

O potencial dos inibidores das histonas desacetilases no tratamento do cancro da próstata

Mafalda Baptista Brás

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Prof. Doutor Cláudio Jorge Maia Baptista
Co-orientador: Doutor Bruno Alexandre Guerra Jorge Pereira

janeiro de 2025

Declaração de Integridade

Eu, Mafalda Baptista Brás, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 43111 de Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 19/01/2024

Agradecimentos

Agradeço de coração aos meus pais e aos meus irmãos, por estarem presentes em todas as fases da minha vida e me incentivarem sempre a ser uma pessoa melhor.

À minha avó, por me guiar com o seu amor e sabedoria e, em especial, a todos os meus familiares que foram as minhas cobaias, confiando na minha formação académica.

Às amigas que conquistei na Covilhã, por todo o apoio, cuidado e incentivo que deram, e por terem tornado a minha experiência académica especial e feliz. E principalmente, a quem me continua a proporcionar momentos inesquecíveis fora do ambiente universitário.

Aos meus amigos, que me acompanharam nesta fase mais desafiante, e que não me deixaram ir abaixo, mesmo estando tão longe.

Ao Professor Cláudio Maia, o meu orientador, por todos os ensinamentos valiosos e pela generosidade do seu tempo, que foram cruciais para o desenvolvimento deste trabalho.

E a todos os professores, pelo contributo indispensável para a minha formação.

Resumo

Introdução: O carcinoma da próstata é uma das neoplasias mais prevalentes no sexo masculino a nível mundial, com maior incidência em países desenvolvidos, onde a utilização de técnicas de prevenção secundária é mais disseminada. Apesar dos avanços terapêuticos, os casos de cancro metastático, recorrente ou com mecanismos de resistência continuam a representar um desafio médico significativo. Para além das mutações genéticas, as alterações epigenéticas, como a desacetilação das histonas, desempenham um papel crucial na progressão tumoral. Os inibidores das histonas desacetilases têm demonstrado efeitos terapêuticos promissores, estando já aprovados para o tratamento de várias neoplasias. Atualmente, estão a ser investigados em ensaios clínicos com o objetivo de otimizar o tratamento do carcinoma da próstata.

Objetivos: A presente dissertação tem como objetivo analisar e destacar a relevância do potencial terapêutico dos inibidores das histonas desacetilases, quer em monoterapia, quer em combinação com outros agentes, no tratamento de carcinomas da próstata refratários às terapêuticas convencionais.

Metodologia: A pesquisa bibliográfica foi conduzida na base de dados *PubMed*, entre agosto de 2023 e agosto de 2024, incluindo artigos em inglês sem restrições temporais, tendo sido elegidos, sempre que possível, os estudos mais recentes. Após uma análise criteriosa, foram selecionados os materiais de maior relevância para o tema.

Conclusão e perspetivas futuras: Os inibidores das histonas desacetilases têm evidenciado efeitos promissores, sobretudo no contexto das neoplasias hematológicas. No entanto, a sua utilização em monoterapia tem apresentado resultados limitados em tumores sólidos, como o carcinoma da próstata, devido à emergência de mecanismos de resistência, respostas terapêuticas parciais e efeitos adversos que comprometem a continuidade do tratamento. Em contrapartida, a combinação destes inibidores com agentes quimioterapêuticos ou outros fármacos específicos tem demonstrado uma eficácia superior, revelando-se como uma abordagem promissora para doentes que esgotaram outras opções terapêuticas. Esta estratégia combinada proporciona uma nova esperança para casos avançados, com o potencial de melhorar a resposta ao tratamento e prolongar a sobrevivência dos pacientes. Assim, torna-se imperativo continuar a investigação nesta área, dado que poderá contribuir significativamente para a obtenção de melhores resultados nos ensaios clínicos.

Palavras-chave

Cancro da próstata; mecanismos epigenéticos; recetor de androgénios; histonas desacetilases; inibidores das histonas desacetilases.

Abstract

Introduction: Prostate carcinoma is one of the most prevalent cancers among men worldwide, with a higher incidence in developed countries where the use of secondary prevention techniques is more widespread. Despite therapeutic advances, cases of metastatic, recurrent, or resistant cancer continue to represent a significant medical challenge. In addition to genetic mutations, epigenetic alterations, such as histone deacetylation, play a crucial role in tumor progression. Histone deacetylase inhibitors have shown promising therapeutic effects and are already approved for the treatment of various cancers. They are currently being investigated in clinical trials with the aim of optimizing the treatment of prostate carcinoma.

Objectives: This dissertation aims to analyze and highlight the relevance of the therapeutic potential of histone deacetylase inhibitors, whether in monotherapy or in combination with other agents, in the treatment of prostate carcinomas refractory to conventional therapies.

Methodology: A bibliographic search was conducted in the PubMed database between August 2023 and August 2024, including articles in English with no temporal restrictions, prioritizing the most recent studies whenever possible. After careful analysis, the most relevant materials were selected for the topic at hand.

Conclusion and Future Perspectives: Histone deacetylase inhibitors have shown promising effects, particularly in the context of hematologic malignancies. However, their use in monotherapy has shown limited results in solid tumors, such as prostate carcinoma, due to the emergence of resistance mechanisms, partial therapeutic responses, and adverse effects that compromise treatment continuity. On the other hand, the combination of these inhibitors with chemotherapeutic agents or other specific drugs has demonstrated superior efficacy, representing a promising approach for patients who have exhausted other therapeutic options. This combined strategy provides new hope for advanced cases, with the potential to improve treatment response and prolong patient survival. Therefore, it is imperative to continue research in this area, as it may significantly contribute to achieving better results in clinical trials.

Keywords

Prostate cancer; epigenetic mechanisms; androgen receptor; histone deacetylase; histone deacetylase inhibitors.

Índice

Agradecimentos	v
Resumo	vii
Palavras-chave	viii
Abstract	xi
Keywords	xii
Lista de figuras	xix
Lista de tabelas	xxi
Lista de acrónimos	xxiii
Introdução	1
Objetivos	3
Metodologia	5
Capítulo 1. Cancro da próstata	
1.1 Anatomia e histologia da próstata	7
1.2 Cancro da próstata	
a. Epidemiologia	9
b. Fatores de risco	10
c. Fisiopatologia	
i. Início e desenvolvimento do cancro da próstata	11
ii. Vias moleculares da carcinogénese	
1. Via de sinalização do recetor de androgénios	13
2. Mecanismos epigenéticos	16
d. Rastreio e Diagnóstico	18
e. Estadiamento	19
f. Tratamento	21
Capítulo 2. Histona desacetilase	
2.1 HDAC: classificação, atividade enzimática e função biológica	25
2.2 HDAC e o cancro da próstata	27
2.3 Inibidores das histonas desacetilases	28
2.4 HDACi e o cancro da próstata	
2.4.1 Desenvolvimento de HDACi como terapêutica para o cancro da próstata	30
2.4.2 Ensaios clínicos com HDACi no cancro da próstata	30
2.4.3 Combinações promissoras de HDACi e outros medicamentos anticancerígenos	34

2.5	Desafios na aplicação de HDACi como terapêutica do cancro da próstata e outros tumores sólidos	36
	Conclusões e Perspetivas futuras	39
	Referências bibliográficas	41

Lista de figuras

Capítulo 1. Cancro da próstata

Figura 1	Zonas da próstata	8
Figura 2	Histologia da próstata	8
Figura 3	Estádios de desenvolvimento do cancro da próstata	11
Figura 4	Ação androgénio-AR na próstata	13
Figura 5	Alterações do AR no cancro da próstata	16
Figura 6	Alterações epigenéticas no cancro da próstata	17

Capítulo 2. Histona desacetilase

Figura 7	Mecanismos de ação do HDACi	29
----------	-----------------------------	----

Lista de tabelas

Capítulo 1. Cancro da próstata

Tabela 1	Características das diferentes zonas da próstata	9
Tabela 2	Processos e genes alterados ao longo da evolução do cancro da próstata	12
Tabela 3	Resultado do teste de PSA e respetiva interpretação	18
Tabela 4	Estadiamento TNM	20
Tabela 5	<i>Score de Gleason</i>	21
Tabela 6	Estadiamento clínico do cancro da próstata	21
Tabela 7	Abordagens ao cancro da próstata	22

Capítulo 2. Histona desacetilase

Tabela 8	Classificação das HDAC	26
Tabela 9	Ensaio clínico com HDACi em monoterapia ou terapia combinada para o cancro da próstata	31
Tabela 10	HDACi em combinação com outros medicamentos no tratamento de CPRC	35
Tabela 11	Efeitos adversos de ensaios clínicos com HDACi em tumores sólidos	36

Lista de acrónimos

AR	Do inglês <i>androgen receptor</i>
CPRC	Cancro da próstata resistente à castração
DHT	5 α -dihidrotestosterona
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNMT	DNA metiltransferases
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EMT	Fator de transição epitelial-mesenquimal
HAT	Histona acetiltransferase
HPB	Hiperplasia benigna da próstata
HDAC	Histona desacetilase
HDACi	Inibidor da histona desacetilase
HDM	Histona desmetilase
HMT	Histona metiltransferase
HPV	Vírus do papiloma humano
Hx	Histona x
KDAC	Lisina desacetilase
LHRH	Hormona de libertação da hormona luteinizante
LUTS	Do inglês <i>lower urinary tract symptoms</i>
PET	Tomografia por emissão de positrões
PP1	Proteína fosfatase 1
PSA	Do inglês <i>prostate-specific antigen</i>
RMN	Ressonância magnética
RMN-mp	Ressonância magnética multiparamétrica
RNS	Espécies reativas de nitrogénio
ROS	Espécies reativas de oxigénio
RTU-P	Ressecção transuretral da próstata
RUA	Retenção urinária aguda
SIRT	Sirtuína
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
TC	Tomografia computadorizada
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular

Introdução

A próstata é a maior glândula acessória do sistema reprodutor masculino, sendo também o local de origem de duas patologias prevalentes, a hiperplasia benigna da próstata (HBP) e o carcinoma da próstata, ambas diretamente relacionadas com o envelhecimento (1).

O carcinoma da próstata é um dos tipos de cancro mais prevalentes no sexo masculino, afetando diversas regiões geográficas e etnias (2,3). A maior parte dos casos diagnosticados anualmente ocorre em países desenvolvidos, devido à maior adesão a técnicas de prevenção (3). Apesar dos avanços significativos no desenvolvimento de novas terapêuticas e abordagens personalizadas, o carcinoma da próstata permanece um desafio médico de relevo, em grande parte devido à iatrogenia associada a patologias benignas e à inadequação das terapias disponíveis para o cancro metastático ou resistente (4).

