - Fatores de Risco

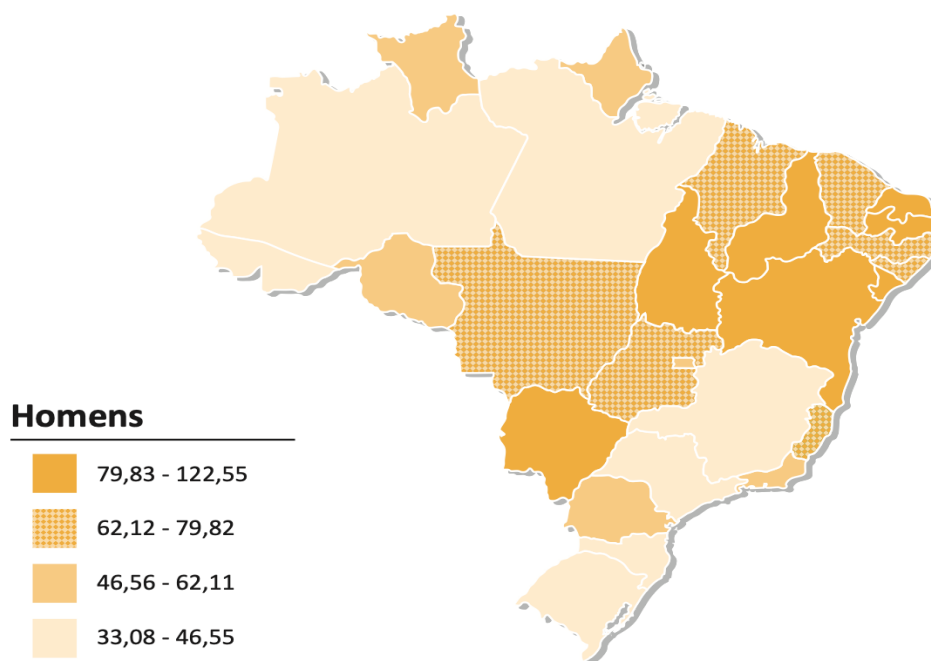
Os principais fatores de risco associados ao CaP são a idade, a raça e a hereditariedade. A maioria dos diagnósticos ocorrem em homens após os 60 anos e homens negros apresentam uma maior incidência quando comparados aos brancos ocidentais. Para indivíduos com histórico familiar de CaP com grau de parentesco próximo, o risco aumenta 2,2 vezes, sendo importante o exame para detecção precoce a partir dos 40 anos nessa população^[3].

1.3 - Diagnóstico e Estratificação de Risco

O diagnóstico do CaP baseia-se na biópsia prostática realizada por via transretal ou transperineal, de forma sextante com retirada de pelo menos 12 fragmentos. A análise histopatológica define o grau de diferenciação celular da neoplasia através do padrão de Gleason. A associação de um padrão predominante juntamente com um padrão secundário,

a partir de uma alteração celular e arquitetural pré-estabelecidas, permite definir um escore de Gleason^[4]. Uma vez definido esse escore juntamente com o estadiamento clínico, valor do PSA, número de fragmentos comprometidos e percentual de doença por fragmento, a doença é classificada como muito baixo risco, baixo risco, risco intermediário, alto risco ou muito alto risco. A classificação de risco nos auxilia a definir a conduta terapêutica^[3].

Figura 2 - Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil homens, estimadas para o ano de 2020, segundo Unidade da Federação (neoplasia maligna da próstata).



Fonte: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019.

Sabemos hoje que a estratificação de risco está intimamente ligada a acurácia da biópsia diagnóstica. Apesar da biópsia guiada por ecografia transretal ainda ser um procedimento padrão, atualmente dispomos de marcadores que permitem melhorar essa acurácia à medida que evitam biópsias desnecessárias levando a um menor índice de falso negativo. Dentre esses marcadores dispomos do PCA3 (Prostate Cancer Antigen 3), realizado na urina após massagem prostática que apresenta um valor preditivo negativo de 88%^[5]. Temos ainda a Ressonância Nuclear Magnética Multiparamétrica que já demonstrou ser uma forma segura

de evitar o diagnóstico de doença clinicamente insignificante, diminuindo assim o número de pacientes tratados desnecessariamente^[6-8].

1.4 - Estadiamento

Após o diagnóstico inicial, o tratamento do CaP depende primordialmente do estadiamento clínico da doença – Figura 3. Na doença localizada pode-se adotar a observação vigilante em pacientes idosos com pequena expectativa de vida, naqueles com expectativa de vida maior que vinte anos, a vigilância ativa (VA) na doença de baixo risco é uma alternativa ao tratamento radioterápico ou cirúrgico^[3].

1.5 – A Vigilância Ativa

Desde quando foi descrita pela primeira vez por Choo e colaboradores em 2002^[9] a VA é uma opção em pacientes diagnosticados com câncer de próstata (CaP) inicial de baixo risco ou muito baixo risco e consiste na monitorização ativa e periódica do curso da doença, com expectativa futura para intervenção com finalidade curativa caso ocorra progressão^[10]. Com o diagnóstico de CaP sendo realizado cada vez mais precocemente, o número de pacientes com critérios para VA vem se tornando cada vez maior. O risco relacionado aos efeitos colaterais do tratamento curativo, em especial a disfunção sexual e a incontinência urinária, transformou a VA em uma opção cada vez mais comum na prática urológica^[11]. A história natural do adenocarcinoma de próstata de baixo risco mostra que na maioria das vezes, mesmo no longo prazo, ele não representa ameaça à vida do paciente^[12]. Isso faz com que sejamos cada vez mais criteriosos na indicação do tratamento com finalidade curativa na doença de baixo risco, evitando-se assim tratamentos desnecessários^[13].

Dentre as vantagens da VA é importante destacar o fato de 2/3 dos pacientes evitarem ou retardarem por anos seu tratamento, sem prejuízo ao prognóstico. Isso faz com que os efeitos adversos da cirurgia ou da radioterapia não ocorram ou sejam postergados, contribuindo assim para uma melhor qualidade de vida, evitando-se tratar uma condição que naturalmente se comportaria de forma indolente^[14].

Os marcadores de progressão do CaP atualmente utilizados no acompanhamento de pacientes em VA estão relacionados aos achados da biópsia de controle, como por exemplo o aumento do número de fragmentos comprometidos, a elevação do percentual de doença por fragmento e a piora do escore de Gleason^[15]. Para definirmos se o paciente poderá ou não

entrar em um programa de VA é importante excluirmos algumas condições além de uma classificação de risco desfavorável. É importante que o patologista defina a ausência de carcinoma intraductal ou de padrão cribiforme na análise histológica e exclua alterações em genes de reparo do DNA^[15].

Figura 3 - Estadiamento do Câncer de Próstata

TX – Tumor primário não pode ser avaliado.
T0 – Não há evidência de tumor primário.
T1 – Tumor não palpável e não visualizado em exames de imagem.
T1a – Achado histológico incidental em 5% ou menos de tecido ressecado.
T1b – Achado histológico incidental em mais de 5% de tecido ressecado.
T1c – Tumor identificado por biópsia de agulha fina em um ou ambos lobos, mas não palpável.
T2 – Tumor é palpável e confinado à próstata.
T2a – Tumor envolve metade ou menos de um dos lobos da próstata.
T2b – Tumor envolve mais da metade de um lobo, mas não invade ambos os lobos.
T2c – Tumor invade ambos os lobos da próstata.
T3 – Tumor extraprostático que não é fixo ou não invade estruturas adjacentes.
T3a – Extensão extracapsular (unilateral ou bilateral).
T3b – Tumor invade a vesícula seminal.
T4 – Tumor está fixo ou invade outras estruturas adjacentes, que não as vesículas seminais, como o esfíncter externo, reto, bexiga, musculatura elevadora pélvica e/ou parede pélvica.

TUMOR PRIMÁRIO (T) ESTADIAMENTO PATOLÓGICO (pT)

pT2 – Confinado à próstata.
pT3 – Extensão extraprostática.
pT3a – Extensão extraprostática (unilateral ou bilateral) ou invasão microscópica do colo vesical.
pT3b – Tumor invade a vesícula seminal.
pT4 – Tumor está fixo ou invade outras estruturas adjacentes, que não as vesículas seminais, como o esfíncter externo, reto, bexiga, musculatura elevadora pélvica e/ou parede pélvica.

LINFONODOS REGIONAIS (N)

NX – Linfonodos regionais não avaliados.
N0 – Ausência de metástases linfonodais.
N1 – Presença de metástases em linfonodos regionais.

METÁSTASE (M)

M0 - Sem evidência de metástase à distância.
M1 - Presença de metástase à distância.
M1a - Metástase em linfonodos não regionais
M1b - Metástase óssea
M1c - Metástase em outros sítios com ou sem metástase óssea.

Fonte: AJCC Cancer Staging Manual, eighth edition (2017) Published by Springer International Publishing.

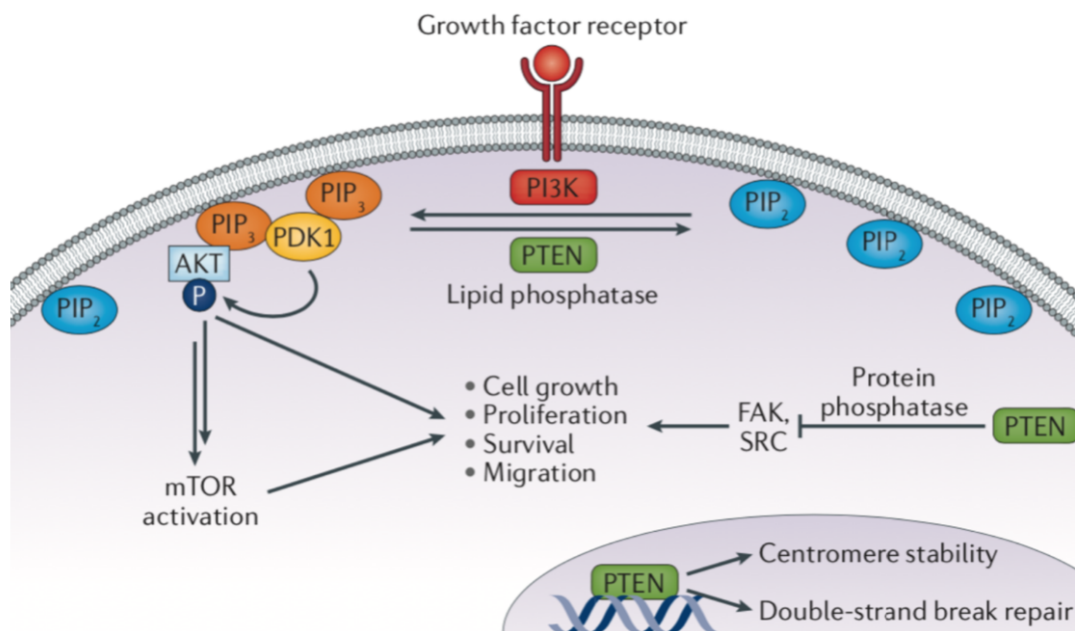
A alteração da expressão proteica do gene PTEN é um importante marcador de má evolução da doença e a identificação dessa condição poderia melhorar a seleção de pacientes a serem inseridos ou mantidos em um programa de vigilância ativa^[16-19]. A identificação dessa condição antes da introdução do paciente em um programa de vigilância ativa evitaria atraso no tratamento de uma condição que sabidamente evoluiria de forma desfavorável.

A alteração na expressão proteica do gene PTEN é uma alteração que ocorre em 20 a 50% dos tumores primários^[20]. O gene PTEN localiza-se no braço longo do cromossomo 10 no *locus* 23.31 (10q23.31) sendo um gene de supressão tumoral frequentemente alterado em neoplasias humanas^[21]. A expressão inadequada desse gene na membrana celular leva a um acúmulo de Fosfatidilinositoltrifosfato (PIP3) favorecendo as vias Phosphoinositide-Dependent Kinase1 (PDK1) e Proteína Kinase (AKT), prejudicando assim a regulação da apoptose, metabolismo, diferenciação e migração celulares^[22] conforme ilustrado na figura 4. No núcleo celular sua expressão inadequada leva à instabilização dos centrômeros e prejudica o reparo da dupla hélice do DNA^[20]. A conversão de PIP 3 em Fosfatidilinositoldifosfato (PIP 2) previne a ativação da via AKT pela via PDK1 resultando na inibição da proliferação celular. Na alteração da expressão proteica do gene PTEN ocorre um acúmulo de PIP3, levando a ativação da via PDK1 e AKT com consequente progressão do ciclo celular, maior proliferação celular e inibição da apoptose.

A perda de expressão desse gene está relacionada com o aumento do padrão histológico de Gleason no CaP, um maior risco de recorrência da doença e maior agressividade. Dessa forma, a alteração da expressão proteica do gene PTEN desempenha um papel importante na predição de progressão e recorrência de tumores da próstata^[19, 23-25].

Com o objetivo de selecionar de forma mais precisa os pacientes que deverão entrar ou permanecer em VA e evitar que pacientes com potencial risco de progressão tenham o seu tratamento postergado, buscamos avaliar a expressão proteica do gene PTEN nos pacientes em vigilância ativa, realizando análise imunohistoquímica nas biópsias diagnóstica e de controle, em um centro de referência de câncer urológico no Brasil.

Figura 4 - Ação intracelular gene PTEN^[20]



Fonte: Clinical implications of *PTEN* loss in prostate cancer^[20].

2 - JUSTIFICATIVA

Trabalhos anteriores já avaliaram a alteração da expressão proteica do gene PTEN na biópsia diagnóstica^[16, 26-28]. A literatura é escassa na avaliação dessa alteração em biópsias de controle nos pacientes que se encontram em um programa de VA.

