

AVALIAÇÃO PROTEÔMICA DE SÊMEN E DE URINA PÓS EJACULAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO DO PAINEL GÊNICO ONCOMINE FOCUS FUSION PANEL PARA IDENTIFICAÇÃO DA FUSÃO TMPRSS2-ERG EM PACIENTES SUSPEITOS PARA CÂNCER DE PRÓSTATA

Fornazieri L, Orellana F, Intasqui P, Torrezan GT, Ronsein GE, de Cassio Zequi S.

A.C. Camargo Cancer Center
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Introdução

O câncer de próstata (CP) é a segunda neoplasia maligna mais comum entre homens e responsável por alta mortalidade na população masculina. O diagnóstico é realizado principalmente com a dosagem do antígeno prostático específico (PSA) e exame dígito retal (EDR), com sensibilidade e especificidade limitada. Como consequência do rastreamento com utilização do PSA, uma porcentagem significativa dos pacientes é submetida à investigação diagnóstica invasiva do CP e tratamentos desnecessários, estando expostos aos efeitos colaterais genitourinários destes procedimentos. É necessário a identificação de biomarcadores sensíveis e específicos para detecção precoce do CP, e que possibilitem estimar sua agressividade.

Investigação de alterações moleculares através de análise transcriptômica e proteômica são ferramentas promissoras na identificação de novos biomarcadores diagnósticos e prognósticos do CP, porém necessitam de estudos confirmatórios para demonstrar a acurácia dos resultados até agora obtidos.

A urina e o sêmen destacam-se como fonte abundante de material para pesquisa não invasiva e representativas do microambiente prostático. Biomarcadores como o microRNA *PCA3* e a fusão *TMPRSS2:ERG*, específicos para câncer de próstata, foram identificados na urina coletada após massagem prostática. A presença de um profissional da área de saúde capacitado é necessária para a realização da massagem prostática, onerando a coleta. Além disso, este procedimento provoca desconforto ao paciente e fornece secreção prostática limitada à face posterior da glândula. Tais limitações nos motivaram a pesquisar a urina pós ejaculação que, em teoria, representaria globalmente o microambiente prostático, com maior potencial para identificação de biomarcadores, além de promover coleta de material de forma menos invasiva, mais reprodutível e com menor custo.

Neste estudo, realizaremos análise proteômica do sêmen e urina pós ejaculação de pacientes com suspeita de câncer de próstata e pacientes com hiperplasia prostática benigna. Realizaremos também análise da fusão *TMPRSS2:ERG* por sequenciamento de nova geração na urina pós ejaculação e tecido prostático, em pacientes diagnosticados com câncer de próstata.

Objetivos

Objetivo Primário:

- Rastrear e identificar as proteínas presentes no plasma seminal e na urina pós ejaculação em pacientes com biópsia de próstata positiva para CP, biópsia de próstata negativa e em pacientes controles, sem suspeita de malignidade.

Objetivos secundários:

- Identificar as proteínas diferencialmente expressas entre os grupos e quais poderiam representar futuros biomarcadores para CP;
- Avaliar a presença da fusão *TMPRSS2-ERG* na urina pós ejaculação em pacientes com câncer de próstata.

Casuística

População do estudo:

Neste estudo serão analisados 40 pacientes entre 40 e 60 anos de idade em investigação de câncer de próstata que tenham indicação de biópsia e acompanhados no Núcleo de Urologia do A.C. Camargo Cancer Center. A indicação de biópsia será determinada a juízo clínico do urologista responsável, considerando alteração do exame do PSA e/ou exame dígito retal com nódulo e/ou ressonância multiparamétrica suspeita para lesão clinicamente significativa.

Participarão do estudo outros 10 controles (pacientes sadios) provenientes do Ambulatório de Disfunção Miccional da Disciplina de Urologia da Escola Paulista de Medicina / Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Para inclusão neste grupo de pacientes, a faixa etária deverá ser de 40 a 60 anos, deverão apresentar nível sérico de PSA < 0.1ng/dl e exame dígito retal normal.