Embora as alterações genéticas sejam reconhecidas como estando na base do desenvolvimento do cancro, atualmente é amplamente aceite que as modificações epigenéticas desempenham também um papel central na sua génese. As alterações pós-traducionais das histonas, por exemplo, podem desempenhar um papel crucial na carcinogénese, ao modularem a transcrição genética, a remodelação da cromatina e a arquitetura nuclear. A acetilação das histonas, um dos mecanismos pós-traducionais mais bem caracterizados, é regulada pelo equilíbrio entre a atividade das histonas acetiltransferases (HAT) e das histonas desacetilases (HDAC). A remoção do grupo acetil pelas HDAC reverte a acetilação da cromatina, modificando a transcrição de oncogenes e genes supressores tumorais. Além disso, as HDAC atuam sobre substratos proteicos não histónicos, regulando uma ampla gama de processos biológicos, incluindo a iniciação e progressão de vários tipos de cancro (5).

Em humanos, estão descritas dezoito HDAC, sendo classificadas em quatro grupos com base nas suas características e mecanismos de ação. Existem diversas evidências que demonstram a sua elevada expressão abundante no carcinoma da próstata, destacando-se o papel crítico que desempenham na regulação da via do recetor de androgénios (AR), um mediador fundamental no crescimento e proliferação deste tipo de cancro (6).

Os inibidores das histonas desacetilases (HDACi) têm revelado potenciais efeitos terapêuticos em vários tipos de neoplasias, tanto em estudos pré-clínicos como em ensaios clínicos. Estes agentes reduzem a carga tumoral, atenuando o crescimento dos tumores e regulando a angiogénese. Além disso, suprimem a atividade das HDAC, promovendo uma maior acetilação das histonas e a sua agregação em autossomas, induzindo, simultaneamente, a expressão génica. Diversos estudos indicam que estes inibidores

exercem um efeito antineoplásico sobre as células tumorais através de várias vias, incluindo a interrupção do ciclo celular, a indução de apoptose e a ativação de mecanismos de autofagia (7).

Entre os HDACi aprovados pela FDA, destacam-se o panobinostat, vorinostat, romidepsin, pracinostat, entinostat e ácido valpróico com vários ensaios clínicos em curso para avaliar os seus benefícios e desafios terapêuticos no carcinoma da próstata (7).

Objetivos

Os objetivos da presente dissertação consistem, numa primeira fase, em analisar os fármacos aprovados pela FDA para o tratamento de diversos tipos de cancro, que apresentem potenciais efeitos no cancro da próstata. Numa segunda fase, procurou-se evidenciar a relevância do potencial terapêutico dos mecanismos epigenéticos acionados por esses fármacos, bem como o seu papel no tratamento do cancro da próstata, quer em monoterapia, quer em terapias combinadas. Atualmente, estes fármacos encontram-se em investigação pré-clínica para casos de cancro da próstata recorrente, metastático ou refratário à terapêutica hormonal, ou que apresentem outros mecanismos de resistência. Deste modo, o presente estudo visa compilar a informação mais recente sobre esta temática, sublinhando a importância da continuidade da investigação nesta área terapêutica, que se revela promissora e potencialmente crucial para o tratamento de determinados subgrupos de doentes.

Metodologia

Para atingir os objetivos propostos nesta dissertação, foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados *Pubmed* entre agosto de 2023 e agosto de 2024, tendo sido utilizados os termos em inglês: *prostate, prostate cancer, epidemiology, risk factors, diagnosis, treatment, epigenetic mechanisms, androgen receptor, histone deacetylase e histone deacetylase inhibitors*, complementada com informação obtida em livros de “Urologia”.

Foram incluídos artigos em inglês e sem qualquer limitação temporal.

Numa primeira fase, os artigos de revisão foram selecionados com base no seu título. Mais tarde, foi analisado o seu conteúdo e contributo para os objetivos definidos, tendo sido selecionados os artigos mais pertinentes para o tema. Adicionalmente, as referências bibliográficas dos artigos selecionados foram analisadas para que outras publicações relevantes pudessem ser acrescentadas.

Foi também considerada a data da publicação tendo sido elegidos, sempre que possível, os estudos mais recentes.

Após análise minuciosa dos materiais considerados de maior relevância para o tema, foi possível elaborar esta dissertação.

Capítulo 1. Cancro da próstata

1.1 Anatomia e histologia da próstata

A próstata, na sua forma cónica, está localizada na escavação pélvica, em posição subperitoneal, entre o diafragma pélvico e a cavidade peritoneal. Encontra-se posteriormente à sínfise púbica, anteriormente ao reto e inferiormente à bexiga urinária, envolvendo a uretra proximal (1).

A próstata é constituída por uma base, um ápex e superfícies anterior, posterior e infero-lateral. A base relaciona-se com o colo da bexiga e com a uretra prostática, que atravessa longitudinalmente a glândula. O ápex assenta na superfície superior do diafragma urogenital e contacta com a superfície medial dos músculos levantadores do ânus. A superfície posterior, triangular e plana, relaciona-se com a parede anterior do reto. A superfície infero-lateral, juntamente com a superfície anterior, assenta sobre a fâscia do músculo levantador do ânus, acima do diafragma urogenital (1).

A próstata é envolta por uma pseudocapsula composta por elementos glandulares e estromais, firmemente unidos. A camada interna é constituída por músculo liso e a camada externa por colagénio (1).

A irrigação arterial é garantida por ramos provenientes das artérias ilíacas internas, nomeadamente das artérias vesicais inferiores, artérias pudendas internas e artérias retais médias. A inervação da próstata é complexa, sendo mediada por fibras nervosas do sistema nervoso autónomo (simpático e parassimpático), que formam o plexo hipogástrico inferior (plexo prostático). Esse plexo é crucial tanto para o funcionamento normal da próstata quanto para a sua relação com estruturas adjacentes, como a bexiga e o esfíncter uretral. A drenagem linfática é efetuada primordialmente para os gânglios das cadeias ilíacas internas, ilíacas externas, pré-sagradas e obturadoras (1).

Em toda a sua extensão, a próstata é circundada por músculos esfíncterianos. A uretra proximal é envolta por músculo liso, o que permite o seu encerramento durante a ejaculação, evitando o movimento retrógrado. O esfíncter da uretra distal é constituído por fibras musculares estriadas (1).

A próstata está dividida em várias zonas, como representado na figura 1. Estas zonas podem ser distinguidas pela sua histologia, observada na figura 2, pontos de referência anatómicos, funções biológicas e suscetibilidade a alterações patológicas (1).

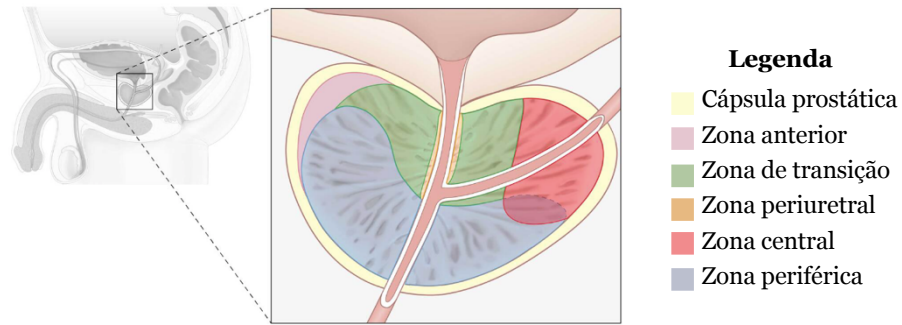


Figura 1. Zonas da próstata. Adaptado de *AMBOSS Library. Zones of the prostate*. <https://amboss.com/>. Acedido a 25 de março de 2024.

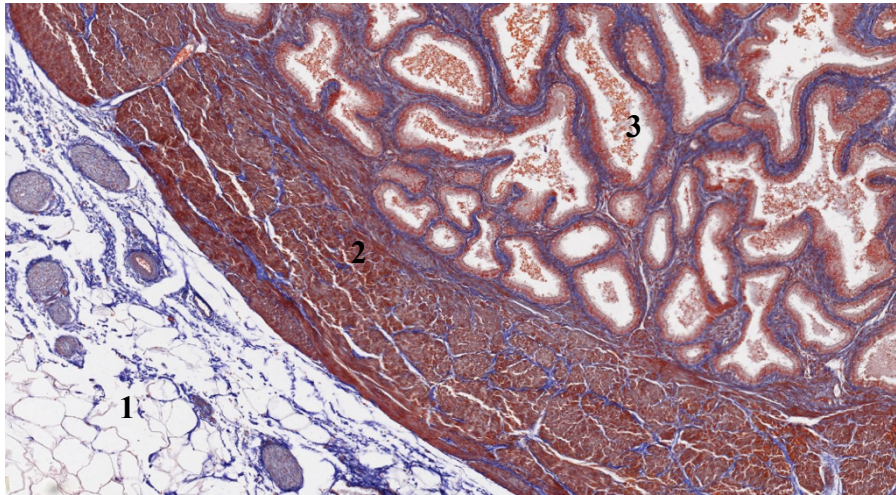


Figura 2. Histologia da próstata. [1] camada de tecido periprostático, [2] cápsula prostática composta por músculo liso [3] glândulas prostáticas tubuloalveolares circundadas por estroma fibromuscular denso. *AMBOSS Library. Fine structure of the prostate*. <https://amboss.com/>. Acedido a 25 de março de 2024.

Conforme indicado na tabela 1, 70% dos cancros da próstata surgem na zona periférica, que tem a sua origem no seio urogenital. Pelo contrário, a zona central, que deriva do ducto de *Wolff* ou ducto mesonéfrico, apresenta uma baixa incidência de cancro, tal como acontece com outras estruturas originárias deste ducto, como as vesículas seminais. Apesar da zona de transição partilhar a origem embriológica com a zona periférica, a prevalência de cancro da próstata ronda os 25%, o que poderá ser explicado pelas suas diferenças estromais. A zona de transição apresenta um estroma mais fibromuscular, que favorece o aparecimento da HBP (1).

Tabela 1. Características das diferentes zonas da próstata (1).

	Zona central	Zona de transição	Zona periférica
Volume (%)	25	5	70
Origem Embriológica	Ducto de <i>Wolff</i>	Seio urogenital	Seio urogenital
Epitélio	Grandes glândulas poligonais	Pequenas glândulas redondas	Pequenas glândulas redondas
Adenocarcinoma (%)	5	25	70
HBP (%)	-	100	-

1.2 Cancro da próstata

a. Epidemiologia

O cancro da próstata é um dos cancro mais prevalentes no sexo masculino. A sua incidência varia mundialmente entre regiões geográficas e etnias, sendo mais comum na raça negra (2). A maioria dos casos diagnosticados anualmente ocorre em países desenvolvidos devido à maior adesão a técnicas de prevenção secundária (3).

Esta doença é mais comum em indivíduos idosos, com 6 em cada 10 casos diagnosticados em homens com 65 anos ou mais, e uma idade média de diagnóstico em torno dos 66 anos (8). De acordo com o Globocan 2022, aproximadamente 1,5 milhões de novos casos de cancro da próstata foram diagnosticados, sendo 32,2% destes na Europa, representando o 4º cancro com maior incidência a nível mundial (9).