Caracteristicamente o CaP é uma doença multifocal^[29] e isso sabidamente expõe a biópsia sextante convencional a falhas à medida que não abrange todas as áreas onde a doença possa estar presente. A heterogeneidade molecular e genômica intratumoral também é uma constante nesse tipo de neoplasia sendo comum até mesmo dentro de um mesmo foco da doença^[29, 30]. As alterações moleculares antecedem a alteração histológica e a utilização de métodos moleculares permitiria identificar, de forma mais precisa, aquele paciente que erroneamente seria inserido ou mantido em um programa de VA baseado apenas nas alterações da biópsia diagnóstica. Aproximadamente 30% dos pacientes em VA evoluem com progressão de doença no decorrer do acompanhamento. Hamdy, F.C. e colaboradores ao avaliarem o desfecho em 10 anos de seguimento de pacientes submetidos a prostatectomia radical, radioterapia ou vigilância ativa constataram que a mortalidade câncer específica foi a mesma independentemente da conduta adotada, no entanto a VA está associada ao maior risco de progressão de doença e de aparecimento de metástases^[31].

O conhecimento de alterações moleculares em pacientes com câncer de próstata localizado pode se tornar um dado importante, que além de auxiliar a estratificação de risco na VA, poderia trazer informações quanto à biologia tumoral^[32].

A importância de avaliar essa alteração na expressão proteica do gene PTEN não se restringe à identificação de neoplasias prostáticas de pior prognóstico, mas também tem se mostrado útil na avaliação de resposta a medicações antineoplásicas, como por exemplo: a falta de resposta ao Trastuzumab em pacientes com câncer de mama^[33], resistência aos inibidores do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) Genitinib e Erlotinib nas neoplasias pulmonares não pequenas células^[34] ou como preditor de resposta e sobrevida em pacientes com câncer colorretal recebendo Cetuximab^[35]. Estratégias terapêuticas que exploram a alteração na expressão proteica do gene PTEN podem ser eficazes no tratamento do câncer de próstata com essa característica. Visando desenvolver novos medicamentos, estudos vêm sendo realizados na tentativa de restabelecer a função celular do gene PTEN^[32] ou inibir a via PI3K^[36].

A utilização de ferramentas moleculares nesse contexto permitiria identificar precocemente essa categoria de paciente, conduzindo-o a um tratamento com finalidade curativa, o que evitaria mantê-lo erroneamente em um protocolo de VA.^[23, 28, 37, 38]

Dentre as ferramentas disponíveis atualmente, estão recomendados para uso e auxílio na condução dos pacientes em vigilância ativa o Oncotype Dx Prostate[®], Prolaris[®], Decipher[®] e ProMark[®], todos realizados no material da biópsia convencional, sendo que os três primeiros fazem uma avaliação genômica quanto à proliferação celular e o último mostra alterações em oito marcadores proteicos relacionados à agressividade tumoral^[39-41]. Apesar de ainda não recomendadas para uso clínico de rotina, podem auxiliar na identificação de pacientes com alteração genômica relacionadas a pior prognóstico e maior agressividade da doença^[42]. Nesse contexto um resultado positivo identificaria o paciente com doença de maior risco e o conduziria para um tratamento com finalidade curativa, retirando-o da VA^[43].

Frente à necessidade de identificar novos métodos para uma adequada seleção dos pacientes com CaP que deverão permanecer em um protocolo de VA, nosso trabalho analisou, de forma retrospectiva, a importância da alteração na expressão proteica do gene PTEN nos pacientes em VA. Aqui avaliamos não somente a biópsia diagnóstica, mas também as biópsias de acompanhamento, visando verificar o perfil da expressão gênica ao longo da VA, que pode se tornar uma ferramenta adicional na tomada de decisão clínica.

A análise imunohistoquímica do gene PTEN é um teste de baixo custo e de fácil acesso à maioria dos laboratórios. A possibilidade de identificação precoce da doença de alto risco assim como um melhor conhecimento do comportamento biológico tumoral nos permitiria selecionar mais precocemente aqueles que se beneficiariam do tratamento curativo.

3 - OBJETIVOS

3.1 - Objetivo Primário

Avaliar a importância da alteração na expressão proteica do gene PTEN nas biópsias inicial e de controle assim como na peça cirúrgica dos pacientes com câncer de próstata submetidos à vigilância ativa.

3.2 - Objetivo Secundário

Possibilitar que a identificação da alteração na expressão proteica do gene PTEN se torne um fator determinante na condução do paciente para um tratamento curativo, evitando a inserção ou manutenção do mesmo em um programa VA, o que acarretaria maior risco de evolução desfavorável e retardo no tratamento.

4 - METODOLOGIA

4.1 - População de Estudo

Para este estudo foram coletados dados de forma retrospectiva, dos prontuários de pacientes com câncer de próstata localizado e de baixo risco, que se encontravam inseridos no programa de vigilância ativa no serviço de Urooncologia do Hospital de Câncer de Barretos no período de 2010 a 2019.

Foram selecionados pacientes que obedeceram aos critérios de vigilância ativa do Hospital, a saber:

- Ausência de Gleason padrão 4 ou 5 na amostra da biópsia de próstata;
- Menos de 3 fragmentos de biópsia positivos para câncer;
- PSA menor que 10 ng/dl.

O seguimento ambulatorial foi feito com PSA e exame digital da próstata

semestrais, além de biópsias de controle realizadas com intervalo de 12 a 18 meses após a biópsia diagnóstica. No caso de progressão da doença, foi discutido com o paciente a possibilidade de tratamento curativo com radioterapia ou cirurgia.

Os pacientes foram divididos em dois grupos:

- **Grupo 1:** pacientes que não mostraram progressão do número de fragmentos e / ou no percentual de doença por fragmento e/ou na progressão do escore de Gleason nas biópsias de controle, aqui caracterizadas como biópsias realizadas após a biópsia diagnóstica.
- **Grupo 2:** pacientes que mostraram esta progressão do número de fragmentos e / ou no percentual de doença por fragmento e/ou na progressão do escore de Gleason nas biópsias de controle, aqui caracterizadas como biópsias realizadas após a biópsia diagnóstica.

4.2 - Estudo Imunohistoquímico

A marcação imunohistoquímica do gene PTEN foi feita de forma automatizada com anticorpo monoclonal de rato Anti - PTEN humano clone 6H2.1 da marca Dako. Essa marcação foi feita em cortes histológicos de 5 micras de espessura dos blocos de parafina previamente fixados em formol e já analisados pelo Patologista, que selecionou a região tumoral com maior alteração histopatológica representando o principal foco de neoplasia.

A expressão proteica do gene PTEN pode ser alterada através de mutações, deleções, metilação, dentre outros mecanismos. A imunohistoquímica já provou ser uma forma eficiente para avaliar o *status* do gene PTEN em todos esses cenários.^[44, 45]

Em estudo comparando-se a técnica imunohistoquímica com o teste de FISH na análise da alteração da expressão proteica do gene PTEN, Lotan, T.L e colaboradores avaliaram mais de 4400 tumores de próstata, sendo evidenciada uma elevada concordância entre as duas técnicas, demonstrando assim que imunohistoquímica é um método adequado e confiável para essa finalidade^[46].

Em imunohistoquímica a não expressão proteica do gene PTEN é definida quando mais de 10% dos núcleos e citoplasmas demonstram acentuada diminuição ou completa ausência de reação imunohistoquímica ao serem comparados com glândulas e / ou estroma benigno dos tecidos adjacentes, utilizados como controle interno positivo para a expressão proteica

do gene. Se a amostra evidencia reação imunohistoquímica em mais de 90% dos núcleos / citoplasmas ela é então classificada como PTEN intacto^[45]

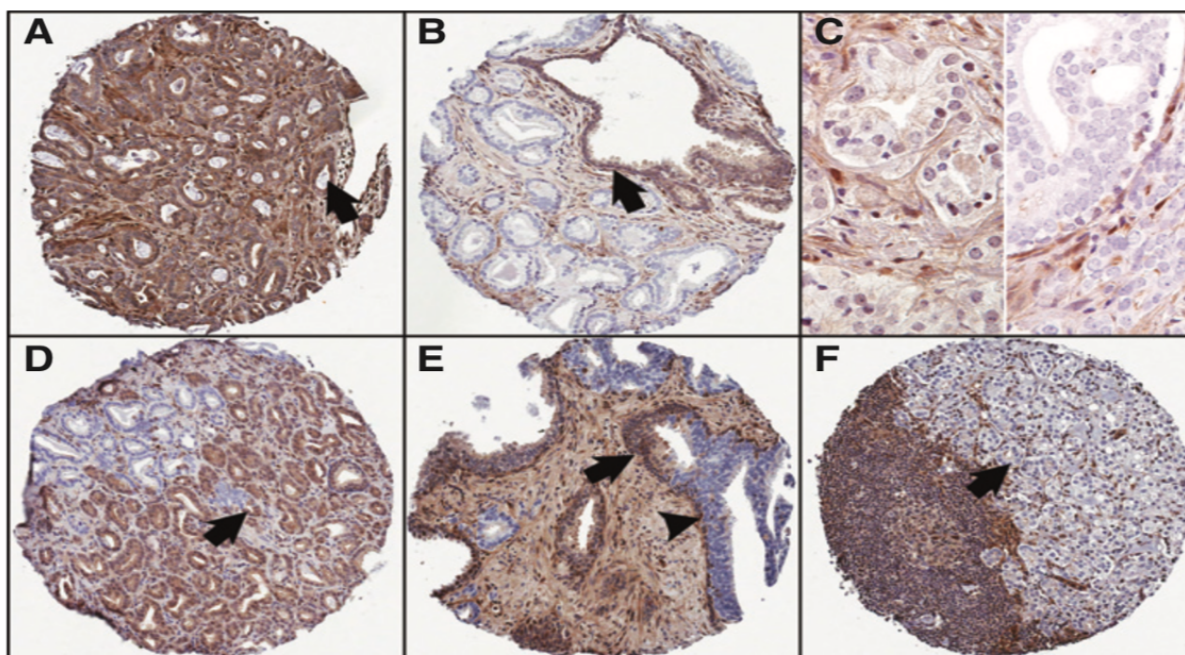


Figura 5 - Expressão proteica do gene PTEN em espécimes tecido prostático em humanos: A, caso típico de câncer com expressão uniforme em todas as glândulas malignas. B, caso típico de câncer com alteração na expressão proteica do gene PTEN em glândulas malignas, no entanto glândulas benignas adjacentes (seta) mantêm a expressão gênica do PTEN. C, alguns tumores mostram uma positividade fraca (esquerda) mas podem ser prontamente distinguidas dos casos com total ausência da expressão do gene PTEN (direita). D, heterogeneidade intratumoral para expressão proteica do gene PTEN é evidente nesse espécime tumoral, onde glândulas malignas com perda do PTEN e PTEN intacto estão interligadas. Note a presença de células com e sem expressão do gene PTEN dentro de uma única glândula maligna (seta). E, PIN de alto grau com deleção do PTEN na maioria das glândulas envolvidas, no entanto a proteína do PTEN é expressa numa minoria de células luminiais (seta maior) e em todas as células basais (seta menor). Uma glândula benigna adjacente expressa o PTEN. F, Ausência de expressão do PTEN em metástase linfonodal de carcinoma prostático. Apesar do citoplasma ser negativo, algumas glândulas mostram uma pequena quantidade de membrana plasmática com expressão do gene (seta) um achado de significância incerta.

Fonte: Lotan, T.L., et al., PTEN protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. Clin Cancer Res, 2011. 17(20): p. 6563-73.

A leitura das lâminas marcadas pelo método imunohistoquímico foi feita por um patologista do Serviço de Patologia do Hospital do Câncer de Barretos, sendo importante destacar a boa acurácia desse método. Em estudo para validação da análise imunohistoquímica em CaP Lotan, T.L., e colaboradores demonstraram concordância de 95% entre patologistas na leitura imunohistoquímica da expressão proteica do gene PTEN nessas amostras^[45].

4.3 - Critérios de Inclusão:

Para ser elegível para o estudo, o participante precisou ter:

- Entre 50-90 anos;
- Critérios clínicos para entrar em protocolo de vigilância ativa;
- Ausência de Gleason padrão 4 ou 5 da amostra da biópsia de próstata;
- Menos de 3 fragmentos de biópsia positivos para câncer;
- PSA menor que 10 ng/dl;
- Realizado pelo menos uma biópsia de controle.

4.4 - Critérios de exclusão:

O paciente foi considerado inelegível para o estudo:

- Quando os dados para análise foram insuficientes ou incompletos;

4.5 - Critério para retirada do participante do estudo:

Paciente foi erroneamente inscrito no estudo (não fornecia critérios de seleção)

4.6 - Amostra de tecido e Processamento

Foi realizado estudo imunohistoquímico no material das lâminas da biópsia diagnóstica, das biópsias de controle e na peça cirúrgica da prostatectomia radical, caso o paciente tenha saído do programa de VA para realizar tal procedimento.

4.7 - Coleta de Dados e Processo de Gerenciamento

Os dados quantitativos e qualitativos foram tabulados e analisados de acordo com a literatura referente a cada instrumento.

4.8 - Dados Clínicos

Dados adicionais da coleta incluíram as seguintes informações:

- Idade;
- Histórico familiar de câncer de próstata;
- Sintomas urológicos concomitantes;
- Resultado do toque retal;
- Resultado da biópsia inicial;
- Resultado da biópsia de controle;

- PSA total no início da vigilância ativa;
- Resultado da Ressonância Nuclear Magnética quando disponível;
- Estágio clínico.

4.9 - Análise Estatística de Dados

Foi realizada uma análise Descritiva dos dados (média, desvios padrão, mínimo, máximo e quartis) para as variáveis quantitativas e tabelas de frequência para as variáveis qualitativas.

Foi adotado o programa de software SPSS 21.0 (*Statistical Package for Social Sciences*). A análise estatística foi realizada com nível de significância de 5%.

4.10 - Determinação do Tamanho da Amostra

Com base nos resultados encontrados por *B J Trock et al*^[23] para as diferenças de proporções encontradas (PTEN intact x PTEN loss) foi realizado o cálculo amostral para diferenças de proporções utilizando alocação ótima de Newman considerando significância de 0.05 e poder de 0.95, calculou-se o tamanho amostral de 126 unidades, sendo 45 unidades de pacientes que apresentaram progressão e 81 de pacientes que não apresentaram.