Serão excluídos do estudo pacientes com história pregressa de procedimentos cirúrgicos prostáticos ou uso recente de alfa-bloqueadores e inibidores de 5-alfa redutase, ou antiandrogênicos, estrógenos ou agonistas/antagonistas do LHRH. Outros critérios de exclusão compreendem a presença de outro câncer primário, prévio ou em tratamento, pacientes portadores de distúrbios da ejaculação devido a neuropatias diversas ou de distúrbios psiquiátricos e/ou cognitivos, infecção de urina ou prostatite aguda vigente.

Métodos

Coleta do sêmen e urina:

O sêmen será coletado por masturbação no Laboratório de Andrologia e Reprodução Humana da Disciplina de Urologia Escola Paulista de Medicina / Universidade Federal de São Paulo (EPM/UNIFESP), em ambiente apropriado e reservado, com período de abstinência sexual de 2 a 5 dias.

A coleta da urina será no mesmo local, proveniente do primeiro jato logo após a ejaculação.

As amostras serão encaminhadas para o Centro de Pesquisa em Urologia da Unifesp e processada para realização de análises posteriores.

Avaliação proteômica de sêmen e urina pós ejaculação:

As amostras serão processadas e armazenadas Centro de Pesquisa em Urologia da Unifesp.

Após a coleta das amostras de todos os pacientes incluídos nos estudos, estas serão encaminhadas para o Instituto de Química da USP, onde será realizado a análise proteômica por espectrometria de massas.

Análise da fusão TMPRSS2-ERG:

Selecionaremos randomicamente 5 pacientes submetidos à biópsia de próstata e que apresentem resultado positivo para câncer de próstata. A urina pós ejaculação, colhida previamente, e o tecido obtido por biópsia serão submetidos ao sequenciamento de nova geração (NGS) de um painel gênico comercial (Oncomine Focus Fusion Panel – ThermoScientific) para identificação da fusão *TMPRSS2-ERG*.

Biópsia da próstata:

A biópsia de próstata ocorrerá a partir de um dia da coleta do sêmen e urina. Estas serão realizadas pela equipe de Radiologia Intervencionista do A.C. Camargo Cancer Center, sob sedação, guiada por ultrassonografia transretal ou transperineal. A coleta de fragmentos será sistemática por sextantes (mínimo de 12 fragmentos), além de fragmentos adicionais obtidos de áreas suspeitas em ressonância da próstata (através da técnica de fusão de imagem) ou de áreas suspeitas ao exame dígito retal. Caso necessário, em próstatas acima de 40g, poderá haver coletas de fragmentos adicionais das zonas anterior ou periuretral.

A análise histopatológica será feita por patologistas especializados em Uropatologia da mesma instituição, de acordo com a Classificação da ISUP 2015 e a AJCC/UICC.

Referências

1. Instituto Nacional de Câncer. *Estimate/2020 - Cancer incidence in Brazil*. 2019. 120 p.
2. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA. *The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System [Internet]*. 2015. Available from: www.ajsp.com
3. Brierley JD et al. *TNM classification of malignant tumors*. 8th ed. 2017.
4. Intasqui P, Bertolla RP, Sadi MV. *Prostate cancer proteomics: clinically useful protein biomarkers and future perspectives*. *Expert Rev Proteomics [Internet]*. 2018;15(1):65–79.
5. Donovan MJ, Noerholm M, Bentink S, Belzer S, Skog J, O'Neill V, et al. *A molecular signature of PCA3 and ERG exosomal RNA from non-DRE urine is predictive of initial prostate biopsy result*. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2015 Dec 1;18(4):370–5.

Obs: Questões éticas

Estudo aprovado nos Comitês de Ética em Pesqui da AC Camargo Cancer Center da Escola Paulista de Medicina e do Hospital São Paulo
Todos paciente só serão incluídos após preenchimento do TCLE-Termo de Consentimento livre esclarecido das respectivas instituições

Obs 2: Financiamento:

O estudo está se iniciando com fundos de benefício Complementar de Pesquisador FAPESP. Estamos pleiteando verbas de Agências de Fomento Por enquanto há suporte dos próprios pesquisadores

Contato

lucas.fornazieri@accamargo.com.br

orellanafm13@gmail.com