Apesar dos avanços no desenvolvimento de novas terapêuticas e abordagens individualizadas, o cancro da próstata continua a ser um desafio médico significativo, devido à iatrogenia associada a patologias benignas e terapias inadequadas para o cancro metastático (4). O Globocan 2022 relatou cerca de 397 mil mortes atribuídas a este cancro, sendo cerca de 29% na Europa (9).

Globalmente, espera-se que o número de novos casos de cancro da próstata atinja cerca de 1,7 milhões em 2030, com aproximadamente 500 mil mortes. Este aumento é principalmente atribuído ao crescimento e envelhecimento da população, com um maior número de pessoas com 65 anos ou mais (10).

Segundo o Globocan 2022, o cancro da próstata é o tipo de cancro mais prevalente no sexo masculino em Portugal. Em 2022, foram diagnosticados aproximadamente 7500 novos casos de cancro da próstata, representando cerca de 20% do total de cancros no sexo masculino. Estima-se que, em 2027, a prevalência nacional atinja aproximadamente 29000 casos (11).

b. Fatores de risco

O aparecimento do cancro resulta de alterações na sequência de DNA, incluindo mutações pontuais, polimorfismos de nucleótido único (SNP) e alterações cromossómicas nas células somáticas. Tais mutações podem desencadear a transformação das células da próstata em células cancerígenas, silenciando genes supressores de tumores e ativando oncogenes. Estas mutações podem ter origem hereditária ou ser adquiridas (3). Dentro dos genes frequentemente utilizados como biomarcadores para cancro da próstata, destacam-se o BRCA, HOX, ATM, RNase L (HPC1, 1q22), MSR1 (8p) e ELAC2/HPC2 (17p11), os quais desempenham papéis cruciais tanto no diagnóstico e prognóstico, como na previsão do aparecimento do cancro (3,12).

No que concerne aos fatores de risco não modificáveis, um estudo recente realizado nos EUA estabeleceu que a probabilidade de desenvolvimento do cancro da próstata aumenta 1,8% entre os indivíduos com idades entre os 60 e 69 anos, e 9% entre os homens com 70 anos ou mais, sendo este o principal fator de risco (13). Além disso, a incidência de cancro da próstata é mais elevada na raça negra, influenciada por fatores genéticos e biológicos, bem como por desigualdades no acesso a medidas preventivas (2).

No que diz respeito aos fatores de risco modificáveis, a inatividade física pode aumentar a taxa de mortalidade associada ao cancro da próstata, enquanto a prática regular de atividade física pode reduzir o risco do seu desenvolvimento a longo prazo (14). A alimentação também desempenha um papel importante na etiologia do cancro da próstata. Dietas vegetarianas têm sido identificadas como fatores protetores, em contraste com dietas ricas em carne, que elevam o risco da doença. De igual forma, o consumo de dietas pró-inflamatórias amplifica a probabilidade de surgimento deste tipo de cancro, tal como o consumo de ácidos gordos trans, comuns em alimentos ultraprocessados (15,16). O tabagismo foi igualmente reconhecido como um fator de risco adicional (14).

Foram ainda estabelecidas associações entre prostatite, síndrome de *Sjogren* e periodontite, e um maior risco de desenvolvimento do cancro da próstata (14).

Em relação aos fatores de risco ocupacionais, trabalhadores expostos a produtos químicos e pesticidas, como agricultores e petroleiros, apresentam um risco aumentado de desenvolvimento deste tipo de cancro (17,18). Além disso, agentes infecciosos como o vírus do papiloma humano (HPV), especialmente o HPV-16, são considerados fatores de risco adicionais (19).

No âmbito do cancro da próstata hereditário, destaca-se como principal fator de risco a presença de casos nos familiares próximos, com uma hereditariedade estimada em 58% (20-22). Uma porção significativa dos casos de cancro da próstata hereditária pode ser atribuída a SNPs, que são variações genéticas relativamente comuns. Quanto à

predisposição genética, as mutações nos genes HOXB13 e BRCA2 são frequentemente associadas a uma maior suscetibilidade para o desenvolvimento do cancro da próstata. No entanto, a prevalência destas mutações na população geral é estimada em apenas 0,3% (23-25).

c. Fisiopatologia

i. Início e desenvolvimento do cancro da próstata

Os estadios de aparecimento e desenvolvimento do cancro da próstata, presentes na figura 3, são caracterizados pelos seus respetivos processos moleculares, genes e vias de sinalização. O primeiro sinal de aparecimento do cancro é uma inflamação generalizada da glândula prostática, que resulta da divisão descontrolada das células causada por mutações no DNA. A nível dos cromossomas, há o encurtamento dos telómeros, que pode decorrer do stress oxidativo resultante da inflamação da glândula prostática (3).

Nas células cronicamente inflamadas, a secreção de grandes quantidades de espécies reativas de oxigénio (ROS) e espécies reativas de nitrogénio (RNS) levam ao recrutamento de células imunes ativadas, que conduzem à amplificação de processos desregulados e, eventualmente, a condições pré-neoplásicas. Se a quantidade de ROS/RNS produzidas forem suficientes para superar a resposta anti-oxidativa endógena, ocorre dano oxidativo a nível dos ácidos nucleicos, lípidos e proteínas que pode resultar em alterações genéticas e epigenéticas que, por sua vez, conduzem à desregulação na expressão de oncogenes e genes supressores tumorais. Assim, o stress oxidativo e a inflamação crónica são processos muito relacionados entre si e, quando o organismo falha no bloqueio destes mecanismos, pode levar a mutações que conduzem ao início da carcinogénese (26).

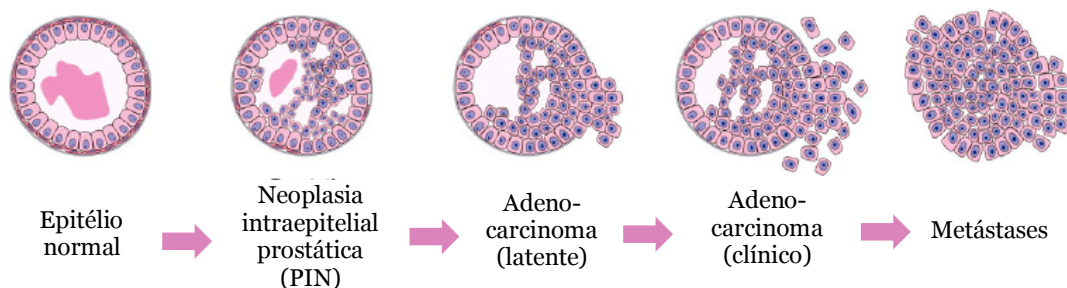


Figura 3. Estadios de desenvolvimento do cancro da próstata (3).

Foram descritas algumas alterações genéticas, nomeadamente no proto-oncogene MYC, gene PTEN, gene NKX3.1 e fusões TMPRSS2-ERG, com impacto no início do desenvolvimento do cancro da próstata, como representado na tabela 2. A fusão de genes que ativa a via de sinalização oncogénica ERG também contribui para o desenvolvimento do cancro (3).

Na fase inicial do cancro da próstata, as alterações genéticas representam papéis na carcinogénese, nomeadamente pela sub-expressão do gene NKX3.1, que resulta na progressão tumoral, bem como a agressividade e capacidade invasiva do tumor, pela sobre-expressão do proto-oncogene MYC, que promove a instabilidade genómica e tumorigénese, e pela inativação do gene PTEN, que estimula uma proliferação celular descontrolada. A fusão de TMPRSS2-ERG está presente em cancros da próstata resistentes à castração, podendo ser detetada em cerca de 50% desses pacientes (3).

Na fase de progressão, a ativação da via ERK/MAPK potencia uma proliferação descontrolada, perda de diferenciação das células e uma diminuição no mecanismo de apoptose (3).

Aproximadamente 80-90% dos cancros da próstata são dependentes de androgénios ao diagnóstico inicial, sendo que a grande maioria dos tratamentos hormonais são dirigidos à redução da concentração sérica de androgénios e à inibição dos seus recetores. No entanto, por vezes esta terapêutica falha, tornando o cancro da próstata refratário ao tratamento hormonal (27).

As metástases são resultado da reativação das vias de sinalização envolvidas na divisão e proliferação das células (3). Resultados da análise de expressão génica indicaram uma sobre-expressão de mRNA e proteínas do gene EZH2 presentes em cancros da próstata metastáticos, sugerindo que pode ser um novo alvo de tratamento (28).

Tabela 2. Processos e genes alterados ao longo da evolução do cancro da próstata (3).

Início	Progressão
Inflamação	Reativação das vias de sinalização
Stress oxidativo	
Senescência	
Encurtamento dos telómeros	
Sub-regulação do gene NKX3.1	Ativação de ERK/MAPK Mutações no AR
Sobre-expressão do gene MYC	
Inativação de PTEN	
Fusão de TMPRSS2-ERG	

ii. Vias moleculares da carcinogénese

1. Via de sinalização do recetor de androgénios

Os androgénios regulam aspetos importantes no desenvolvimento masculino e respetiva função reprodutora, através da interação com o AR, como representado na figura 4. A transcrição de genes reguladores do AR é induzida pela ligação com a testosterona, em particular da 5 α -dihidrotestosterona (DHT). A DHT é um androgénio potente produzido nos tecidos periféricos, incluindo na próstata, a partir de testosterona e por intermédio da ação da enzima 5 α -redutase (29).

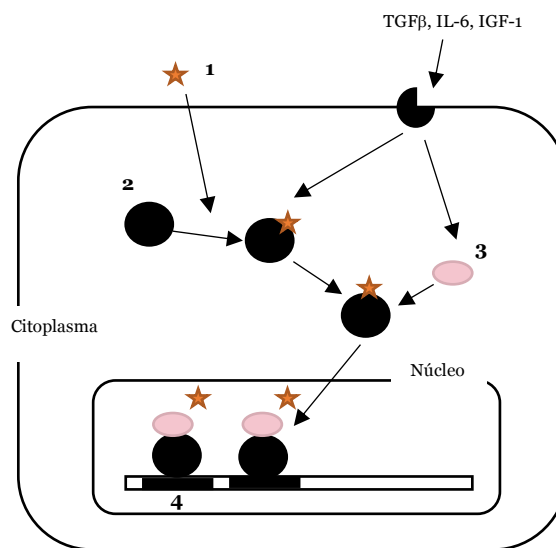


Figura 4. Ação androgénio-AR na próstata. A ligação da testosterona ou DHT [1] ao AR [2] promove a ligação dos seus co-reguladores (ARAs) [3]. O AR sofre translocação para o núcleo e liga-se aos elementos de resposta androgénica (AREs) [4] nas regiões promotoras dos genes-alvo para induzir a proliferação celular e inibir a apoptose. O TGF β , IL-6 e IGF-1 promovem a atividade do AR através da fosforilação do AR ou dos ARAs (27).