5 - CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Foi solicitado ao Comitê de Ética desta instituição a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido visto que se trata de estudo retrospectivo, com mínimo risco para os participantes. Os riscos inerentes ao estudo estão relacionados à quebra accidental de confidencialidade dos dados, por se tratar de levantamento junto aos prontuários, não sendo possível o contato com os participantes da pesquisa. Os pesquisadores comprometeram-se a preservar a privacidade dos participantes da pesquisa, garantindo que os dados coletados fossem utilizados única e exclusivamente para a execução do projeto em questão e que as informações divulgadas, de maneira alguma poderia identificar os participantes de pesquisa.

Em respeito à Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, o projeto de pesquisa está cadastrado na Plataforma Brasil sob número CAAE 93166618.3.0000.5437 e já se encontra aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Câncer de Barretos/Fundação Pio XII.

Confidencialidade e Proteção da Privacidade

Os registros do estudo foram mantidos confidenciais conforme previsto em lei. Somente os pesquisadores tiveram acesso aos dados, garantindo assim o sigilo dos participantes do estudo.

Riscos e benefícios potenciais aos participantes

Os riscos para os pacientes são mínimos, pois foi utilizado material biológico armazenado em parafina e dados do prontuário. O risco de perda de confidencialidade foi prevenido identificando-se os participantes por números. Os pesquisadores se comprometeram a não esgotar o material biológico. Em relação aos benefícios, o estudo contribuirá para o desenvolvimento de ferramentas visando melhorar a predição da progressão do câncer de próstata em vigilância ativa. Poderá não haver benefício direto aos participantes pois trata-se de um estudo retrospectivo. Após conclusão do estudo, futuros participantes dos protocolos de Vigilância Ativa em Câncer de Próstata poderão se beneficiar.

6 - LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Serviço de Patologia do Hospital do Câncer de Barretos (HCB), a análise imunohistoquímica foi feita de forma automatizada e a leitura das lâminas efetuada por dois patologistas do serviço.

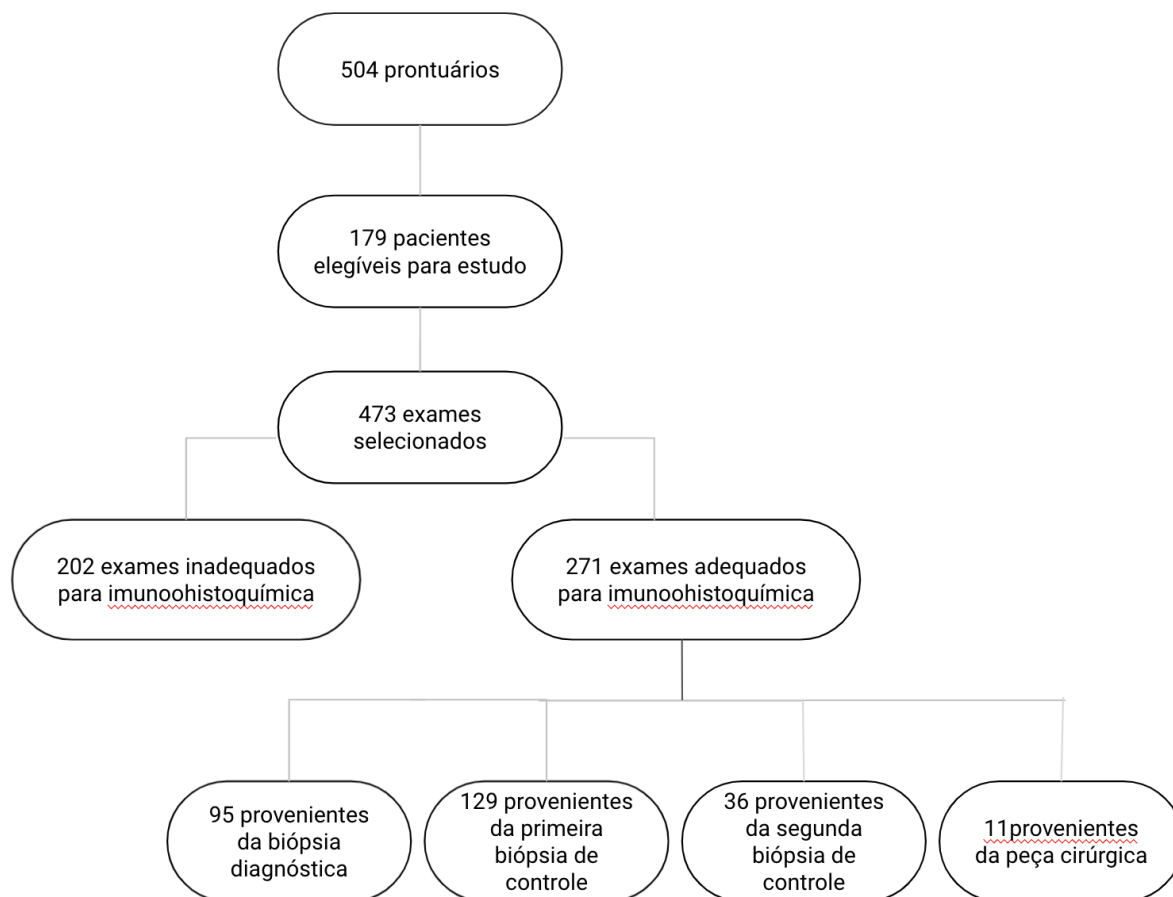
7 - RESULTADOS:

Foram selecionados 179 pacientes que preencheram critérios para admissão em nosso trabalho. Esses pacientes geraram 473 exames provenientes das biópsias diagnósticas, primeira e segunda biópsias de controle e da peça cirúrgica. Após avaliação desse material disponível, 271 exames foram selecionados para análise por apresentarem quantidade e qualidade adequadas para realização do estudo imunohistoquímico. Esses 271 exames eram compostos por 95 exames provenientes da biópsia diagnóstica, 129 exames da primeira biópsia de controle, 36 exames da segunda biópsia de controle e 11 exames da peça cirúrgica - Figura 6.

A idade média dos pacientes foi de 63,8 anos, sendo a maioria sem história familiar de neoplasia da próstata e sem sintomas relacionados ao esvaziamento vesical. O exame digital da próstata mostrou-se alterado numa minoria de pacientes e a maioria realizou sua biópsia diagnóstica fora do Hospital do Câncer de Barretos. Todas as biópsias diagnósticas que

foram realizadas fora da instituição passaram por revisão pelo Serviço de Patologia do Hospital de Câncer de Barretos e foram submetidas a estudo imunohistoquímico para confirmação do CaP – Tabela 2.

Figura 6 – Distribuição dos pacientes de acordo com resultado imunohistoquímico



O escore de Gleason foi 3+3=6 (ISUP 1 - International Society of Urological Pathology 1) em 94,9% dos pacientes na amostra inicial e a Ressonância Nuclear Magnética foi realizada somente em 57 pacientes, fato esse explicado pelo fato do estudo contemplar pacientes em vigilância ativa desde o ano de 2010, período em que tal exame não era disponibilizado. A média do PSA no início da vigilância ativa foi de 5,0 ng/ml e 98,2% dos pacientes na amostra inicial tiveram seu estadiamento clínico classificado como T1 ou T2a.

Foram analisados estudos imunohistoquímicos de 179 pacientes sendo 87 pacientes que apresentavam estudos histopatológicos sem evidência de progressão (48,6%) e 92 pacientes que apresentavam estudos histopatológicos com evidência de progressão (51,4%) - Tabela 3.

Importante destacar que esse alto percentual de progressão não se trata dos 179

pacientes, mas sim dos 271 exames que se encontravam adequados para análise. Quando analisamos a progressão dentre os 179 pacientes do estudo esse índice foi de 31,8%, o que é compatível com dados da literatura mundial em que esse índice varia de 20% a 40% considerando-se cinco anos de seguimento em VA^[47].

Tabela 2 - Características da Coorte

	Média	Mediana		
Idade	63,8	64,25	-	-
História familiar de neoplasia da próstata	Sim (%)	Não (%)		
	16,9	83,1	-	-
Sintomas relacionados ao esvaziamento vesical	Sim (%)	Não (%)		
	29,5	79,5	-	-
Exame digital da próstata	Normal (%)	Alterado (%)		
	80,7	19,3	-	-
Realizaram imunohistoquímica na biópsia diagnóstica	Sim (%)	Não (%)		
	58,4	41,6	-	-
Biópsia Diagnóstica no Hospital de Cancer de Barretos	Sim (%)	Não (%)		
	41,6	58,4	-	-
Escore de Gleason na Biópsia Diagnóstica	Gleason 3+3=6	Gleason 3+4=7	Gleason 4+3=7	
	94,9%	4,5%	0,6%	-
Resultado RNM* para a Vigilância Ativa (n=57)	Positiva	Negativa		
	42,1%	57,9%	-	-
Estadiamento Clínico	T1	T2a	T2b	T3a
	72,9%	25,3%	1,2%	0,6%
PSA no momento da VA	Média	Mediana		
	5,0ng/ml	4,71 ng/ml	-	-

*Ressonância Nuclear Magnética

Os critérios considerados para progressão foram: aumento do número de fragmentos comprometidos nas biópsias de controle e/ou elevação do percentual de neoplasia por fragmento comprometido e/ou elevação do escore de Gleason.

Dentre as análises imunohistoquímicas que evidenciaram progressão (n=92) foi observado: elevação do número de fragmentos comprometidos em 81 pacientes (89%); a elevação do percentual de comprometimento por fragmento ocorreu em 75 pacientes (82,4%) e a progressão do escore de Gleason foi identificada em 55 pacientes (60,4%) – Tabela 3.

Tabela 3 – Índice e formas de progressão durante a Vigilância Ativa (VA)

Houve Progressão	Sim (%)	Não (%)
	31,8%	68,2
Aumento do número de fragmentos (n=92)	Sim (%)	Não (%)
	89	11
Aumento do percentual de doença por fragmento (n=92)	Sim (%)	Não (%)
	82,4	17,6
Aumento do escore de Gleason (n=92)	Sim (%)	Não (%)
	60,4	39,6

A análise imunohistoquímica foi realizada na biópsia diagnóstica e/ou na primeira biópsia de controle e/ou na segunda biópsia de controle e/ou na peça cirúrgica dos pacientes submetidos a prostatectomia radical. Por se tratar de um estudo retrospectivo, em muitos casos analisados não foi possível realizar o estudo imunohistoquímico devido à falta de material histológico suficiente para análise ou por uma reação imunohistoquímica inadequada para interpretação do resultado.

Nas biópsias diagnósticas o gene PTEN estava íntegro em 93,7% dos pacientes e encontrava-se com alteração na sua expressão proteica (reação negativa) em 6,3%, salientando que somente 95 pacientes tinham material suficiente e adequado para a análise – Tabela 4.

Tabela 4 – Resultado Imunohistoquímica do gene PTEN

	PTEN INTACTO REAÇÃO PRESERVADA (%)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO DO GENE PTEN REAÇÃO NEGATIVA (%)
Biópsia diagnóstica (N=95)	93,7	6,3
Primeira biópsia de controle (N=129)	96,1	3,9
Segunda biópsia de controle (N=36)	97,2	2,8
Peça cirúrgica (N=11)	90,9	9,1

Na análise das primeiras biópsias de controle essa proporção foi de 96,1% e 3,9% respectivamente considerando-se 129 pacientes analisados – Tabela 4.

Essa proporção seguiu em 97,2% e 2,8% nas segundas biópsias de controle com um quantitativo de 36 pacientes e 90,9% e 9,1% na peça cirúrgica da prostatectomia radical em um total de 11 pacientes – Tabela 4.

Ao levarmos em consideração a relação entre o resultado da imunohistoquímica na biópsia diagnóstica e a progressão de doença pelos critérios acima mencionados foi constatado que a alteração na expressão proteica do gene PTEN (reação negativa) ocorreu em 4,8% dos pacientes que não progrediram e em 7,5% dos pacientes que progrediram – Tabela 5. Nesse caso não houve diferença estatística na alteração da expressão do gene PTEN entre os pacientes que progrediram e aqueles que não progrediram ($p=0,691$) quando a análise foi feita na biópsia diagnóstica.

Tabela 5 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na biópsia diagnóstica (N=95)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	59,55 (53)	92,5 (49)	7,5 (4)
NÃO	40,45 (42)	95,2 (40)	4,8 (2)

p-Valor = 0,691

Levando-se essa mesma análise para o resultado da primeira biópsia de controle tivemos 0% de deleção do gene PTEN em pacientes que não progrediram e 6,9% entre os pacientes que progrediram – Tabela 6. A comparação da alteração da expressão do gene PTEN na primeira biópsia de controle entre os pacientes que progrediram com aqueles que não progrediram mostrou-se estatisticamente sem significância (p=0,066).

Tabela 6 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na primeira biópsia de controle (N=129)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	55,8 (72)	93,1 (67)	6,9 (5)
NÃO	44,2(57)	100 (57)	0 (0)

p-Valor = 0,066

Na segunda biópsia de controle a progressão foi de 0% dentre os pacientes com integridade do gene PTEN e 9,1% dentre os pacientes que apresentaram alteração na expressão proteica do gene - Tabela 7.

Tabela 7 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na segunda biópsia de controle (N=36)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	30,5 (11)	90,9 (10)	9,1(1)
NÃO	69,5 (25)	100 (25)	0 (0)

p-Valor =0,306

Na análise da peça cirúrgica a progressão ocorreu em 0% nos pacientes com PTEN intacto e 12,5% dentre aqueles com alteração na expressão do gene – Tabela 8. Também não foi suficiente para demonstrar a diferença estatística na segunda biópsia de controle e na peça cirúrgica entre pacientes que progrediram e que não progrediram com $p=0,306$ e $p=1,0$ respectivamente.

Tabela 8 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na peça cirúrgica (N=11)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	72,7 (8)	87,5 (7)	12,5 (1)
NÃO	27,3 (3)	100 (3)	0 (0)

p-Valor = 1,0

A análise conjunta de todos os cenários de biópsia acima descritos, isto é, a análise da imunohistoquímica do gene PTEN na biópsia diagnóstica juntamente com as biópsias de controle excluindo-se a peça cirúrgica também não se mostrou estatisticamente significativa ao demonstrar diferença entre os pacientes que progrediram e que não progrediram ($p=0,062$) - Tabela 9.