Os androgénios são essenciais para o desenvolvimento normal da próstata, após o qual continuam a promover a sobrevivência e a diferenciação do epitélio secretor, composto pelo tipo de células primárias na origem do adenocarcinoma (30). O AR é um importante mediador no crescimento e proliferação do cancro da próstata. Foram reportados baixos níveis de testosterona em pacientes recentemente diagnosticados com cancro da próstata, ainda não submetidos a tratamento, estando esses níveis correlacionados com uma expressão elevada do AR. Assim, isto poderá indicar uma maior sensibilidade das células cancerígenas aos estímulos hormonais, mesmo na presença de baixos níveis de testosterona, o que pode influenciar a agressividade e o comportamento do cancro. Além disso também foi observada uma maior densidade de vasos capilares associados ao tumor (27).

Mutações e amplificações do gene AR foram reportadas em cerca de 1% dos casos de cancro da próstata primário, e em 60% dos casos de cancro metastático (31-33). A maioria das mutações causa alterações num único aminoácido, predominantemente no domínio de ligação do androgénio ao AR. As consequências funcionais resultantes destas mutações são responsáveis por promover a capacidade dos antiandrogénios funcionarem como agonistas do AR, o que confere uma vantagem em termos de progressão do cancro (34).

Foram descritas alterações específicas na progressão e modulação da atividade do AR no cancro da próstata, como a repetição de nucleótidos, a amplificação do gene AR, a sobre-expressão de co-reguladores e a relação de AR com genes supressores tumorais e fatores de crescimento, representadas na figura 5.

- A. Repetição dos trinucleótidos CAG e GGN do AR. Variações polimórficas nas repetições CAG do terminal NH₂ foram associadas a alterações na transcrição do AR *in vitro* e a variações de aumento de tamanho da próstata em homens sob terapia de substituição de testosterona, constituindo um fator de risco para o aparecimento e progressão do cancro da próstata (27,35-38). Uma deleção da repetição do trinucleótido GGN, ou poliglicina, resulta numa redução de 30% da transcrição do AR (35). No entanto, será necessária mais investigação para averiguar os seus efeitos no cancro da próstata.
- B. Amplificação do AR. Este mecanismo permite que as células prostáticas cancerígenas se tornem sensíveis ao reduzido nível de androgénios provocado pela terapêutica ablativa de androgénios. A amplificação de AR raramente ocorre em cancros da próstata primários sem tratamento. No entanto, foi encontrada em 20-30% dos casos de cancro da próstata refratários à terapêutica hormonal (39-43).
- C. Sobre-expressão do co-regulador de AR. Uma vez que os co-ativadores potenciam a atividade transcripcional dos recetores de esteróides, permitindo que eles se tornem ativos com concentrações baixas de ligandos, foi proposto que a sobre-expressão de certos co-ativadores pudesse contribuir para o desenvolvimento de cancros responsivos a hormonas esteróides, como é o caso do cancro da próstata. Este processo foi verificado com os co-ativadores SRC-1, TIF-2, SRC-3, ARA70, a fosfatase ativadora de cdk, cdc25B, a proteína interativa Tat, Tip60, e a proteína nuclear, nmt55 (27).
- D. AR e genes supressores tumorais.
 - i. Rb. O gene Rb desempenha um papel protetor contra o desenvolvimento de cancro, controlando a passagem pelo ponto de restrição durante a fase G₁ do ciclo celular e limitando a atividade do AR. A perda de Rb permite que as células

prolifere sem controlo e que o AR se torne mais ativo, o que contribui para o desenvolvimento e maior agressividade do cancro da próstata (27).

- ii. BRCA2. A mutação no gene supressor tumoral BRCA2 aumenta a atividade transcripcional de AR, pelo efeito sinérgico com as proteínas GRIP1/TIF2, co-ativadoras da família de p160 (44).
- iii. PTEN. A perda do gene PTEN resulta num aumento da via de sinalização PI3K/Akt, o que contribui para o aumento da proliferação celular e diminuição da apoptose. No cancro da próstata, esta perda está diretamente relacionada com o aumento da gravidade do cancro, estando associada a tumores mais agressivos, resistência a tratamentos e a um pior prognóstico (27).

E. Modulação do AR por fatores de crescimento. Um aumento no número de cascatas transdutoras de sinal influencia a atividade transcripcional de AR, tanto por fosforilação direta do mesmo, como dos seus co-reguladores (27).

- i. Her2/Neu/ErbB2. Constitui uma das quatro tirosina quinases de membrana estruturalmente relacionadas, que compõem o fator de crescimento epidérmico (EGF). O aumento da expressão de Her2 no carcinoma da próstata está relacionado com o desenvolvimento da resistência ao tratamento hormonal, uma vez que permite a ativação do AR com níveis muito baixos de androgénios circulantes (27). A sobre-expressão de Her2 contribui ainda para o aumento da transcrição de AR na presença de DHT, o que apoia a teoria de que o aumento de Her2 permite a proliferação de células prostáticas malignas antes da intervenção terapêutica (45).
- ii. TGF β . Na próstata normal, inibe o crescimento do epitélio prostático e contribui para a diferenciação do estroma. Os mediadores da sinalização do TGF β são as proteínas Smad que funcionam como reguladores da fosforilação. Vários estudos afirmam que uma sensibilidade diminuída para o efeito inibitório do TGF β , contribui para a proliferação e progressão do cancro da próstata (27).
- iii. PYK2. Este fator de crescimento modula a ativação do AR pela fosforilação de um co-regulador, o ARA55. A fosforilação do ARA55 bloqueia a interação ARA55-AR, reduzindo a ativação do AR nas células cancerígenas da próstata (27). Clinicamente, a redução da expressão de PYK2 é verificada nos tumores mais agressivos (46).
- iv. IL-6. A citocina IL-6 regula a diferenciação e proliferação celulares. Elevados níveis de IL-6 foram encontrados em pacientes com cancro da próstata metastático, especialmente nos cancros refratários a tratamento hormonal, o que indica que a IL-6 apresenta um papel na progressão do cancro da próstata.

Estudos afirmaram que a IL-6 pode modular a atividade do AR através de várias vias de sinalização, como a ativação das vias PI3K/Akt, STAT3 e MAPKK/MAPK quinase (27).

- v. IGF-1. Medeia a sinalização mitogénica e anti-apoptótica através do recetor IGF-1R (27). No sangue, o IGF-1 está predominantemente ligado ao IGFBP-3, o que diminui a sua atividade (27). Estudos epidemiológicos demonstraram que o aumento de IGF-1 associado a diminuição de IGFBP-3, contribui para um acréscimo em 2 a 4 vezes do risco de desenvolvimento de cancro da próstata (47,48).

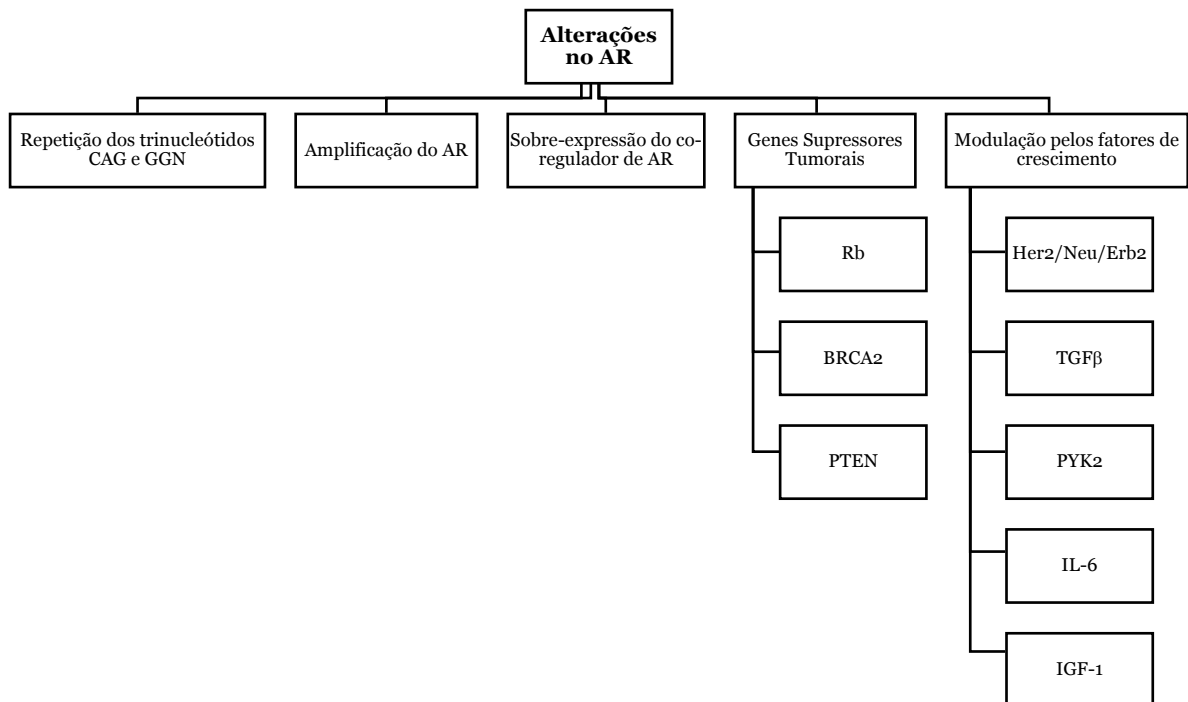


Figura 5. Alterações do AR no cancro da próstata.

2. Mecanismos epigenéticos

As modificações epigenéticas induzem alterações reversíveis e hereditárias no DNA, sem alterarem a sua sequência. São geralmente classificadas como um *hallmark* do cancro, devido à sua ação combinada com a ativação de oncogenes e inibição de genes supressores tumorais. Alguns dos mecanismos epigenéticos descritos são a metilação de DNA, as modificações covalentes das histonas, as variantes das histonas e os complexos de remodelação da cromatina. No cancro da próstata, a desregulação dos mecanismos epigenéticos, que se encontram representados na figura 6, está na base das alterações nas vias de crescimento das células e na progressão do tumor no geral (49).

A metilação do DNA é a principal alteração descrita no cancro da próstata (50,51). Este processo envolve a adição do grupo metil formando 5-metilcitosina (5mC), usualmente na região promotora, nas ilhas CpG, para promover o silenciamento de genes. Esta reação é catalisada pelas DNA metiltransferases (DNMT), nomeadamente a DNMT1 responsável pela manutenção da metilação de DNA, e a DNMT3a e DNMT3b responsáveis pela metilação de novo. Em contraste, a desmetilação do DNA é realizada pelas enzimas TET (49). No cancro da próstata, o gene LINE-1, usualmente silenciado no genoma humano, é re-expresso nas células cancerígenas, e as DNMT3a e DNMT3b são altamente expressas e estão associadas à progressão tumoral (52,53).