Tabela 9 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na biópsia diagnóstica, primeira e segunda biópsias de controle (N=145)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM		89,2 (74)	10,8 (09)
NÃO		97,3(71)	2,7 (2)

p-Valor = 0,062

Ao avaliarmos os pacientes que tinham PTEN intacto ao diagnóstico e possuíam imunohistoquímica na biópsia de controle para comparação observamos que 57% apresentaram progressão e 43% não apresentaram – Tabela 10. Esse dado não apresentou

significância estatística com $p=0,310$.

Tabela 10 – Relação entre PTEN intacto ao diagnóstico e progressão na biópsia de controle

PTEN INTACTO AO DIAGNÓSTICO	Possuem Rebiópsia % (N)	PROGRESSÃO	Possuem rebiópsia % (N)
SIM	88,8% (79)	SIM	57 (45)
NÃO	11,2% (10)	NÃO	43 (34)

p-Valor = 0,310

Quando avaliamos os pacientes que tinham alteração na expressão proteica do gene PTEN ao diagnóstico e possuíam imunohistoquímica na biópsia de controle para comparação, observamos que 66,7% apresentaram progressão e 33,3% não apresentaram – Tabela 11. Esse dado não apresentou significância estatística com $p=1,0$.

Tabela 11 - Relação entre alteração na expressão do gene PTEN ao diagnóstico e progressão na biópsia de controle

ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO DO GENE PTEN AO DIAGNÓSTICO	Possuem Rebiópsia % (N)	PROGRESSÃO	Possuem rebiópsia % (N)
SIM	50 (3)	SIM	66,7(2)
NÃO	50 (3)	NÃO	33,3 (1)

p-Valor = 1,0

Os pacientes que participaram do estudo apresentaram a seguinte evolução durante o acompanhamento na VA: 31,3% dos pacientes foram retirados dessa condição para realização de tratamento devido a progressão da doença, 1,7% optaram por realizar algum tipo de tratamento mesmo sem progressão, 46,3% permaneceram em vigilância ativa, 3,9% foram convertidos para observação vigilante, 2,8% faleceram por outras causas, 5,6% perderam o seguimento por motivo ignorado e 5,6% continuaram seu acompanhamento em outro serviço - Tabela 12.

Tabela 12 - Seguimento dos Pacientes durante a VA

	Frequência (N)	Porcentagem (%)
Tratamento por progressão	56	31,3
Tratamento sem progressão (desejo paciente)	3	1,7
Continuação da V A	83	46,3
Conversão para Observação Vigilante	7	3,9
Óbito por outras causas	5	2,8
Perda de seguimento por motivo ignorado	10	5,6
Continuação do seguimento em outro serviço	10	5,6
Outros	5	2,8
Total	179	100,0

8 - DISCUSSÃO:

Os atuais métodos diagnósticos e de monitoramento do CaP aliados ao melhor conhecimento sobre a história natural da doença de baixo risco e sua evolução fizeram da vigilância ativa uma opção de conduta cada vez mais adotada nesse contexto.

A VA já se mostrou segura em vários estudos, com taxas de mortalidade câncer específica próximas a zero^[48]. De acordo com Carlsson S. e colaboradores o risco de morte foi de 0% em 7,5 anos^[49]. No estudo PRIAS (Prostate Cancer Research International Active Surveillance) essa taxa variou de uma morte a cada 5302 pacientes (0,018%) no *Memorial Sloan Kettering Cancer Center*^[50] até 15 mortes para cada 993 pacientes (1,5%) na Universidade de Toronto^[51].

Apesar da baixa mortalidade há uma preocupação permanente no curso da VA com a identificação precoce de pacientes que possam apresentar progressão da doença durante o seguimento^[52], sendo um dos questionamentos presentes nessa situação a forma como poderíamos prever, de modo mais acurado possível, em qual paciente a doença irá progredir e quando isso irá acontecer.

A ressonância nuclear magnética multiparamétrica da próstata tem sido usada em alguns protocolos antes do início da VA com a finalidade de identificar doença de alto risco, assim como evidenciar tumores que de alguma forma não foram previamente identificados pelos métodos convencionais, contribuindo assim como método de monitoramento de progressão da doença^[53]. Do mesmo modo que a RNM multiparamétrica vem sendo utilizada como método de acompanhamento e como critério de progressão de doença na VA^[54], poderíamos utilizar a análise molecular como critério de inserção e/ou manutenção do paciente em um protocolo de VA. A utilização de um método diferente da análise histopatológica nos permitiria detectar precocemente alterações moleculares que sabidamente estão relacionadas a um pior prognóstico da doença, evitando-se assim retardo no tratamento, progressão da neoplasia e mudança no prognóstico.

Considerando-se que o adenocarcinoma da próstata geralmente é uma doença multifocal e heterogênea^[55], a inserção de um paciente de baixo risco em um programa de vigilância ativa, baseada exclusivamente na análise histopatológica, poderia expô-lo ao fato de ter uma doença de alto risco subjacente não diagnosticada pela análise histopatológica.

Atualmente os principais fatores que levam o urooncologista a mudar a conduta de vigilância ativa para o um tratamento com finalidade curativa são: a reclassificação do Gleason na biópsia de controle de ISUP 1 para ISUP 2 ou superior, o aparecimento de mais de dois fragmentos comprometidos na biópsia de controle, o percentual de comprometimento por fragmento superior a 50% e uma cinética desfavorável do PSA^[56, 57]. A admissão do paciente em um programa de VA depende primordialmente da estratificação de risco da doença, sendo essa estratificação determinada pelo estadiamento clínico, escore de Gleason e PSA. Apesar dos vários exames moleculares hoje disponíveis para uso no CaP a maioria não é utilizada na prática clínica diária. Uma vez em vigilância ativa, não há nenhum método molecular para a identificação de alterações diferentes daquelas evidenciadas na análise histológica^[28, 43].

Este trabalho buscou encontrar dentro da biologia molecular uma forma de

antever uma futura evolução desfavorável da doença. As alterações moleculares têm sido cada vez mais utilizadas visando conhecer melhor a biologia tumoral, o que permite realizar um tratamento mais individualizado e personalizado de acordo com o comportamento da neoplasia em cada paciente. Nos casos em que não há alteração na expressão proteica do gene PTEN (PTEN intacto) tal método pode se mostrar sem aplicabilidade, no entanto naqueles casos em que tal alteração encontra-se presente sabemos que é mais frequente observarmos um maior risco de progressão da doença durante a VA, escores de Gleason mais elevados, um maior volume tumoral na peça cirúrgica da prostatectomia radical assim como a presença de doença extra prostática [17, 18, 24, 37].

A alteração na expressão proteica do gene PTEN pode ser uma ferramenta futura na avaliação de resposta a tratamentos com medicações já existentes ou com medicações que futuramente possam estar disponíveis. Isso hoje já é uma realidade em algumas neoplasias como câncer de mama, pulmão ou coloreta^[33-35].

O objetivo principal do estudo foi a identificação precoce, por método molecular através da avaliação da expressão proteica do gene PTEN, de pacientes em VA que poderiam ser portadores de uma doença com comportamento mais agressivo e não identificada previamente na biópsia convencional. Apesar de termos conhecimento que a alteração na expressão proteica do gene PTEN na biópsia diagnóstica ou de controle relaciona-se com pior prognóstico e evolução desfavorável da doença, a aplicabilidade prática e sua utilização na condução dos pacientes em VA ainda não foram estabelecidas.

Como já era esperado, por se tratar de uma doença de baixo risco, a taxa de alteração na expressão proteica do gene PTEN ficou entre 2,8% e 9,1%, dependendo do material que foi analisado, sendo o índice mais baixo na segunda biópsia de controle e o mais alto na análise da peça cirúrgica. Esse percentual ficou de acordo com dados da literatura presentes em outros trabalhos^[58]. Apesar da baixa prevalência da alteração da expressão proteica do gene PTEN em pacientes com doença de baixo risco, sabemos que sua presença identifica de imediato aquele paciente que evoluirá de forma desfavorável, portanto essa seria uma forma de conduzir tal paciente para o tratamento com finalidade curativa. Uma outra forma de considerar maior aplicabilidade do exame seria utilizá-lo naqueles casos com doença ISUP 2 e 3 que habitualmente não são inseridos na maioria dos protocolos de VA. Seria assim uma forma de aumentar a chance de detecção de alterações na expressão do gene PTEN em pacientes com estratificação de risco intermediária. Nesse paciente ISUP 2 e 3, um

gene intacto teoricamente traria menos risco na condução da vigilância ativa.

Apesar de não apresentar significância estatística, a alteração na expressão proteica do gene PTEN foi mais frequente entre os pacientes que apresentaram progressão da doença durante a vigilância ativa. Isso ocorreu na análise da biópsia diagnóstica, na primeira e segunda biópsias de controle e foi mais evidente na análise da peça cirúrgica.

Por ser um estudo retrospectivo a maior dificuldade foi a obtenção de material histológico em quantidade e qualidade adequadas para análise. Sabe-se que o material originalmente disponibilizado nas biópsias da próstata é exíguo, especialmente quando já foi previamente analisado na biópsia inicial. Desse modo, a partir dos 179 pacientes selecionados para o trabalho, obtivemos inicialmente 473 lâminas com material disponível e adequado para reanálise histológica. No entanto houve grande perda no número de lâminas, especialmente devido à falta de qualidade do material para o estudo imunohistoquímico, reduzindo a apenas 271 o número de lâminas analisadas. Essa perda ocorreu pelo fato de aproximadamente 50% dos pacientes terem realizado a biópsia diagnóstica em outro serviço. Isso não só afetou a quantidade de material disponível para análise, mas também nos deixou sem conhecimento sobre a qualidade do preparo e do armazenamento do material disponibilizado pelos outros serviços.

Apesar do número expressivo de pacientes que preencheram critérios para serem inseridos neste trabalho, a grande quantidade de exames perdidos por escassez de material ou por falta de condições técnicas para análise fez com que o número de exames com alteração na expressão do gene PTEN fosse muito pequeno, impedindo assim a construção de uma amostra mais robusta para uma análise com significância estatística. Isso ficou evidente com a redução de 129 pacientes na primeira biópsia de controle para 36 pacientes na segunda biópsia de controle. Nenhum paciente dentre os selecionados realizou a terceira biópsia de controle.

Para realização da análise conforme previsto no objetivo inicial do trabalho, o estudo imunohistoquímico precisaria ser feito de forma simultânea com o estudo histopatológico, à medida que fossem realizadas cada uma das biópsias diagnósticas e de controle. Isso evitaria não apenas a escassez de material, mas também a perda de casos com as alterações celulares oriundas do armazenamento prolongado e de diferentes condições de conservação adotadas em outros serviços onde as biópsias foram realizadas.

Ao utilizarmos somente o material que estava adequado para análise, levamos em

consideração que todas as biópsias foram realizadas de forma sextante, guiadas por ecografia transretal. Nenhuma das biópsias foi feita utilizando-se os atuais métodos de fusão de imagem que permitem a coleta de material de forma mais acurada ao fazer o direcionamento para a área suspeita presente na RNM.

Apesar de ser um método molecular eficaz na identificação de alterações na expressão proteica do gene PTEN, neste trabalho o estudo imunohistoquímico não apresentou critérios estatísticos que nos permita adotá-lo como exame de rotina para predição de progressão de doença no contexto da VA.

A análise imunohistoquímica feita por apenas um patologista pode ser um fator de deficiência do trabalho. No entanto, conforme já evidenciado em estudos anteriores de *Lotan, T.L., et al* há uma concordância de 95% entre patologistas no momento da análise imunohistoquímica do gene PTEN ^[46]

Um estudo prospectivo, em que todos os participantes tivessem a biópsia diagnóstica e de controle realizadas no mesmo serviço, sendo submetidas a análise da expressão proteica do gene PTEN concomitantemente com a análise histopatológica, poderia trazer mais informações a respeito da aplicabilidade da avaliação da expressão proteica do gene PTEN nesse contexto. Por ser um hospital de referência em oncologia, muitos pacientes são admitidos com o diagnóstico já feito em outro serviço, realizam a primeira biópsia de controle na instituição e acabam dando continuidade na VA em sua cidade de origem, desligando-se do programa.

Por outro lado, este é o primeiro trabalho brasileiro que avaliou a alteração da expressão proteica do gene PTEN em pacientes inseridos em um programa de vigilância ativa em um hospital de referência oncológica em nosso país. Essa ferramenta de baixo custo e facilmente acessível à maioria dos serviços de patologia deve ser avaliada em um estudo prospectivo futuro, gerando dados de forma mais consistente para uma adequada análise da sua utilidade durante a VA.

9 - CONCLUSÃO

A análise imunohistoquímica do gene PTEN é um teste de baixo custo e realização acessível para a maioria dos serviços de Patologia. Apesar da baixa incidência de alteração da expressão do gene PTEN em pacientes com CaP de baixo risco em vigilância ativa, a constatação dessa alteração permite identificar pacientes que potencialmente teriam uma

evolução desfavorável durante a VA, permitindo assim a indicação precoce de tratamento com finalidade curativa. Neste trabalho tal avaliação não demonstrou significância estatística que permita utilizá-la na prática diária. Resta saber, em estudos prospectivos futuros, qual seria a aplicabilidade clínica de tal informação, levando-se em consideração o baixo número de pacientes que se beneficiariam da realização desse exame no contexto da VA.

REFERÊNCIAS

1. Sung, H., 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): p. 209-249.
2. Bell, K.J., et al., *Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies*. Int J Cancer, 2015. **137**(7): p. 1749-57.
3. Mohler, J.L., et al., *Prostate Cancer, Version 1.2016*. J Natl Compr Canc Netw, 2016. **14**(1): p. 19-30.
4. Epstein, J.I., et al., *A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score*. Eur Urol, 2016. **69**(3): p. 428-35.
5. Wei, J.T., et al., *Can urinary PCA3 supplement PSA in the early detection of prostate cancer?* J Clin Oncol, 2014. **32**(36): p. 4066-72.
6. Woo, S., et al., *Diagnostic Performance of Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2 for Detection of Prostate Cancer: A Systematic Review and Diagnostic Meta-analysis*. Eur Urol, 2017. **72**(2): p. 177-188.
7. Siddiqui, M.M., et al., *Comparison of MR/ultrasound fusion-guided biopsy with ultrasound-guided biopsy for the diagnosis of prostate cancer*. JAMA, 2015. **313**(4): p. 390-7.
8. Filson, C.P., et al., *Prostate cancer detection with magnetic resonance-ultrasound fusion biopsy: The role of systematic and targeted biopsies*. Cancer, 2016. **122**(6): p. 884-92.
9. Choo, R., et al., *Feasibility study: watchful waiting for localized low to intermediate grade prostate carcinoma with selective delayed intervention based on prostate specific antigen, histological and/or clinical progression*. J Urol, 2002. **167**(4): p. 1664-9.
10. Mottet, N., et al., *EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer-2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent*. Eur Urol, 2021. **79**(2): p. 243-262.
11. Parker, C., *Active surveillance: towards a new paradigm in the management of early prostate cancer*. Lancet Oncol, 2004. **5**(2): p. 101-6.
12. Balakrishnan, A.S., et al., *Evaluating the Safety of Active Surveillance: Outcomes of Deferred Radical Prostatectomy after an Initial Period of Surveillance*. J Urol, 2019. **202**(3): p. 506-510.
13. Dall'Era, M.A., et al., *Active surveillance for prostate cancer: a systematic review of the literature*. Eur Urol, 2012. **62**(6): p. 976-83.
14. Schaeffer, E., et al., *NCCN Guidelines Insights: Prostate Cancer, Version 1.2021*. J Natl Compr Canc Netw, 2021. **19**(2): p. 134-143.
15. Rubio-Briones, J., et al., *Update and optimization of active surveillance in prostate cancer in 2021*. Actas Urol Esp (Engl Ed), 2021. **45**(1): p. 1-7.
16. Tosoian, J.J., et al., *PTEN status assessment in the Johns Hopkins active surveillance cohort*. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2019. **22**(1): p. 176-181.

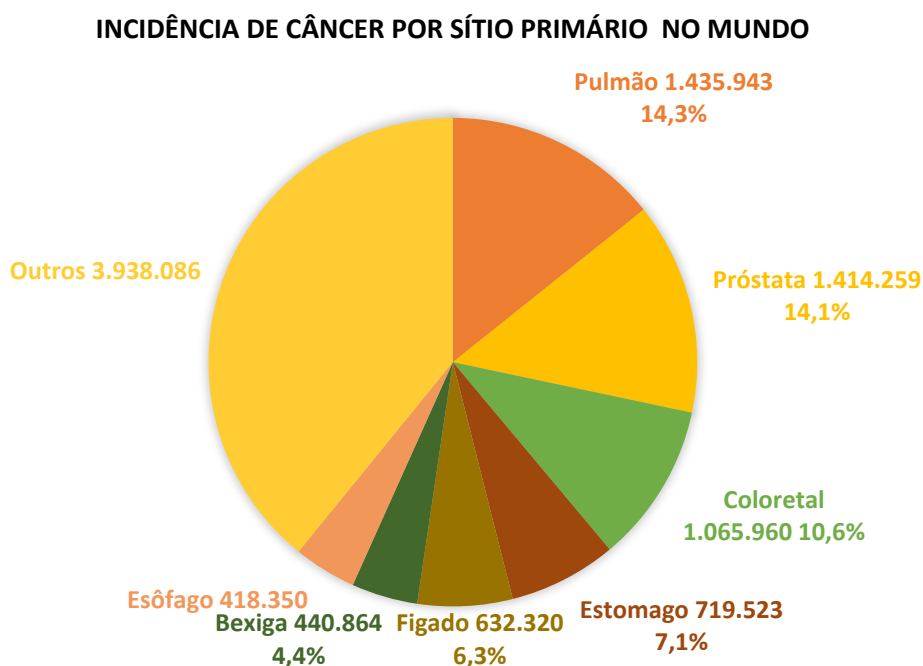
17. Guedes, L.B., et al., *PTEN Loss in Gleason Score 3 + 4 = 7 Prostate Biopsies is Associated with Nonorgan Confined Disease at Radical Prostatectomy*. J Urol, 2017. **197**(4): p. 1054-1059.
18. Picanco-Albuquerque, C.G., et al., *In prostate cancer needle biopsies, detections of PTEN loss by fluorescence in situ hybridization (FISH) and by immunohistochemistry (IHC) are concordant and show consistent association with upgrading*. Virchows Arch, 2016. **468**(5): p. 607-17.
19. Lotan, T.L., et al., *PTEN loss is associated with upgrading of prostate cancer from biopsy to radical prostatectomy*. Mod Pathol, 2015. **28**(1): p. 128-137.
20. Jamaspishvili, T., et al., *Clinical implications of PTEN loss in prostate cancer*. Nat Rev Urol, 2018. **15**(4): p. 222-234.
21. Li, J., et al., *PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer*. Science, 1997. **275**(5308): p. 1943-7.
22. Song, M.S., L. Salmena, and P.P. Pandolfi, *The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012. **13**(5): p. 283-96.
23. Trock, B.J., et al., *PTEN loss and chromosome 8 alterations in Gleason grade 3 prostate cancer cores predicts the presence of un-sampled grade 4 tumor: implications for active surveillance*. Mod Pathol, 2016. **29**(7): p. 764-71.
24. Mithal, P., et al., *PTEN loss in biopsy tissue predicts poor clinical outcomes in prostate cancer*. Int J Urol, 2014. **21**(12): p. 1209-14.
25. Wang, G., et al., *Genetics and biology of prostate cancer*. Genes Dev, 2018. **32**(17-18): p. 1105-1140.
26. Lokman, U., et al., *PTEN Loss but Not ERG Expression in Diagnostic Biopsies Is Associated with Increased Risk of Progression and Adverse Surgical Findings in Men with Prostate Cancer on Active Surveillance*. Eur Urol Focus, 2018. **4**(6): p. 867-873.
27. van den Bergh, R.C., et al., *Novel tools to improve patient selection and monitoring on active surveillance for low-risk prostate cancer: a systematic review*. Eur Urol, 2014. **65**(6): p. 1023-31.
28. Loeb, S., et al., *Active surveillance for prostate cancer: a systematic review of clinicopathologic variables and biomarkers for risk stratification*. Eur Urol, 2015. **67**(4): p. 619-26.
29. Tolkach, Y. and G. Kristiansen, *The Heterogeneity of Prostate Cancer: A Practical Approach*. Pathobiology, 2018. **85**(1-2): p. 108-116.
30. Lovf, M., et al., *Multifocal Primary Prostate Cancer Exhibits High Degree of Genomic Heterogeneity*. Eur Urol, 2019. **75**(3): p. 498-505.
31. Hamdy, F.C., et al., *10-Year Outcomes after Monitoring, Surgery, or Radiotherapy for Localized Prostate Cancer*. N Engl J Med, 2016. **375**(15): p. 1415-1424.
32. Turnham, D.J., et al., *The PTEN Conundrum: How to Target PTEN-Deficient Prostate Cancer*. Cells, 2020. **9**(11).
33. Berns, K., et al., *A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer*. Cancer Cell, 2007. **12**(4): p. 395-402.
34. Sos, M.L., et al., *PTEN loss contributes to erlotinib resistance in EGFR-mutant lung cancer by activation of Akt and EGFR*. Cancer Res, 2009. **69**(8): p. 3256-61.
35. Frattini, M., et al., *PTEN loss of expression predicts cetuximab efficacy in metastatic colorectal cancer patients*. Br J Cancer, 2007. **97**(8): p. 1139-45.
36. Crumbaker, M., L. Khoja, and A.M. Joshua, *AR Signaling and the PI3K Pathway in Prostate Cancer*. Cancers (Basel), 2017. **9**(4).

37. Shah, R.B., et al., *Heterogeneity of PTEN and ERG expression in prostate cancer on core needle biopsies: implications for cancer risk stratification and biomarker sampling*. Hum Pathol, 2015. **46**(5): p. 698-706.
38. Cuzick, J., et al., *Prognostic value of PTEN loss in men with conservatively managed localised prostate cancer*. Br J Cancer, 2013. **108**(12): p. 2582-9.
39. Health Quality, O., *Prolaris Cell Cycle Progression Test for Localized Prostate Cancer: A Health Technology Assessment*. Ont Health Technol Assess Ser, 2017. **17**(6): p. 1-75.
40. Kim, H.L., et al., *Validation of the Decipher Test for predicting adverse pathology in candidates for prostate cancer active surveillance*. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2019. **22**(3): p. 399-405.
41. Olleik, G., et al., *Evaluation of New Tests and Interventions for Prostate Cancer Management: A Systematic Review*. J Natl Compr Canc Netw, 2018. **16**(11): p. 1340-1351.
42. Ross, A.E., A.V. D'Amico, and S.J. Freedland, *Which, when and why? Rational use of tissue-based molecular testing in localized prostate cancer*. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2016. **19**(1): p. 1-6.
43. Eggener, S.E., R.B. Rumble, and H. Beltran, *Molecular Biomarkers in Localized Prostate Cancer: ASCO Guideline Summary*. JCO Oncol Pract, 2020. **16**(6): p. 340-343.
44. Sircar, K., et al., *PTEN genomic deletion is associated with p-Akt and AR signalling in poorer outcome, hormone refractory prostate cancer*. J Pathol, 2009. **218**(4): p. 505-13.
45. Lotan, T.L., et al., *PTEN protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients*. Clin Cancer Res, 2011. **17**(20): p. 6563-73.
46. Lotan, T.L., et al., *PTEN loss detection in prostate cancer: comparison of PTEN immunohistochemistry and PTEN FISH in a large retrospective prostatectomy cohort*. Oncotarget, 2017. **8**(39): p. 65566-65576.
47. Kinsella, N., et al., *Active surveillance for prostate cancer: a systematic review of contemporary worldwide practices*. Transl Androl Urol, 2018. **7**(1): p. 83-97.
48. Shill, D.K., et al., *Active surveillance for prostate cancer*. Transl Androl Urol, 2021. **10**(6): p. 2809-2819.
49. Carlsson, S., et al., *Long-Term Outcomes of Active Surveillance for Prostate Cancer: The Memorial Sloan Kettering Cancer Center Experience*. J Urol, 2020. **203**(6): p. 1122-1127.
50. Bokhorst, L.P., et al., *A Decade of Active Surveillance in the PRIAS Study: An Update and Evaluation of the Criteria Used to Recommend a Switch to Active Treatment*. Eur Urol, 2016. **70**(6): p. 954-960.
51. Newcomb, L.F., et al., *Outcomes of Active Surveillance for Clinically Localized Prostate Cancer in the Prospective, Multi-Institutional Canary PASS Cohort*. J Urol, 2016. **195**(2): p. 313-20.
52. Vigneswaran, H.T., et al., *Progression on active surveillance for prostate cancer in Black men: a systematic review and meta-analysis*. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2021.
53. Sanda, M.G., et al., *Clinically Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline. Part II: Recommended Approaches and Details of Specific Care Options*. J Urol, 2018. **199**(4): p. 990-997.
54. Baccaglini, W., et al., *Accuracy of MRI-guided Versus Systematic Prostate Biopsy in Patients Under Active Surveillance: A Systematic Review and Meta-analysis*. Clin Genitourin Cancer, 2021. **19**(1): p. 3-11 e1.

55. Haffner, M.C., et al., *Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer*. Nat Rev Urol, 2021. **18**(2): p. 79-92.
56. Van Hemelrijck, M., et al., *Reasons for Discontinuing Active Surveillance: Assessment of 21 Centres in 12 Countries in the Movember GAP3 Consortium*. Eur Urol, 2019. **75**(3): p. 523-531.
57. Simpkin, A.J., et al., *Systematic Review and Meta-analysis of Factors Determining Change to Radical Treatment in Active Surveillance for Localized Prostate Cancer*. Eur Urol, 2015. **67**(6): p. 993-1005.
58. Gandellini, P., et al., *Core Biopsies from Prostate Cancer Patients in Active Surveillance Protocols Harbor PTEN and MYC Alterations*. Eur Urol Oncol, 2019. **2**(3): p. 277-285.

Anexo A – Tabelas e Figuras

Figura 1 – Incidência Mundial de Câncer por sítio primário



Fonte: Globocan 2020. Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>). International Agency for Research on Cancer 2021.

Tabela 1 – Distribuição proporcional dos tipos de câncer no Brasil

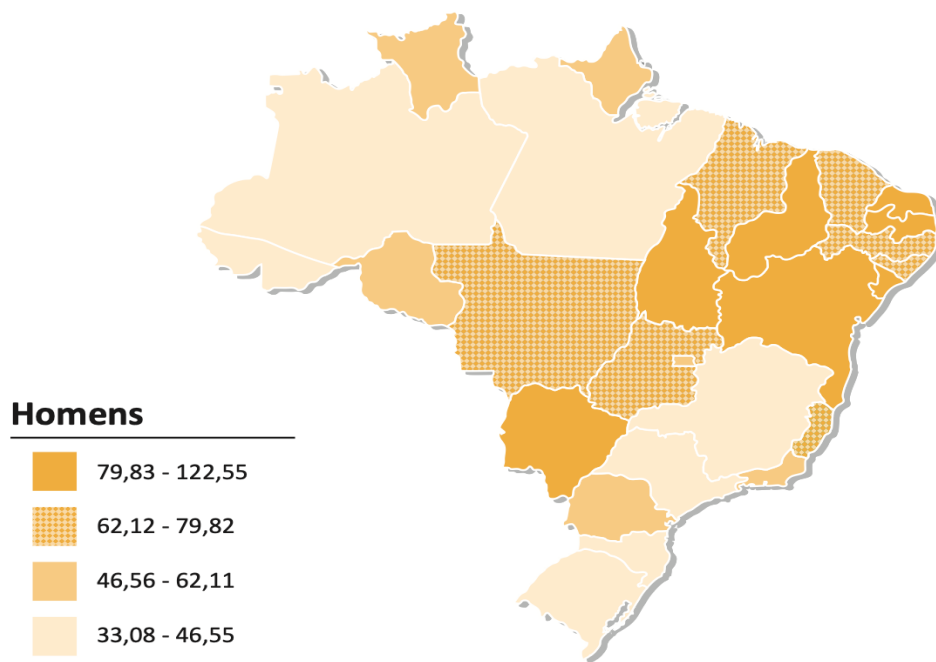
Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma*

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%	Homens	Mulheres	Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e reto	20.520	9,1%			Cólon e reto	20.470	9,2%
Traqueia, brônquio e pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.590	7,4%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, brônquio e pulmão	12.440	5,6%
Cavidade oral	11.180	5,0%			Glândula tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema nervoso central	5.220	2,3%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019.