Os modificadores pós-traducionais das histonas provocam alterações enzimáticas das proteínas. Estas reações são estabelecidas pelas histonas metiltransferases (HMT) e HAT, e removidas pelas histonas desmetilases (HDM) e HDAC. A desregulação entre HMT e HDM foi observada nas células do cancro da próstata e foi associada à proliferação das células tumorais. Estas alterações conduzem a um efeito pleiotrópico, que pode conduzir à ativação ou repressão da transcrição de genes. A acetilação das histonas está associada à ativação transcripcional do DNA através da neutralização das cargas das histonas, que leva ao relaxamento e abertura da molécula de DNA. As HDAC são uma família de remodeladores de cromatina que englobam quatro grandes classes (I, II, III e IV) regulando tanto os fatores de transcrição, como a desacetilação de histonas. As HDAC são um grupo comum de modificador pós-traducional das histonas no cancro da próstata, que conduzem à repressão transcripcional de genes específicos (49). A sobre-expressão das HDAC1, HDAC2 e HDAC3 foram associadas à progressão e agressividade do cancro da próstata (54).

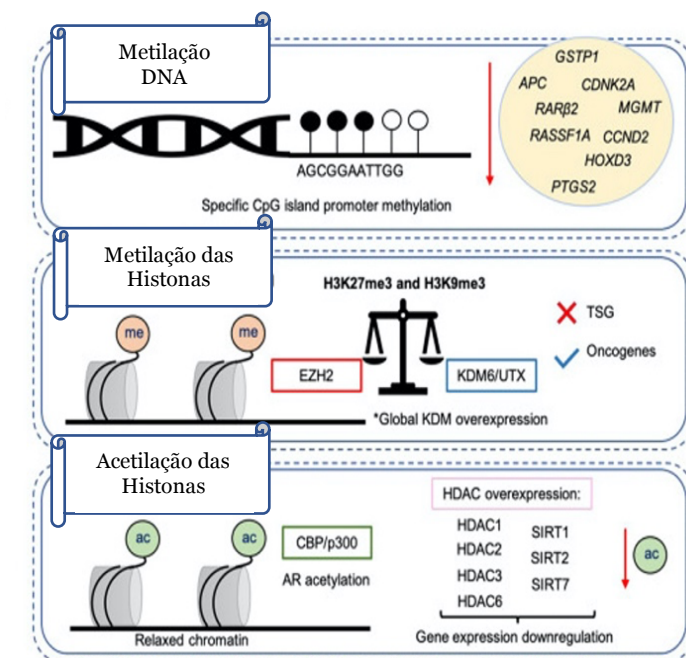


Figura 6. Alterações epigenéticas no cancro da próstata (49).

d. Rastreio e Diagnóstico

Os principais determinantes para o aumento da taxa de mortalidade relacionada com o cancro da próstata são o diagnóstico tardio e a falência terapêutica (3).

Atualmente, não existem testes de rastreio específicos que permitam diagnosticar, de forma definitiva, o cancro da próstata. Contudo, são realizados convencionalmente alguns exames que possibilitam a identificação de casos suspeitos, sendo que os mais comumente utilizados são o toque retal e o teste de antígeno específico da próstata (PSA). Segundo a Direção-Geral da Saúde, a prescrição e determinação do PSA para rastreio populacional estão contraindicadas, ficando reservadas para rastreio oportunístico em indivíduos com idades compreendidas entre os 50 e os 75 anos. A manutenção da determinação dos níveis de PSA só deve ocorrer em indivíduos com esperança de vida superior a 10 anos, com periodicidade definida tendo em conta os resultados obtidos em determinações anteriores (3,55). O PSA, por sua vez, é uma glicoproteína secretada pelas células epiteliais da glândula prostática, que se encontra maioritariamente no sémen, podendo também ser detetado na corrente sanguínea (3). Como representado na tabela 3, para valores basais de PSA <2,5ng/mL, a periodicidade da sua determinação é de 2 em 2 anos, e para valores basais compreendidos entre 2,5 e 4ng/mL, a periodicidade é anual. O *cut-off* de PSA é definido como 4 ng/mL, sendo que valores superiores sugerem que o paciente necessita de realizar testes adicionais, nomeadamente a determinação da percentagem de PSA livre (3,55). Pacientes com níveis de PSA entre 4 ng/mL e 10 ng/mL apresentam uma probabilidade de desenvolvimento de cancro de 25%. Por sua vez, pacientes com valores de PSA superiores a 10 ng/mL apresentam uma possibilidade de diagnóstico de cancro acima dos 50% (56).

Tabela 3. Resultado do teste de PSA e respetiva interpretação (55).

Valor de PSA	Seguimento
< 2,5 ng/mL	PSA com periodicidade de 2 anos
2,5 – 4 ng/mL	PSA com periodicidade de 1 ano
4 – 10 ng/mL	Determinação da % de PSA livre: <ul style="list-style-type: none"> • ≥25% - controlo anual PSA • <25% - referência a consulta hospitalar com carácter prioritário para realização de biópsia
>10 ng/mL	Referenciação a consulta hospitalar com carácter prioritário para realização de biópsia

Uma vez que o PSA é específico da glândula prostática, mas não específico de cancro, um valor aumentado também pode significar uma patologia benigna, como a HBP ou

prostatite, ou pode mesmo representar um aumento fisiológico relacionado com a idade. O PSA também pode ser utilizado para avaliar a eficácia do tratamento, ou em casos de cancro da próstata recorrente (3).

No que diz respeito a exames de imagem, a ressonância magnética (RMN) pode ser utilizada para identificar áreas anormais da próstata. A RMN multiparamétrica (RMN-mp) é um exame avançado que proporciona uma visualização detalhada da estrutura prostática, podendo ser utilizada como ferramenta de rastreio, especialmente quando os resultados do toque retal e ecografia prostáticos são negativos. O PI-RADS (*Prostate Imaging Reporting and Data System*) é um sistema de classificação usado para avaliar e relatar os achados da RMN-mp (3).

A suspeita de cancro da próstata é normalmente complementada com uma biópsia prostática. Esta constitui o método mais fiável no diagnóstico de cancro da próstata. Se a biópsia for positiva é reportado o grau de diferenciação das células tumorais de acordo com o *score de Gleason* (que varia entre 6 e 10), ou, mais recentemente, pela classificação de ISUP que varia entre 1 e 5, correspondendo os graus mais baixos a células mais diferenciadas e com um prognóstico mais favorável, e os graus mais elevados a células mais indiferenciadas e com um prognóstico mais reservado (57).

Mais recentemente, foram exploradas novas técnicas de imagem como a tomografia por emissão de positrões com o antigénio de membrana específico da próstata, ou PET-PSMA, que se projeta que, juntamente com a RMN-mp, venham a alterar o paradigma do diagnóstico e abordagem terapêutica individualizada do cancro da próstata (3).

De acordo com as mais recentes diretrizes, qualquer indivíduo do sexo masculino com risco acrescido de desenvolver cancro da próstata, poderá realizar uma RMN-mp antes de avançar para a realização de uma biópsia, tornando o exame dirigido aos locais que efetivamente apresentam alterações. Isto serve para minimizar as complicações associadas à biópsia, como sintomas do trato urinário inferior (LUTS), hematúria, disfunção erétil temporária, hematospermia, problemas hemorrágicos e retenção urinária aguda (RUA) (3).

e. Estadiamento

Saber a extensão do cancro da próstata é um fator essencial na determinação do método de tratamento mais adequado. Devido ao aparecimento de novas tecnologias e terapêuticas inovadoras, é possível delinear um diagnóstico e um tratamento personalizado. Métodos mais recentes como a RMN-mp são utilizados para determinar a extensão e a agressividade do cancro da próstata, assim como as opções terapêuticas disponíveis. Outro método, também utilizado, consiste na análise de imagens de contraste dinâmico em ressonância magnética, ou DCE-MRI, para verificar a possibilidade de existência de células cancerígenas

nos nódulos linfáticos. A PET também pode ser utilizada para detetar e avaliar o tratamento do cancro da próstata (8).

Relativamente ao estadiamento propriamente dito, existem essencialmente dois sistemas a considerar, um para o estadió clínico e outro para o estadió patológico. O estadió clínico é determinado por exames como o toque retal, biópsia, tomografia computadorizada (TC) e/ou RMN e cintigrafias ósseas. Por sua vez, o estadió patológico diz respeito à informação obtida durante a cirurgia e aos resultados do laboratório de Anatomia Patológica (8).

O sistema TNM, apresentado na tabela 4, é muito utilizado. O (T) refere-se ao tamanho e localização do tumor, o (N) à disseminação do tumor a nível dos nódulos linfáticos e o (M) às metástases noutras partes do corpo. Os resultados são posteriormente combinados para determinar o estadió do cancro (8).

Tabela 4. Estadiamento TNM (58).

	T1 – tumor não palpável
	T1a – Ressecção transuretral da próstata (RTU-P) em <5% do tecido
	T1b – RTU-P em >5% do tecido
	T1c – Biópsia prostática positiva (realizado por aumento do PSA)
T	T2 – tumor palpável confinado à próstata
	T2a – Afeta ½ de um lobo, ou menos
	T2b – Afeta mais de ½ de um lobo
	T2c – Afeta ambos os lobos
	T3 – tumor que se estende através da cápsula prostática
	T3a – Extensão extracapsular
	T3b – Invasão das vesículas seminais
	T4 – invade as estruturas adjacentes (esfíncter externo, reto, músculos levantador do ânus, parede pélvico)
	Nx – não se pode confirmar a presença de metástases ganglionares
N	No – ausência de metástases dos gânglios linfáticos regionais
	N1 – presença de metástases dos gânglios linfáticos regionais
	Mx – não se confirma presença de metástases à distância
	Mo – ausência de metástases à distância
M	M1 – presença de metástases à distância
	M1a – metástases dos gânglios linfáticos à distância
	M1b – metástases ósseas. Os ossos mais afetados são: bacia e sacro, coluna, fémur, costelas e omoplata.
	M1c – outras

A diferenciação histológica, que é obtida através da biópsia, é classificada de acordo com o *score de Gleason*, fundamental para compreender a agressividade do tumor, qual a terapêutica a adotar e qual o prognóstico da doença. O *score de Gleason* varia de 6 a 10, sendo que o grau 6 corresponde a um tumor bem diferenciado e o grau 10 ao mais indiferenciado. A ISUP desenvolveu, em 2014, um sistema de classificação que pretende

melhorar e adaptar o *score de Gleason*. A classificação ISUP possibilitou uma melhor interpretação clínica do *Gleason 6*, permitiu distinguir os graus de *Gleason 7 (3 + 4)* e *7 (4 + 3)* e ainda redefinir o prognóstico dos pacientes com cancro da próstata de alto grau (8,57).

Tabela 5. *Score de Gleason* e ISUP (8,57).

Grupo	Score de Gleason	ISUP	Estadiamento
I	6	1	Baixo grau. Células bem diferenciadas.
II	7 (3+4)	2	Médio grau. Células moderadamente diferenciadas, mais favoráveis.
III	7 (4+3)	3	Médio grau. Células moderadamente diferenciadas, menos favoráveis.
IV	8	4	Alto grau. Células pouco diferenciadas.
V	9 ou 10	5	Alto grau. Células indiferenciadas.

Na prática clínica, os médicos combinam o sistema TNM com o *score de Gleason* e com os níveis de PSA, definindo o estadio do cancro da próstata. Existem 5 estadios, sendo que o “0” se refere a ausência de cancro e os estadios “I a IV” descrevem a extensão da progressão do cancro da próstata, como descrito na tabela 6.

Tabela 6. Estadiamento clínico do cancro da próstata (8).

Estadio	Características
I	- Crescimento lento. Tumor não palpável e envolve apenas 1/2 de um dos lados da próstata, ou menos. As células aparentam ser saudáveis. - Nível de PSA baixo.
II (A,B,C)	- Tumor apenas na próstata; Tamanho pequeno, mas com risco de crescimento e proliferação aumentados. - Níveis de PSA baixos/médios.
III (A,B,C)	- Tumor em crescimento, de alto grau e localmente avançado, com grande probabilidade de crescimento e proliferação. - Níveis de PSA altos.
IV (A,B)	- Cancro envolve outras estruturas.

f. Tratamento

Os avanços nas técnicas de diagnóstico e de tratamento permitiram uma melhoria na capacidade de estratificação de pacientes pelo risco de progressão do cancro da próstata, e possibilitaram uma proposta de tratamento baseada no prognóstico e preferências do doente (3). A tabela 7 representa os principais tipos de tratamento e seus efeitos adversos.

Tabela 7. Abordagens ao cancro da próstata (3)

Tratamento	Estado da doença	Potenciais efeitos adversos
Vigilância ativa	Localizada	Incerteza da doença
Prostatectomia radical	Localizada	Disfunção erétil; Incontinência urinária
Radioterapia externa	Localizada ou avançada	Urgência urinária; Disúria, diarreia e proctite
Braquiterapia	Localizada	Urgência urinária; Disúria, diarreia e proctite
Crioterapia	Localizada	Disfunção erétil; Incontinência urinária e RUA; Dor e fístulas retais
Terapêutica Hormonal	Localizada ou Avançada	Fadiga; Flush ou ondas de calor; Dislipidemia; Resistência à insulina; Doenças cardiovasculares; Anemia; Osteoporose; Disfunção erétil; Défices cognitivos
Quimioterapia	Avançada	Mielosupressão; Reação de hipersensibilidade; Efeitos gastrointestinais; Neuropatia periférica

A vigilância ativa é uma técnica eficaz em pacientes com cancro da próstata de baixo risco e subentende a possibilidade de aplicar um tratamento com intenção curativa em caso de progressão da doença (3). *Watchful waiting* é uma medida conservadora em pacientes idosos ou frágeis, em que se aguarda pelo desenvolvimento clínico e progressão da doença. Neste caso, o tratamento implementado, quando necessário, será sintomático e representará uma medida paliativa (58).

A prostatectomia radical é o procedimento de remoção da glândula prostática por cirurgia aberta, laparoscopia ou robótica (3). Esta técnica é utilizada em pacientes com cancro da próstata de intermédio-alto risco, ou com recorrência local do tumor na ausência de metástases, após terapia com radiação externa, braquiterapia ou crioterapia. Os pacientes idealmente devem ter menos de 70 anos e uma esperança média de vida superior a 10 anos (59).

A crioterapia é um procedimento caracterizado pela inserção de *cryoprobes* na próstata, guiado por ecografia. Envolve a descida de temperatura da glândula para um valor compreendido entre os -100°C e os -200°C (3).

O uso de radiação é uma das técnicas mais eficazes na eliminação de células prostáticas cancerígenas. A radiação pode ser aplicada através de braquiterapia, isto é, através do uso de sementes radioativas colocadas no órgão, ou radiação externa, onde a radiação é projetada através da pele. O tratamento descrito está indicado para pacientes que não cumprem os critérios para realização de cirurgia ou em alternativa a esta (3).

A terapêutica hormonal, ou terapia de privação de androgénios, é utilizada em pacientes com cancro da próstata avançado e/ou metastizado. O mecanismo terapêutico consiste no bloqueio da produção de testosterona, prevenindo a sua utilização pelas células

prostáticas cancerígenas. Assim, níveis significativamente diminuídos de androgénios são responsáveis pela inibição do AR. A privação de androgénios é conseguida através de orquidectomia bilateral ou castração farmacológica através da administração de análogos ou antagonistas da hormona de libertação da hormona luteinizante (LHRH). O análogo de LHRH estimula os recetores da hipófise, levando à diminuição da hormona luteinizante (LH) e da hormona folículo-estimulante (FSH). Alguns dos fármacos agonistas de LHRH são o acetato de leuprolida, goserrelina, triptorelina e histrelina. Os antagonistas exercem a sua ação através do bloqueio dos recetores da hipófise e, conseqüentemente, inibição da produção de testosterona (3).

A privação de androgénios também pode ser conseguida através do uso de antiandrogénios não esteroides de 1^a geração, em que o principal mecanismo de ação consiste na competição com a testosterona pela ligação ao AR. No entanto, existem evidências de que o seu uso em monoterapia não revela tanta eficácia como as técnicas de castração supracitadas. Alguns dos fármacos utilizados são a bicalutamida, nilutamida e ciproterona (60).

O acetato de abiraterona é uma terapêutica de 2^a geração que tem como alvo a produção hormonal de testosterona ao nível da suprarrenal e produção androgénica pelas células cancerígenas. Está associada à inibição irreversível da ação hidroxilase e liase do CYP17A, da via AR e da ação desidrogenase do hidroxiesteróide-3 β . Apresenta também uma potente ação inibidora de outras enzimas como o CYP1A2 e CYP2D6, e é por vezes utilizada no tratamento de metástases (61). Os efeitos adversos associados incluem edema, hipertensão, fadiga e hipocaliémia (3).

A quimioterapia recorre a medicamentos citotóxicos que impedem o crescimento dessas células. O mais utilizado é o docetaxel, todavia existem outros como o cabazitaxel. O docetaxel é um agente que se liga à β -tubulina e inibe a despolimerização do microtúbulo, impedindo a divisão celular e induzindo a apoptose. O cabazitaxel é um antineoplásico de 2^a geração utilizado para diminuir a resistência ao docetaxel (3).

Nos casos em que há progressão da doença apesar da hormonoterapia, passam a um estadio em que os tumores são definidos como resistentes à castração. O cancro da próstata resistente à castração (CPRC) é definido pela progressão da doença apesar dos níveis suprimidos de testosterona e pode manifestar-se como um aumento contínuo nos níveis séricos de PSA, progressão da doença pré-existente e/ou aparecimento de novas metástases. As terapêuticas para CPRC incluem várias abordagens, como terapia hormonal adicional, quimioterapia, terapias direcionadas, imunoterapia e radioterapia (62). No entanto, o grande desafio enfrentado no tratamento deste tipo de cancro é a resistência do tumor aos tratamentos convencionais. A progressão contínua da doença e a falta de opções terapêuticas eficazes podem causar dificuldades significativas para os pacientes e médicos.

Para o tratamento de CPRC, estão a ser investigadas várias abordagens terapêuticas que visam os mecanismos epigenéticos envolvidos no cancro. Uma dessas abordagens é o uso de HDACi, que são mecanismos projetados para reverter alterações epigenéticas associadas à ativação anormal de genes envolvidos no crescimento tumoral. Além disso, os inibidores de metilação do DNA têm sido estudados como uma forma de reativar genes supressores de tumores que foram silenciados devido à metilação excessiva do DNA. Outra estratégia emergente é a terapia com microRNA (miRNA), que envolve a utilização de pequenas moléculas de RNA para modular processos epigenéticos alterados, restaurando assim a função normal das células e inibindo o crescimento do tumor. Além disso, os moduladores de remodelação da cromatina são compostos que visam modificar a estrutura da cromatina, afetando a acessibilidade dos fatores de transcrição aos genes e influenciando a expressão génica. Embora esses tratamentos ainda estejam em fase de investigação e desenvolvimento, representam uma área impactante de pesquisa que pode oferecer novas abordagens terapêuticas para pacientes com CPRC (49).

Capítulo 2. Histona desacetilase

2.1 HDAC: classificação, atividade enzimática e função biológica

As modificações epigenéticas causam alterações reversíveis e hereditárias que resultam em diferenças na expressão génica, sem modificar a sequência do DNA. Essas alterações são frequentemente consideradas características constitutivas do cancro (49).

Contrariamente à metilação do DNA, a acetilação está geralmente associada à ativação transcripcional, através de mecanismos que resultam no relaxamento da cromatina, ao promover uma deslocalização das cargas positivas associadas às histonas (49). A função das histonas é modulada por múltiplas modificações pós-traducionais, como a acetilação reversível do grupo amino-terminal das lisinas nas histonas. A acetilação das histonas é altamente regulada pelo equilíbrio entre as HAT e as HDAC, também conhecidas como lisinas desacetilases (KDAC) (8).

Sabe-se atualmente que as HDAC desempenham um papel crucial no cancro, ao desacetilarem proteínas histonas e não-histonas, que estão envolvidas na regulação do ciclo celular, apoptose, resposta a danos no DNA, metástases, angiogénese, autofagia, e outros processos celulares (8,63).

Em humanos, estão descritas dezoito HDAC, sendo classificadas em quatro grupos com base nas suas características e mecanismos de ação, como representado na tabela 8. As HDAC 1, 2, 3 e 8 pertencem à classe I e são as enzimas mais abundantes no núcleo. Dentro da classe II, existem dois subgrupos baseados na organização e na sequência: classe IIa e classe IIb. A classe IIa é inativa em substratos acetilados, ao contrário das classes I e IIb. As HDAC 6 e 10 pertencem à classe IIb e possuem um domínio desacetilase adicional. A classe III, ou das sirtuínas (SIRT), é composta por um grupo de proteínas que inclui as SIRT 1-7, com funções e localizações muito variadas. As SIRT 1, 6 e 7 são encontradas predominantemente no núcleo, a SIRT 2 no citoplasma, e as SIRT 3, 4 e 5 na mitocôndria. As sirtuínas são sensíveis a alterações na energia celular, utilizando o cofator NAD⁺ na sua atividade enzimática. Sobrevivência celular durante o stress oxidativo, equilíbrio metabólico, controlo da cromatina e diferenciação celular são algumas das funções das sirtuínas. Apenas a HDAC 11 está incluída na classe IV. A classe II das HDAC é dependente de NAD⁺, enquanto as classes I e IV são dependentes de zinco (Zn²⁺) (7).

Tabela 8. Classificação das HDAC (7,64).