Figura 2 - Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil homens, estimadas para o ano de 2020, segundo Unidade da Federação (neoplasia maligna da próstata).



Fonte: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : INCA, 2019.

Figura 3 - Estadiamento do Câncer de Próstata

TX – Tumor primário não pode ser avaliado.
T0 – Não há evidência de tumor primário.
T1 – Tumor não palpável e não visualizado em exames de imagem.
T1a – Achado histológico incidental em 5% ou menos de tecido ressecado.
T1b – Achado histológico incidental em mais de 5% de tecido ressecado .
T1c – Tumor identificado por biópsia de agulha fina em um ou ambos lobos, mas não palpável.
T2 – Tumor é palpável e confinado à próstata.
T2a – Tumor envolve metade ou menos de um dos lobos da próstata.
T2b – Tumor envolve mais da metade de um lobo, mas não invade ambos os lobos.
T2c – Tumor invade ambos os lobos da próstata.
T3 – Tumor extraprostático que não é fixo ou não invade estruturas adjacentes.
T3a – Extensão extracapsular (unilateral ou bilateral).
T3b – Tumor invade a vesícula seminal.
T4 – Tumor está fixo ou invade outras estruturas adjacentes, que não as vesículas seminais, como o esfíncter externo, reto, bexiga, musculatura elevadora pélvica e/ou parede pélvica.

TUMOR PRIMÁRIO (T) ESTADIAMENTO PATOLÓGICO (pT)

pT2 – Confinado à próstata.
pT3 – Extensão extraprostática.
pT3a – Extensão extraprostática (unilateral ou bilateral) ou invasão microscópica do colo vesical.
pT3b – Tumor invade a vesícula seminal.
pT4 – Tumor está fixo ou invade outras estruturas adjacentes, que não as vesículas seminais, como o esfíncter externo, reto, bexiga, musculatura elevadora pélvica e/ou parede pélvica.

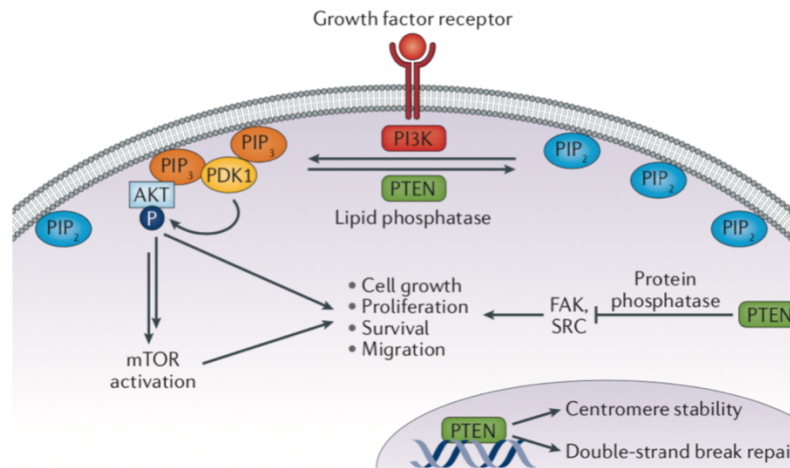
LINFONODOS REGIONAIS (N)

NX – Linfonodos regionais não avaliados.
N0 – Ausência de metástases linfonodais.
N1 – Presença de metástases em linfonodos regionais.

METÁSTASE (M)

M0 - Sem evidência de metástase à distância.
M1 - Presença de metástase à distância.
M1a - Metástase em linfonodos não regionais
M1b - Metástase óssea
M1c - Metástase em outros sítios com ou sem metástase óssea.

Figura 4 - Ação intracelular gene PTEN



Fonte: Clinical implications of *PTEN* loss in prostate cancer^[20].

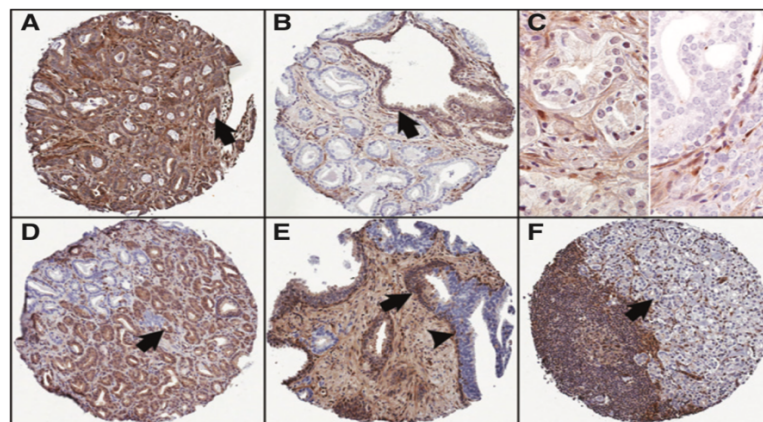


Figura 5 - Expressão proteica do gene *PTEN* em espécimes tecido prostático em humanos: A, caso típico de câncer com expressão uniforme em todas as glândulas malignas. B, caso típico de câncer com alteração na expressão proteica do gene *PTEN* em glândulas malignas, no entanto glândulas benignas adjacentes (seta) mantêm a expressão gênica do *PTEN*. C, alguns tumores mostram uma positividade fraca (esquerda) mas podem ser prontamente distinguidos dos casos com total ausência da expressão do gene *PTEN* (direita). D, heterogeneidade intratumoral para expressão proteica do gene *PTEN* é evidente nesse espécime tumoral, onde glândulas malignas com perda do *PTEN* e *PTEN* intacto estão interligadas. Note a presença de células com e sem expressão do gene *PTEN* dentro de uma única glândula maligna (seta). E, PIN de alto grau com deleção do *PTEN* na maioria das glândulas envolvidas, no entanto a proteína do *PTEN* é expressa numa minoria de células luminiais (seta maior) e em todas as células basais (seta menor). Uma glândula benigna adjacente expressa o *PTEN*. F, Ausência de expressão do *PTEN* em metástase linfonodal de carcinoma prostático. Apesar do citoplasma ser negativo, algumas glândulas mostram uma pequena quantidade de membrana plasmática com expressão do gene (seta) um achado de significância incerta.

Fonte: Lotan, T.L., et al., *PTEN* protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2011. **17**(20): p. 6563-73.

Figura 6 – Distribuição dos pacientes de acordo com resultado imunohistoquímico

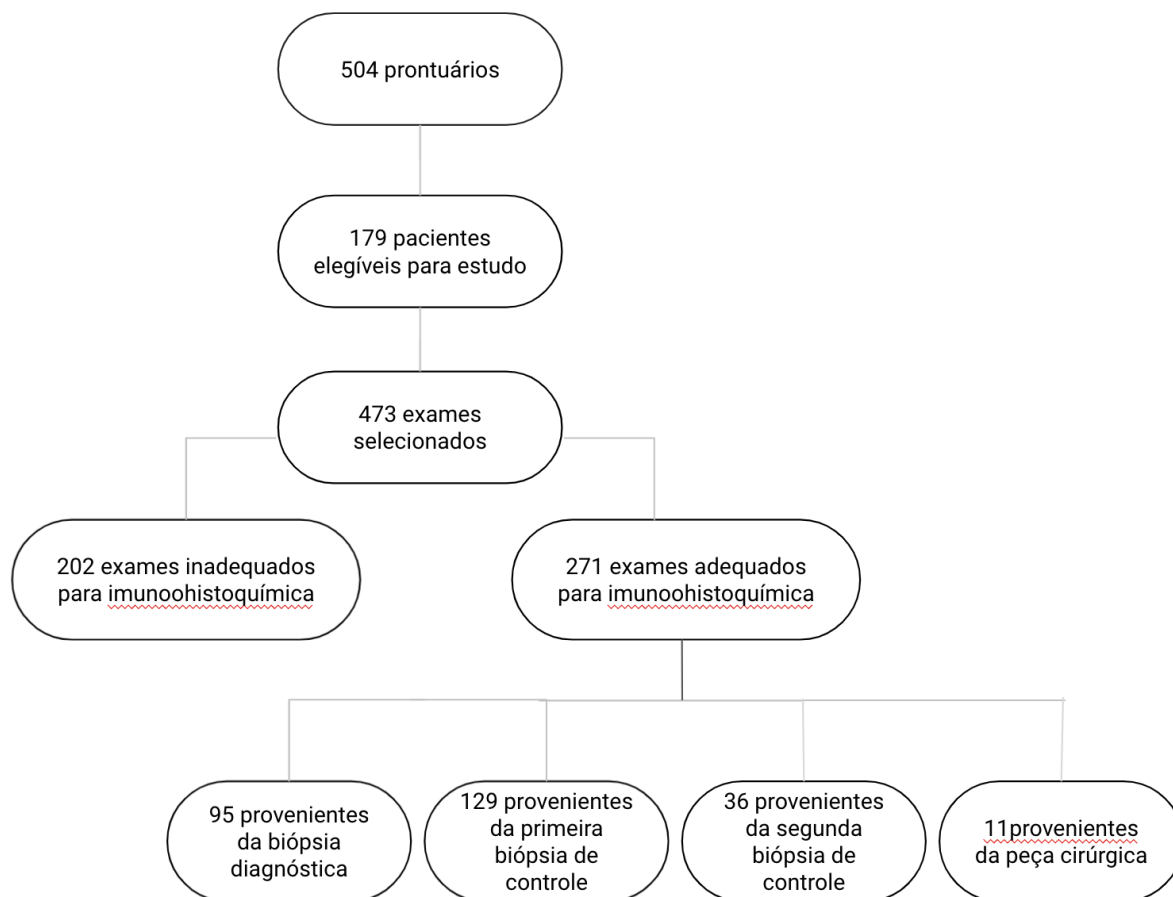


Tabela 2 - Características da Coorte

Idade	Média	Mediana	-	-
	63,8	64,25		
História familiar de neoplasia da próstata	Sim (%)	Não (%)	-	-
	16,9	83,1		
Sintomas relacionados ao esvaziamento vesical	Sim (%)	Não (%)	-	-
	29,5	79,5		
Exame digital da próstata	Normal (%)	Alterado (%)	-	-
	80,7	19,3		
Realizaram imunohistoquímica na biópsia diagnóstica	Sim (%)	Não (%)	-	-
	58,4	41,6		
Biópsia Diagnóstica no Hospital de Cancer de Barretos	Sim (%)	Não (%)	-	-
	41,6	58,4		
Escore de Gleason na Biópsia Diagnóstica	Gleason 3+3=6	Gleason 3+4=7	Gleason 4+3=7	-
	94,9%	4,5%	0,6%	
Resultado RNM* para a Vigilância Ativa (n=57)	Positiva	Negativa	-	-
	42,1%	57,9%		
Estadiamento Clínico	T1	T2a	T2b	T3a
	72,9%	25,3%	1,2%	0,6%
PSA no momento da VA	Média	Mediana	-	-
	5,0ng/ml	4,71 ng/ml		

*Ressonância Nuclear Magnética

Tabela 3 – Índice e Formas de progressão durante a Vigilância Ativa (VA)

Houve Progressão	Sim (%)	Não (%)
	31,8%	68,2
Aumento do número de fragmentos (n=92)	Sim (%)	Não (%)
	89	11
Aumento do percentual de doença por fragmento (n=92)	Sim (%)	Não (%)
	82,4	17,6
Aumento do escore de Gleason (n=92)	Sim (%)	Não (%)
	60,4	39,6

Tabela 4 – Resultado Imunohistoquímica do gene PTEN

	PTEN INTACTO REAÇÃO PRESERVADA (%)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO DO GENE PTEN REAÇÃO NEGATIVA (%)
Biópsia diagnóstica (N=95)	93,7	6,3
Primeira biópsia de controle (N=129)	96,1	3,9
Segunda biópsia de controle (N=36)	97,2	2,8
Peça cirúrgica (N=11)	90,9	9,1

Tabela 5 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na biópsia diagnóstica (N=95)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	59,55 (53)	92,5 (49)	7,5 (4)
NÃO	40,45 (42)	95,2 (40)	4,8 (2)

p-Valor = 0,691

Tabela 6 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na primeira biópsia de controle (N=129)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	55,8 (72)	93,1 (67)	6,9 (5)
NÃO	44,2(57)	100 (57)	0 (0)

p-Valor = 0,066

Tabela 7 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na segunda biópsia de controle (N=36)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	30,5 (11)	90,9 (10)	9,1(1)
NÃO	69,5 (25)	100 (25)	0 (0)

p-Valor =0,306

Tabela 8 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na peça cirúrgica (N=11)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM	72,7 (8)	87,5 (7)	12,5 (1)
NÃO	27,3 (3)	100 (3)	0 (0)

p-Valor = 1,0

Tabela 9 – Frequência da alteração da expressão proteica do Gene PTEN nos pacientes com material adequado para análise na biópsia diagnóstica, primeira e segunda biópsias de controle (N=145)

PACIENTE PROGREDIU	% (N)	PTEN INTACTO % (N)	ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO GENE PTEN (%) (N)
SIM		89,2 (74)	10,8 (09)
NÃO		97,3(71)	2,7 (2)

p-Valor = 0,062

Tabela 10 – Relação entre PTEN intacto ao diagnóstico e progressão na biópsia de controle

PTEN INTACTO AO DIAGNÓSTICO	Possuem Rebiópsia % (N)	PROGRESSÃO	Possuem rebiópsia % (N)
SIM	88,8% (79)	SIM	57 (45)
NÃO	11,2% (10)	NÃO	43 (34)

p-Valor = 0,310

Tabela 11 - Relação entre alteração na expressão do gene PTEN ao diagnóstico e progressão na biópsia de controle

ALTERAÇÃO NA EXPRESSÃO DO GENE PTEN AO DIAGNÓSTICO	Possuem Rebiópsia % (N)	PROGRESSÃO	Possuem rebiópsia % (N)
SIM	50 (3)	SIM	66,7(2)
NÃO	50 (3)	NÃO	33,3 (1)

p-Valor = 1,0

Tabela 12 - Seguimento dos Pacientes durante a VA

	Frequência (N)	Porcentagem (%)
Tratamento por progressão	56	31,3
Tratamento sem progressão (desejo paciente)	3	1,7
Continuação da V A	83	46,3
Conversão para Observação Vigilante	7	3,9
Óbito por outras causas	5	2,8
Perda de seguimento por motivo ignorado	10	5,6
Continuação do seguimento em outro serviço	10	5,6
Outros	5	2,8
Total	179	100,0

ANEXO B – Ficha de Coleta de Dados

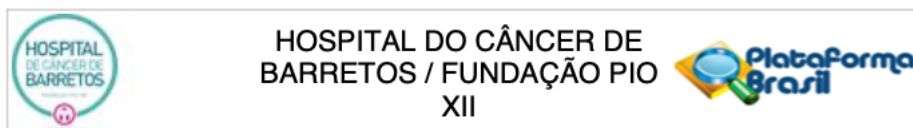
1	Identificação		
2	Nome:		
3	Prontuário		
4	Data de nascimento: DD/MM/AAAA		
5	Cor: 1- Branco; 2- Não branco; 99- ignorado		
RASTREAMENTO			
6	Data do exame inicial: DD/MM/AAAA		__/__/____
7	Antecedente de câncer PROSTÁTA familiar 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
8	História clínica (Sintomas urinários) 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
HOSPITAL DE CÂNCER DE BARRETOS			
9	Data da 1ª consulta Urologia DD/MM/AAAA		
10	PSA total: _____ ng/ml		
11	PSA livre: _____ ng/ml		
12	Toque retal 1- Normal; 2- Suspeito;		
13	Cintilografia óssea 0- Negativo; 1- Positivo; 2- Não realizada		
14	Necessidade de estudo imuno-histoquímico para diagnóstico do tumor 0- Não; 1- Sim		
15	Revisão de biopsia 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
16	Biopsia diagnóstica no hospital Barretos 0- Não; 1- Sim		
17	Zona transicional positiva 0- Não; 1- Sim		
ACOMPANHAMENTO			
18	Data que iniciou a Vigilância Ativa		
19	Data da biópsia diagnóstica DD/MM/AAAA		
20	Foi prescrito Finasterida / Dutasterida em algum momento? 1-Sim 0-Não		
21	PSA total no momento da decisão de VA: _____ ng/ml		
22	PSA livre: _____ ng/ml		
23	Gleason: _____ + _____ = _____		
24	Grupo de Epstein 0- <gleason 6; 1- 6= 3+3; 2- 7=3+4; 3- 7=4+3; 4- 8=4+4; 5- 8=3+5; 6- 8=5+3; 7- 9=4+5; 8- 9=5+4; 10- 10= 5+5		
25	Número total de fragmentos da biópsia diagnóstica		

26	Número de fragmentos positivos da biópsia diagnóstica	
27	Percentual de doença por fragmento 1: _____% 2: _____% 3: _____% 4: _____% 5: _____%	
28	RNM de estadiamento ou para V A 0: Não 1: Sim 2- Ignorado	
29	RNM: 0-Positiva 1-Negativa	
30	Estadiamento cT 1- T1; 2- T2a; 3- T2b; 4- T2c; 5- T3a; 6- T3b; 7- T4	
31	Data da primeira re-biópsia DD/MM/AAAA	
32	PSA total na primeira Re Biópsia: _____ ng/ml	
33	PSA livre: _____ ng/ml	
34	Gleason: _____ + _____ = _____	
35	Grupo de Epstein 0- <gleason 6; 1- 6= 3+3; 2- 7=3+4; 3- 7=4+3; 4- 8=4+4; 5- 8=3+5; 6- 8=5+3; 7- 9=4+5; 8- 9=5+4; 10- 10= 5+5	
36	Número total de fragmentos da primeira re-biópsia	
37	Número de fragmentos positivos da primeira re-biópsia	
38	Percentual de doença por fragmento da primeira re-biópsia 1: _____% 2: _____% 3: _____% 4: _____% 5: _____%	
39	RNM de controle na primeira re-bx 0: Não 1: Sim 2- Ignorado	
40	RNM 0-Positiva 1-Negativa	
41	Estadiamento RNM de controle 1- T1; 2- T2a; 3- T2b; 4- T2c; 5- T3a; 6- T3b; 7- T4	
42	Data da segunda re-biópsia DD/MM/AAAA; 1 – Não se aplica	___/___/___
43	PSA: _____ ng/ml	
44	PSA livre: _____ ng/ml	
45	1. Gleason: _____ + _____ = _____	
46	Grupo de Epstein 0- <gleason 6; 1- 6= 3+3; 2- 7=3+4; 3- 7=4+3; 4- 8=4+4; 5- 8=3+5; 6- 8=5+3; 7- 9=4+5; 8- 9=5+4; 10- 10= 5+5	
47	Número total de fragmentos da segunda re-biópsia	
48	Número de fragmentos positivos da segunda re-biópsia	
49	Percentual de doença por fragmento 1: _____% 2: _____% 3: _____% 4: _____% 5: _____%	
50	RNM de controle para segunda Re-bx 0: Não 1: Sim 2- Ignorado	
51	RNM: 0-Positiva 1-Negativa	
52	Estadiamento RNM de controle para segunda re -bx	

	1- T1; 2- T2a; 3- T2b; 4- T2c; 5- T3a; 6- T3b; 7- T4	
53	Data da terceira re-biópsia DD/MM/AAAA	___/___/___
54	PSA na terceira re-biópsia: _____ ng/ml	
55	PSA livre: _____ ng/ml	
56	Gleason: _____ + _____ = _____	
57	Grupo de Epstein 0- <gleason 6; 1- 6= 3+3; 2- 7=3+4; 3- 7=4+3; 4- 8=4+4; 5- 8=3+5; 6- 8=5+3; 7- 9=4+5; 8- 9=5+4; 10- 10= 5+5	
58	Número total de fragmentos da terceira re-biópsia	
59	Número de fragmentos positivos da terceira re-biópsia	
60	Percentual de doença por fragmento 1: _____% 2: _____% 3: _____% 4: _____% 5: _____%	
61	RNM de controle na terceira re-biópsia 0: Não 1: Sim 2- Ignorado	
62	RNM: 0-Positiva 1-Negativa	
63	Estadiamento Rnm de controle 1- T1; 2- T2a; 3- T2b; 4- T2c; 5- T3a; 6- T3b; 7- T4	
64	Saída do Programa em algum momento 1- Sim 2- Não	
65	Data da saída do programa	
66	Seguimento: 1 - Tratamento por progressão 2 – Tratamento sem progressão (desejo paciente) 3 – Continuação da V A 4 – Conversão para W W 5 – Óbito por outras causas 6 – Óbito por CAP 7- Perda de seguimento por motivo ignorado 8- Continuação do seguimento em outro serviço 9 – outros ()	
67	Progressão:	
67A	A-Elevação número de fragmentos comprometidos	Sim()Não()
67B	B-Elevação do percentual de comprometimento por fragmento	Sim()Não()
67C	C- PSA	Sim()Não()
67D	D – Elevação do Gleason	Sim()Não()
Tratamento		
68	0 – Ainda sem tratamento 2 – Radioterapia exclusiva 4- Ignorado 1 - Radioterapia + HT 3 – Cirurgia	
69	Data da cirurgia: DD/MM/AAAA	
70	Margens (status) 0- Livres; 1- Comprometimento focal; 2- Comprometimento difuso; 3- Sim, mas não especifica	

71	Margens (local) 1- Base (vesical); 2- Terço médio; 3- Ápice; 4- Radial 88- Não se aplica (margem livre)		
72	Doença extra-prostatica 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
73	VVSS 0- Livres; 1- Acometida		
74	Infiltração perineural 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
75	ILV 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
76	PSA Total: _____ ng/ml		
77	PSA Livre: _____ ng/ml		
78	Gleason 0- <gleason 6; 1- 6= 3+3; 2- 7=3+4; 3- 7=4+3; 4- 8=4+4; 5- 8=3+5; 6- 8=5+3; 7- 9=4+5; 8- 9=5+4; 10- 10= 5+5		
79	Número de linfonodos acometidos		
80	Número de linfonodos total		
81	Tamanho próstata (AP) GRS		
82	Estadiamento pT: 1- T1; 2- T2a; 3- T2b; 4- T2c; 5- T3a; 6- T3b; 7- T4; 8- T0 99- Ignorado		
83	Estadiamento pN: 0- N0; 1- N1; 2- N2; 99- Ignorado		
84	Estadiamento pM: 0- M0; 1- M1; 99- Ignorado		
TRATAMENTO ADJUVANTE			
85	Radioterapia: 0- Adjuvante; 1- Resgate (psa _____); 2- Não; 99- Ignorado		
86	Hormonioterapia 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
SEGUIMENTO			
87	Recidiva Bioquímica 0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado		
VOLUME PROSTÁTICO			
88	Volume Próstata (cm ³)		
89	Método Mensuração 1-RNM 2- USTR 3-TC		

ANEXO C – Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Impacto do gene PTEN na progressão clínica dos pacientes com câncer de próstata submetidos à vigilância ativa.

Pesquisador: Eliney Ferreira Faria

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 3

CAAE: 93166618.3.0000.5437

Instituição Proponente: Fundação Pio XII

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.045.203

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos denominados "apresentação do projeto", "objetivos" e "avaliação dos riscos e benefícios" foram retiradas do documento intitulado "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1131251.pdf" (submetido na Plataforma Brasil em 24/08/2018)

RESUMO: Os dados clínicos para predição de progressão do CaP durante período de VA ainda são falhos, permanecendo apenas a biópsia de acompanhamento como ferramenta confiável. Existe a necessidade de avaliar novos biomarcadores / genes usados no momento do diagnóstico para ajudar a prever a chance de progressão do CaP durante o período de vigilância ativa. O intuito deste projeto é analisar a importância do gene PTEN na progressão do câncer de próstata localizado durante período de observação.

INTRODUÇÃO: O câncer de próstata (CaP) é considerado o segundo tipo de câncer mais frequente em homens no mundo, atrás apenas do câncer de pele não melanoma.¹ Segundo o último levantamento realizado em 2012, cerca de 1,1 milhão de novos casos foram diagnosticados no mundo.² No Brasil, é o câncer mais comum em homens em todas as regiões do país, com maiores

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO XII



Continuação do Parecer: 3.045.203

índices nas regiões Sul e Sudeste.3 Segundo dados do INCA (Instituto Nacional do Câncer), em 2014 foram estimados 68.800 casos novos de CaP e esses valores equivalem aproximadamente a 70,42 casos novos para cada 100 mil homens, com uma taxa de mortalidade de 10,31 casos por 100 mil homens no período de 2002 a 2004. 3 Muitas pesquisas são realizadas sobre a etiologia do CaP, porém poucos fatores são considerados de risco: idade, etnia e hereditariedade.4 Aproximadamente 62% dos diagnósticos ocorreram com homens com 65 anos ou mais.5 Homens negros mostram incidência elevada, que chega a ser 1,6 vezes maior que a incidência para ocidentais e brancos.4 Para indivíduos com histórico familiar de CaP com grau de parentesco próximo, os riscos aumentam 2,2 vezes, sendo muito importante o exame para detecção precoce a partir dos 40 anos.6 Normalmente pacientes com câncer de próstata inicial não costumam desenvolver quaisquer sinais ou sintomas. Os sintomas aparecem na doença localmente avançada ou metastática. Desta forma, a detecção precoce permite um aumento da possibilidade de cura levando a melhores resultados no tratamento. Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde) e as principais sociedades e organizações urológicas, a melhor forma de detectar a doença é realizar uma avaliação inicial, quantificando os sintomas urinários através de um questionário próprio além de exame de urina tipo I, exame de toque retal (TR) e dosagem do PSA (antígeno prostático específico).7 O TR é muito importante para o diagnóstico e estadiamento da doença, entretanto, por ser um exame subjetivo, pode sofrer variações de acordo com o examinador. Esse exame avalia o tamanho, a consistência da próstata e a existência de nódulos ou alteração do tecido. O CaP é detectado em cerca de 18% dos pacientes apenas pelo exame de toque retal e sua especificidade mantém-se entre 20 a 25% na maioria dos estudos.7-8 A determinação do PSA é importante na avaliação inicial, pois ainda é o marcador mais empregado no rastreamento e acompanhamento do CaP. Segundo a Sociedade Brasileira de Urologia, em 2005 76% dos casos de câncer de próstata correspondiam à doença localizada, 16,6% à doença localmente avançada e 7,6% à doença metastática. Como se pode observar, a maioria dos casos de câncer de próstata diagnosticados correspondem à doença localizada.7 O primeiro passo diante do câncer de próstata localizado é calcular a extensão da doença através dos níveis de PSA, escore de Gleason e estágio clínico da doença. Dependendo dos resultados, outros exames serão necessários, como cintilografia óssea, tomografia computadorizada abdominal (TC) e pélvica, ressonância magnética (RM) e ultrassonografia (US). Com base nesses dados foram criadas várias classificações de risco para avaliação da possibilidade de recidiva clínica ou bioquímica, permitindo uma visão geral dos casos e orientando o tratamento. Quanto à classificação de risco a doença é considerada de muito alto risco (estágios T3c - T4 ou qualquer T, N1), alto risco (PSA >20 ng/ml ou Gleason escore 8 a

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331

Bairro: Dr. Paulo Prata

CEP: 14.784-400

UF: SP

Município: BARRETOS

Telefone: (17)3321-0347

Fax: (17)3321-6600

E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO XII



Continuação do Parecer: 3.045.203

10 ou estágio T3ab), risco intermediário (PSA 10 a 20 ng/ml ou Gleason escore 7 ou estágio T2b-c) e baixo risco (PSA ocorrendo um aumento do número de pacientes submetidos a VA devido ao risco dos efeitos colaterais do tratamento curativo, seja pela realização de radioterapia ou pela cirurgia, especialmente a possibilidade de impotência, incontinência urinária, disúria, hematúria, etc. 15 Em torno de 10 a 15% dos pacientes com indicação de vigilância ativa optam por essa conduta, no entanto 30 a 40% desses pacientes precisam de tratamento durante o acompanhamento sendo a mudança na cinética do PSA, a alteração do toque retal ou a reclassificação histológica na biópsia de acompanhamento os principais motivos. A mortalidade específica aproxima-se de zero na maioria dos estudos.17-12 O objetivo da VA é individualizar o tratamento para pacientes com CaP inicial, selecionando aqueles pacientes com tumores clinicamente significativos para terapia curativa. A VA é uma alternativa interessante, pois pode poupar dois terços dos homens com CaP inicial dos efeitos colaterais do tratamento radical sem comprometer a sua sobrevida.15 Os critérios para seleção dos pacientes é o aspecto mais importante para o sucesso da VA. A maioria dos critérios de seleção são baseados na definição de câncer de próstata clinicamente insignificante que inclui a ausência de Gleason padrão 4 ou 5 na amostra da biópsia e uma das seguintes opções definidas por Epstein20: I) Densidade do PSA 0.1 ng / mL / g com menos de 3 fragmentos de biópsia positivos para câncer (considerando um mínimo de 6 fragmentos obtidos) e nenhum fragmento com envolvimento > 50%. II) Densidade de PSA 0.15 ng / mL / g e um único (de 6 ou mais) fragmento da biópsia com extensão tumoral menor que 3 mm. Atualmente são usados também outros sistemas de classificação para definir o câncer de próstata clinicamente favorável. A ausência de câncer na biópsia de acompanhamento ou o não aumento do número de fragmentos positivos e a permanência no mesmo escore de Gleason são fortes indicadores da não progressão do câncer.15 A principal filosofia dessa abordagem é poupar quaisquer modalidades radicais do tratamento da doença sem significância clínica e conseqüentemente a morbidade associada.17- 12. Resultados de ensaios clínicos como o START (Standard Treatment Against Restricted Treatment), PRIAS (Prostate Cancer Research International Active Surveillance), Protec-T (Prostate Testing for Cancer and Treatment) e PASS (Prostate Cancer Active Surveillance Study) podem ajudar a determinar um padrão de tratamento para o câncer de próstata inicial.15 Estes pacientes que estão em vigilância ativa são seguidos com marcadores clínicos e são submetidos a novas biópsias com intervalo entre 12-18 meses para documentar progressão. Caso ocorra progressão, serão aconselhados a interromper a vigilância ativa e realizar o tratamento curativo com prostatectomia radical ou radioterapia. Hoje sabemos que os dados clínicos como a classificação histológica de Gleason e o PSA não são ferramentas

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331

Bairro: Dr. Paulo Prata

CEP: 14.784-400

UF: SP

Município: BARRETOS

Telefone: (17)3321-0347

Fax: (17)3321-6600

E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



Continuação do Parecer: 3.045.203

totalmente confiáveis para prever progressão, sendo importantes novas pesquisas sobre o assunto. Atualmente temos apenas esses marcadores, ainda bastante imperfeitos na predição de progressão, restando como única opção confiável a biópsia da próstata durante o acompanhamento realizado na VA. O estudo de marcadores na VA facilitaria ainda mais o raciocínio clínico e a seleção de pacientes ideais para a essa conduta. 7-11 Nesse cenário a deleção do gene PTEN (phosphatase and tensin homologue) poderia ser avaliada, pois essa deleção está presente em cerca de 70% dos homens com CaP. O gene PTEN é um dos genes de supressão tumoral mais comuns em cânceres humanos e sua perda está associada à promoção da proliferação celular e ao desenvolvimento de neoplasias intra-epiteliais.9-10 Evidenciou-se que a perda de expressão desse gene está correlacionada com o aumento do padrão histológico de Gleason no CaP 20 além de estar associado ao maior risco de recorrência da doença e à maior agressividade.23 Dessa forma, esse gene desempenha um papel importante na predição de progressão e recorrência de tumores da próstata.20 Neste contexto, nosso objetivo é avaliar este marcador nos pacientes que estão em vigilância ativa, verificando a importância do gene PTEN em prever a progressão do câncer de próstata localizado.

HIPÓTESE: Avaliar o gene PTEN na predição de progressão clínica dos pacientes com câncer de próstata submetidos à vigilância ativa. Comparar e correlacionar o gene PTEN com os diversos marcadores de progressão clínica dos pacientes com câncer de próstata submetidos a VA.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO: Avaliar o gene PTEN na predição de progressão clínica dos pacientes com câncer de próstata submetidos à vigilância ativa.

OBJETIVO SECUNDÁRIO: Comparar e correlacionar o gene PTEN com os diversos marcadores de progressão clínica dos pacientes com câncer de próstata submetidos a VA.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS: Os riscos para os pacientes são mínimos, pois será utilizado material biológico armazenado em parafina e dados do prontuário. O risco de perda de confidencialidade, que constitui o risco em potencial, será prevenido mediante a identificação dos participantes por números. Os pesquisadores se comprometem a não esgotarem o material biológico.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO XII



Continuação do Parecer: 3.045.203

BENEFÍCIOS: Em relação aos benefícios, o estudo contribuirá para o desenvolvimento de ferramentas visando melhorar a predição da progressão do câncer de próstata em vigilância ativa. Poderá não haver benefício direto aos participantes pois trata-se de um estudo retrospectivo. Após conclusão do estudo, futuros participantes dos protocolos de Vigilância Ativa em Câncer de Próstata poderão se beneficiar.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

RESPOSTAS REFERENTES AS RECOMENDAÇÕES E PENDÊNCIAS EMITIDAS NO PARECER N°2.787.257:

RECOMENDAÇÃO:

1. Recomenda-se que seja realizada uma revisão ortográfica completa do projeto.
- RESPOSTA PESQUISADOR: Foi feita a revisão ortográfica completa do projeto nessa nova versão atualizada e anexada na Plataforma Brasil.
 - ANÁLISE CEP: RECOMENDAÇÃO ATENDIDA

PENDÊNCIAS:

1. Referente ao Projeto de Pesquisa:
 - 1.1 Os objetivos apresentados no Projeto de Pesquisa, e o apresentado na Plataforma Brasil estão com textos diferentes. Solicita-se adequação.
 - RESPOSTA PESQUISADOR: Foi feita a adequação realizando a mesma descrição dos objetivos da Plataforma Brasil com os objetivos do Projeto de Pesquisa
 - ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.
 - 1.2 Solicita-se descrever no item referente a Metodologia do Projeto como será realizado o procedimento de marcação imunohistoquímica do gene PTEN nas lâminas diagnósticas.
 - RESPOSTA PESQUISADOR: A Marcação imunohistoquímica do gene PTEN será feita de forma automatizada com o material especificado ao final do projeto, definido pelo Serviço Patologia do Hospital do Amor, após análise prévia e autorização já anexada ao Projeto de Pesquisa. A leitura das lâminas será feita por dois patologistas do Serviço de Patologia do Hospital do Amor.
 - ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331	CEP: 14.784-400
Bairro: Dr. Paulo Prata	
UF: SP	Município: BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347	Fax: (17)3321-6600
	E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO XII



Continuação do Parecer: 3.045.203

espessura do corte, e demais dados pertinentes.

- RESPOSTA PESQUISADOR: A espessura dos cortes de parafina será de 5 micras.

- ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.4- Os pesquisadores no projeto de pesquisa se comprometem a não esgotar o material biológico do paciente, desta forma, solicita-se especificar quantos cortes de parafina serão utilizados (segundo as normas preconizadas pelo Hospital de Amor).

- RESPOSTA PESQUISADOR: Será feito um corte de parafina por lâmina analisada.

- ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.5 O projeto não descreve se o Tamanho amostral foi definido por Cálculo Amostral ou se por conveniência. Solicita-se especificar como o mesmo foi definido.

- RESPOSTA PESQUISADOR: O tamanho amostral foi definido por Cálculo Amostral pelo estatístico Marcos Alves Lima do Núcleo de Epidemiologia e Bioestatística (NEB) em reunião agendada para esse fim sendo emitido pelo mesmo o seguinte parecer:

"Com base nos resultados encontrados por B J Trock et al para as diferenças de proporções encontradas (PTEN intact x PTEN loss) foi realizado o cálculo amostral para diferenças de proporções utilizando alocação ótima de Newman considerando significância de 0.05 e poder de 0.95, calculou-se o tamanho amostral de 126 unidades, sendo 45 unidades de pacientes que apresentaram progressão e 81 de pacientes que não apresentaram."

- ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.6 No Projeto de Pesquisa apresentado, página 9, sessão "Local de estudo", o pesquisador cita o Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular (CPOM) como um dos locais preparados para realização da imunohistoquímica. Dessa forma, solicita-se:

a) Justificar quais etapas da imunohistoquímica que Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular (CPOM) realizará.

b) Apresentar a Carta de Ciência do Departamento assinada pelo coordenador.

- RESPOSTA PESQUISADOR: Em relação aos itens 1.6 "a" e 1.6 "b" houve um erro de informação por parte do pesquisador no documento anterior. Todas as análises imunohistoquímicas da

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331	
Bairro: Dr. Paulo Prata	CEP: 14.784-400
UF: SP	Município: BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347	Fax: (17)3321-6600
	E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO XII



Continuação do Parecer: 3.045.203

deleção do gene PTEN serão realizados no Serviço de Patologia do Hospital do Amor e não no Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular (CPOM). Essa informação já está atualizada na versão atual do projeto anexada na Plataforma Brasil.

Já se encontra em anexo na Plataforma Brasil o documento dando ciência do Serviço de Patologia do Hospital do Amor da realização deste projeto.

- ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Considerando que o Cálculo Amostral nesta submissão do projeto não foi realizado pelo NEB, solicita-se correção do documento MABIN, que afirma o contrário.

- RESPOSTA PESQUISADOR: Conforme descrito no item 1.5 acima, o cálculo amostral foi realizado pelo NEB, estando o documento MABIN preenchido com essa informação.

- ANÁLISE CEP: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram adequadamente apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital do Amor de Barretos de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional N° 001/2013 do CNS, e após a análise das respostas as pendências emitidas, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Solicitamos que sejam encaminhados ao CEP:

1 Relatórios semestrais, sendo o primeiro previsto para 25/04/2019.

2 Comunicar toda e qualquer alteração do Projeto e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de participantes deve ser temporariamente interrompida até a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331

Bairro: Dr. Paulo Prata

CEP: 14.784-400

UF: SP

Município: BARRETOS

Telefone: (17)3321-0347

Fax: (17)3321-6600

E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE
BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO
XII



Continuação do Parecer: 3.045.203

3 Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer Evento Adverso Grave ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.

4 Para projetos que utilizam amostras criopreservadas, procurar o BIOBANCO para início do processamento.

5 Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos, após conclusão da pesquisa, para possível auditoria dos órgãos competentes.

6 Este projeto está cadastrado no CEP-HCB sob o número 1620/2018.

OBSERVAÇÃO: Devido a Lei da Biodiversidade (Lei 13.123/15) tornou-se obrigatório o cadastro de todas as pesquisas que de alguma forma tiveram acesso ao patrimônio genético brasileiro e/ou conhecimento tradicional associado, na plataforma do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SisGen (<https://sisgen.gov.br/paginas/login.aspx>).

Quais atividades deverão ser cadastradas?

I - acesso a patrimônio genético brasileiro ou conhecimento tradicional associado dentro do país realizado por pessoa natural ou jurídica nacional, pública ou privada;

II - acesso a patrimônio genético brasileiro ou conhecimento tradicional associado por pessoa jurídica sediada no exterior associada a instituição nacional de pesquisa científica e tecnológica, pública ou privada;

III - acesso a patrimônio genético brasileiro ou conhecimento tradicional associado realizado no exterior por pessoa natural ou jurídica nacional, pública ou privada;

IV - remessa de amostra de patrimônio genético brasileiro para o exterior com a finalidade de acesso, nas hipóteses II e III;

V - envio de amostra que contenha patrimônio genético brasileiro por pessoa jurídica nacional, pública ou privada, para prestação de serviços no exterior como parte de pesquisa ou desenvolvimento tecnológico.

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331

Bairro: Dr. Paulo Prata

CEP: 14.784-400

UF: SP

Município: BARRETOS

Telefone: (17)3321-0347

Fax: (17)3321-6600

E-mail: cep@hcancerbarretos.com.br



HOSPITAL DO CÂNCER DE
BARRETOS / FUNDAÇÃO PIO
XII



Continuação do Parecer: 3.045.203

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1131251.pdf	27/11/2018 18:46:51		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoPTENPARAAPLATAFORMABRASILVersaode24deAgosto2018.docx	24/08/2018 12:07:02	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Outros	CartadeRespostaPendenciasModelodoCEP.docx	24/08/2018 11:54:47	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Outros	Mabin2.pdf	03/07/2018 09:39:01	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Outros	MABINAtualizado.pdf	03/07/2018 09:37:36	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoAtualizada.pdf	03/07/2018 09:35:44	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Outros	DeclaracaodeFontedeFinanciamento.pdf	21/06/2018 17:04:29	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DeclaracaodeCienciadoEstudo.pdf	21/06/2018 17:02:18	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DeclaracaodeCorresponsabilidadedeEstudocomPesquisadorExterno.pdf	21/06/2018 16:19:20	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DeclaracaodeResponsabilidadedoPesquisador.pdf	21/06/2018 16:19:00	JOAO EMERSON ALENCAR SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BARRETOS, 29 de Novembro de 2018

Assinado por:
Maicon Fernando Zanon da Silva
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Antenor Duarte Vilela, 1331
Bairro: Dr. Paulo Prata **CEP:** 14.784-400
UF: SP **Município:** BARRETOS
Telefone: (17)3321-0347 **Fax:** (17)3321-6600 **E-mail:** cep@hcancerbarretos.com.br