Classe	HDAC	Atividade Enzimática	Localização
I	1 e 2	Interagem com promotores das proteínas vimentina, Slug e gene ZEB1 e sobre-expressam o fator de transição epitelial-mesenquimal (EMT);	Núcleo
		Promovem a via NHEJ de reparação de DNA; A HDAC2, juntamente com HDAC3 e KLF4 reduz a expressão do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), diminuindo a angiogénese.	
	3	Regula negativamente a angiogénese; Envolvida na ubiquitinação da histona acetiltransferase 5 (KAT5); Protege as células de apoptose após dano do DNA.	Núcleo
	8	Envolvida na desacetilação do gene SMC3 que leva à sua substituição durante o ciclo celular.	Núcleo
IIa	4	Sub-expressa os genes HIF-1, MEKK2 e STAT1, resultando na sua acetilação; Induz a proteína p21, permitindo a passagem das células da fase G1 para a fase S do ciclo celular.	Núcleo/ Citoplasma
	5	Interage com o promotor de FGF2 e SLIT2, reduzindo o crescimento endotelial e a angiogénese;	Núcleo/ Citoplasma
		Reprime a transcrição da ciclina D3; É essencial para a acumulação nuclear de HIF-1 em situações de hipoxia; Promove a proliferação de células tumorais.	
	7	Sobre-expressa o fator PDGF- β , diminuindo a angiogénese;	Núcleo/ Citoplasma
		Reprime a atividade da proteína MEF2; Inibe a atividade da proteína STAT3, pela sua desacetilação; Impede a diferenciação dos monócitos em macrófagos.	
9	Desacetila a proteína ATDC, reduzindo a interação ATDC-p53, inibindo a proliferação celular.	Núcleo/ Citoplasma	
IIb	6	A sobre-expressão de HDAC6 promove movimentos celulares quimiotáticos;	Núcleo/ Citoplasma
		Desacetilação da proteína Hsp90, prolongando a ação da mesma no substrato; Promove a autofagia de proteínas não funcionais.	
	10	Promove a angiogénese pela desacetilação da proteína PTPN22 nas células endoteliais; Função de poliamina desacetilase.	Núcleo/ Citoplasma
III	SIRT 1	Funções de ADP-ribosiltransferase, desacetilase, S-glutationilase e O-GlcNAcilação	Núcleo/ Citoplasma/ Mitocôndria
	SIRT 2	Funções de ADP-ribosiltransferase e benzoilase	Núcleo/ Citoplasma/ Mitocôndria
	SIRT 3	Funções de ADP-ribosiltransferase e desacetilase	Núcleo/ Citoplasma/ Mitocôndria

SIRT 4	Funções de ADP-ribosiltransferase, dimetilglutarilase, lipoamidase, de-hidroxi metilglutarilase e de-3-etilglutaconilase	Mitocôndria
SIRT 5	Funções de ADP-ribosiltransferase, desuccinilase e demalonilase	Núcleo/ Citoplasma/ Mitocôndria
SIRT 6	Funções de ADP-ribosiltransferase e desacilase de ácidos gordos	Núcleo/ Citoplasma
SIRT 7	Funções de ADP-ribosiltransferase, desuccinilase e de-glutarilase	Núcleo/ Citoplasma
IV		
11	A sua inibição resulta na expressão diferenciada de genes envolvidos na remodelação do citoesqueleto e na regulação da cromatina, particularmente pelas vias de sinalização WNT e PPAR.	Núcleo/ Citoplasma

2.2 HDAC e o cancro da próstata

Atualmente, sabe-se que a maioria das recorrências do cancro da próstata dependem da via de sinalização do AR, que é ativada pela testosterona ou DHT, resultando em alterações na transcrição de genes responsivos aos androgénios. Existem diversos mecanismos que potenciam a via do AR, incluindo a sua amplificação, mudanças nos co-ativadores/co-repressores e alterações nas moléculas reguladoras comuns a uma ou mais vias de sinalização (6).

Há várias evidências que demonstram que as HDAC são expressas em abundância e sobre-expressas no cancro da próstata. A expressão das HDAC 1 e 2 está diretamente relacionada com o *score de Gleason* e o grau dos tumores, sendo mais prevalentes em tumores de alto grau. Além disso, as HDAC 1, 2 e 3 estão significativamente associadas à expressão de ki-67, o que indica um elevado grau de proliferação celular dos tumores. Foi também demonstrado que a probabilidade de erradicação do cancro é significativamente menor em doentes com níveis elevados de HDAC 2, em comparação com aqueles que apresentam níveis baixos desta enzima, sugerindo que a HDAC 2 pode ser utilizada como fator prognóstico (54).

Adicionalmente, existem evidências de que a sobre-expressão da SIRT1 provoca alterações nas células do cancro da próstata, como a migração celular *in vitro* e metástases *in vivo*, através da cooperação com a proteína ZEB1 para suprimir a transcrição de CDH1 (65). A sobre-expressão de HDAC 4 apresenta, de forma semelhante, um papel significativo na progressão do cancro da próstata (7).

Conclui-se, portanto, que as HDAC desempenham um papel crítico na regulação da via do AR, e os HDACi são uma terapêutica a considerar em pacientes com CPRC (6).

2.3 Inibidores das histonas desacetilases

Os HDACi têm demonstrado potenciais efeitos terapêuticos em diversos tipos de cancro, tanto em estudos pré-clínicos quanto em ensaios clínicos. Estes inibidores reduzem a carga tumoral ao atenuar o crescimento do tumor e regular a angiogénese, como demonstrado na figura 7. Além disso, os HDACi suprimem a atividade das HDAC, promovendo uma maior acetilação de histonas e a sua agregação em autossomas, além de induzirem a expressão génica. Estudos demonstraram que os HDACi exercem um efeito antineoplásico nas células tumorais por meio de diversas vias, incluindo a interrupção do ciclo celular e a indução da apoptose e da autofagia (7).

Alguns dos mecanismos moleculares de ação dos HDACi incluem:

1. Efeitos no AR e na proteína Hsp90. A proteína Hsp90 está associada à estabilidade, ativação e maturação do AR. As moléculas que interagem com a Hsp90 incluem várias proteínas relevantes na progressão do cancro da próstata, como a Her2 e a Akt. Assim, a inibição da função da Hsp90 poderia resultar na degradação de outras proteínas que dependem da sua ação para maturação e estabilidade. Consequentemente, a Hsp90 apresenta-se como um alvo potencial na terapêutica do cancro da próstata (6,64).
2. Efeitos na p53. O supressor tumoral p53 desempenha funções antiproliferativas, incluindo a interrupção do crescimento tumoral, indução da apoptose e senescência celular, em resposta a diversas situações de stress. Sabe-se que a p53 está sujeita a modificações pós-traducionais, como fosforilação e acetilação. Foi demonstrado que as proteínas co-ativadoras HAT p300 e a proteína de ligação ao CREB, ou CBP, aumentam significativamente a ativação transcripcional dependente de p53, sendo que a acetilação de p53 intensifica de forma notável a sua capacidade de ligação ao DNA e a sua atividade transcripcional. Desta forma, os HDACi podem ser utilizados para potenciar os efeitos biológicos da p53 na supressão do crescimento tumoral (6,49).
3. Efeitos na família de proteínas STAT. A família de proteínas STAT atua como fator de auto-sinalização no citoplasma, sendo utilizada pela grande maioria dos recetores de citocinas para induzir a expressão génica no núcleo. As modificações pós-traducionais relacionadas com a função das proteínas STAT em resposta ao tratamento com citocinas e fatores de crescimento, incluem a fosforilação de um único resíduo de tirosina. Foi também demonstrado que as proteínas STAT sofrem acetilação de um aminoácido, a lisina 685, em resposta à estimulação por citocinas. Concluiu-se que estas modificações são essenciais para a formação de dímeros estáveis pelas proteínas STAT e para a ativação da transcrição. Além disso, sabe-se

que os HDACi possuem a capacidade de reverter esta acetilação, inibindo, assim, a ação das proteínas STAT na progressão tumoral (6,27).

4. Efeitos na desfosforilação da Akt. Akt é uma serina/treonina quinase que atua como proteína reguladora da sobrevivência celular e do metabolismo proteico. Sabe-se que os HDACi facilitam a desfosforilação da Akt ao alterar a dinâmica do complexo proteína fosfatase 1 (PP1) com a HDAC, o que promove uma maior interação entre a Akt e PP1, diminuindo a sua ação (6,27).
5. Efeitos dos HDACis no NF-kB. O NF-kB é um fator de transcrição com um papel crucial nas respostas anti-apoptóticas em mamíferos. Este fator possui uma subunidade denominada RelA, cuja fosforilação na região N-terminal pela proteína quinase A facilita a interação do NF-kB com as proteínas co-ativadoras p300 e CBP, que estão envolvidas na regulação da expressão génica. Esta subunidade pode ser desacetilada através de interações com a HDAC3 (6,66).

Aprovados pela FDA, os HDACi podem ser classificados em quatro categorias: (I) ácidos hidroxâmicos ou hidroxamatos, tais como tricostatina A, vorinostat, panobinostat e belinostat; (II) péptidos cíclicos como romidepsin; (III) benzamidas como entinostat (MS-275) e (IV) ácidos gordos de cadeia curta como o ácido valpróico (7).

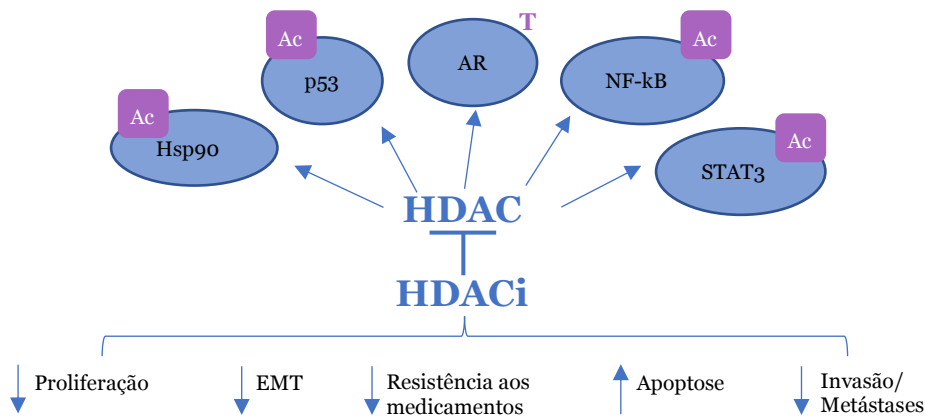


Figura 7. Mecanismos de ação dos HDACi. Ac: Acetilado; T: Testosterona

2.4 HDACi e o cancro da próstata

2.4.1 Desenvolvimento de HDACi como terapêutica para o cancro da próstata

Os HDACi passaram por um desenvolvimento significativo na terapêutica do cancro da próstata, com uma série de estudos que destacam a sua eficácia e potencial clínico. Entre os principais trabalhos realizados, destacam-se:

1. Inibidor de HDAC6-AR. Apesar da enzalutamida e a abiraterona estarem aprovadas para o tratamento do CPRC metastático, 20-40% dos doentes não respondem a estes fármacos, possivelmente devido à presença de variantes de splicing do AR. A utilização de inibidores duais de HDAC6-AR, composto baseado na estrutura da enzalutamida e nos HDACi vorinostat e panobinostat, ambos aprovados pela FDA, poderá permitir tratar os doentes não responsivos à monoterapia com agentes antiandrogénios. Este inibidor apresenta potencial para produzir efeitos sinérgicos que podem ser aproveitados no tratamento do cancro da próstata (67).
2. Composto Bcr-Abl com HDACi. Composto que consiste na combinação de um fragmento do dasatinib com um domínio de ligação ao zinco do HDACi entinostat. Os compostos sintetizados foram primeiramente testados contra o gene Bcr-Abl e a HDAC1. Os compostos mais potentes foram subsequentemente submetidos a ensaios com várias enzimas HDAC, e o seu potencial antiproliferativo foi avaliado em três linhas celulares, incluindo a linha celular do cancro da próstata DU145 (68).
3. Quinazolin-4(3H)-ona. Dada a presença frequente desta estrutura em agentes terapêuticos, o trabalho realizado com este composto descreve a síntese e a atividade biológica de várias séries de novos ácidos hidroxâmicos, que incorporam quinazolin-4(3H)-onas como novas pequenas moléculas direcionadas às HDAC. Este composto foi testado na linha de células cancerígenas da próstata PC-3 (69).
4. Modificação da estrutura da romidepsin. Este HDACi, aprovado clinicamente pela FDA para o tratamento de linfomas, foi modificado para agir especificamente contra as HDAC da classe I, permitindo o desenvolvimento de vários compostos. Um desses compostos destacou-se por apresentar uma atividade significativa contra a linha celular de cancro da próstata PC-3 e, mais relevante ainda, demonstrou 200 vezes mais seletividade em comparação com uma linha celular humana normal (70).

2.4.2 Ensaios clínicos com HDACi no cancro da próstata

Na tabela 9 encontram-se descritos diversos estudos clínicos com HDACi que têm vindo a ser conduzidos com o objetivo de avaliar os benefícios e desafios associados ao seu uso terapêutico.

Tabela 9. Ensaios clínicos com HDACi em monoterapia ou terapia combinada para o cancro da próstata (7).

Medicamento	Combinação	Fase	Tipo de cancro	Ensaio clínico
Romidepsin		II	Cancro da próstata	NCT00106418
Panobinostat	Bicalutamida	II	CPRC metastático	NCT00878436
Panobinostat	Bicalutamida	I, II	Cancro da próstata recorrente, após castração	NCT00878436
Panobinostat		II	CPRC metastático	NCT00667862
Panobinostat		II	Cancro da próstata metastático refratário à terapia hormonal	NCT00667862
Vorinostat		II	Cancro da próstata metastático	NCT00330161
Ácido Valpróico	Bevacizumab	I	CPRC metastático	NCT00530907
Vorinostat	Temsirolimus	I	Cancro da próstata metastático	NCT01174199
Pracinostat (SB939)		II	Cancro da próstata recorrente ou metastático	NCT01075308
Azacitidina	Docetaxel/ Prednisona	I, II	Cancro da próstata metastático	NCT00503984
Vorinostat	Acetato de leuprolida	II	Cancro da próstata localizado	NCT00589472
Entinostat	Enzalutamida	I	CPRC	NCT03829930
JBI 802 (inibidor de HDAC6)		II	Cancro da próstata neuro-endócrino	NCT05268666
Belinostat	Talazoparib	I	CPRC metastático	NCT04703920

Romidepsin

Romidepsin, um tetrapéptido cíclico que atua especificamente sobre as HDAC 1, 2 e 4, induz a hiperacetilação de Hsp90, o que conduz à disrupção das interações com outras proteínas, inibindo a sua síntese e função (64).

No ensaio clínico NCT00106418, com 35 participantes, 31% apresentaram toxicidade ao fármaco, enquanto 6% dos pacientes registaram uma diminuição dos níveis de PSA superior a 50%.

De forma similar ao vorinostat, a terapêutica com romidepsin apresentou elevada toxicidade, o que levou a uma grande taxa de abandono do tratamento por parte dos pacientes. Dada a resposta terapêutica insatisfatória deste HDACi, os ensaios clínicos envolvendo ambos os inibidores, em regime de monoterapia, não avançaram para a fase III em pacientes com CPRC (66).

Panobinostat

O panobinostat, pertencente à categoria I de HDACi, atua especificamente sobre as HDAC da classe I, mas também nas HDAC 4, 6, 7 e 9, e demonstrou resultados promissores com a linha celular LNCaP (células de adenocarcinoma de próstata sensíveis a androgénios) (65). Com pequenas quantidades desse inibidor, foi possível obter uma degradação significativa do AR, bem como inibir o crescimento celular por meio da hiperacetilação e consequente inibição da função da proteína Hsp90 (6).

No ensaio clínico NCT00878436, a combinação de bicalutamida com 40 mg de panobinostat apresentou resultados positivos significativos na proporção de pacientes com CPRC que alcançaram a sobrevivência livre de progressão radiográfica. Esse efeito não foi observado com a dose de 20 mg de panobinostat. O estudo suscitou maior interesse na utilização deste HDACi em combinação com antiandrogénios para prevenir ou atrasar a resistência, permitindo a re-sensibilização dos tumores à inibição do AR. Nos restantes estudos, não foram publicados resultados objetivos concretos.

Apesar das descobertas promissoras nos estudos pré-clínicos, os estudos clínicos com panobinostat, em monoterapia, não demonstraram grande eficácia (7).

Vorinostat

O vorinostat, também conhecido como SAHA, é uma pequena molécula inibidora das classes I, II e IV de HDAC, que exerce um efeito radiosensibilizante em vários tipos de cancro (64). Especificamente, demonstra radiosensibilidade em três linhas celulares de cancro da próstata, tanto em condições de normoxia quanto de hipoxia, resultando na diminuição da formação e crescimento das células PC-3, DU-145 e LNCaP. Este efeito, portanto, permite reduzir a fração de células malignas sobreviventes e aumenta significativamente a proporção de células que permanecem na fase G2/M do ciclo celular. Além disso, regula a expressão dos genes HIF-1 α e TP53, e promove a desfosforilação da Akt, pela quebra da ligação entre a HDAC e a PP1 o que resulta num aumento da associação Akt-PP1 (7,49).

Nos ensaios clínicos que envolveram o vorinostat, foram reportados diversos efeitos adversos, destacando-se a toxicidade associada ao medicamento. No estudo NCT00330161, que incluiu 27 participantes, apenas 7% dos pacientes alcançaram estabilização da doença. Nos restantes estudos, não foram publicados resultados objetivos concretos.

Ácido Valpróico

O ácido valpróico, um medicamento anticonvulsivante amplamente utilizado, pertence igualmente à categoria dos ácidos gordos de cadeia curta (IV) dos HDACi. Este inibidor desempenha um papel na radiosensibilização de vários tipos de cancro em pacientes submetidos a tratamento com radioterapia fracionada. Em doses reduzidas, o ácido valpróico sensibiliza as células cancerígenas da próstata através da acetilação da proteína p53 e do aumento da indução de apoptose (49).

No ensaio clínico NCT00530907, a combinação de 11 mg/kg de bevacizumab e 5,3 mg/kg de ácido valpróico demonstrou ser segura em pacientes com tumores avançados, incluindo cancro colorretal, da junção gastroesofágica e da próstata. Observou-se, também, que pacientes com hipertensão arterial apresentaram uma melhoria na sobrevivência global.

Pracinostat

O pracinostat, um derivado de ácido hidroxâmico, demonstrou uma atividade promissora tanto *in vitro* como *in vivo* em diversos tipos de cancro, incluindo colorretal, ovário e próstata. Este HDACi revela um perfil farmacocinético consistente em modelos animais e na extrapolação calculada para humanos (7).

Adicionalmente, o pracinostat foi objeto de avaliação na fase II de ensaios clínicos, onde demonstrou resultados positivos em aproximadamente 30% dos pacientes. Especificamente, 6,3% dos participantes apresentaram uma redução superior a 50% nos níveis de PSA, enquanto 22% alcançaram a estabilização da doença após um período de tratamento que variou entre 1,6 e 8 meses (71).

Entinostat

O entinostat, também conhecido como SNDX-275 ou MS-275, enquadra-se nas categorias I e IV dos HDACi. Tanto *in vitro* como *in vivo*, este inibidor demonstra a capacidade de reduzir a progressão do cancro da próstata, além de suprimir a atividade das células T-reguladoras (T-reg). Na fase I do estudo clínico realizado, a combinação de entinostat com enzalutamida revelou um perfil de elevada segurança clínica (72). A enzalutamida tem a capacidade de diminuir a produção de androgénios pelo organismo, o que é particularmente relevante, uma vez que as células cancerígenas da próstata podem proliferar em resposta aos androgénios. Portanto, a combinação com a enzalutamida pode representar uma vantagem significativa.

A decitabina, um inibidor da síntese de ácidos nucleicos, atua inibindo as enzimas necessárias à proliferação celular, contribuindo assim para a inibição do crescimento tumoral. Deste modo, a combinação de entinostat com enzalutamida e decitabina no contexto do CPRC, poderá revelar-se uma abordagem terapêutica promissora (7).

2.4.3 Combinações promissoras de HDACi e outros medicamentos anticancerígenos

O conhecimento aprofundado sobre os mecanismos de ação dos HDACi no cancro da próstata pode ser utilizado para o desenvolvimento de terapias combinadas com outros medicamentos específicos da próstata, com o objetivo de obter uma resposta anticancerígena mais eficaz, como representado na tabela 10.

A inibição da metilação de DNA foi correlacionada com a ação do HDACi butirato de sódio em combinação com a ação do inibidor da metiltransferase 5-aza-2'-deoxicitidina. Esta associação promoveu de forma significativa a acetilação da histona 4 (H4) e a indução da re-expressão do gene do AR na linha celular DU145, cujo crescimento é independente de androgénios. Adicionalmente, resultou na paragem do ciclo celular em G2/M e na redução de toxicidade para as células não malignas (73).

O HDACi panobinostat foi combinado com a hidralazina, um inibidor de metilação de DNA, em diversas linhas celulares de cancro da próstata. Esta combinação demonstrou ser particularmente eficaz nas células DU145, onde foi observado um aumento da apoptose, redução na formação de colónias de células, bem como diminuição da invasão e migração celular (74).

A enzima PARP, ou poli (ADP-ribose) polimerase, está envolvida no processo de reparação do DNA. O inibidor da PARP, olaparib, demonstrou resultados promissores em pacientes com CPRC que apresentavam mutação no gene BRCA, o que levou à sua aprovação como terapia neste grupo específico de pacientes. A combinação do HDACi vorinostat com olaparib atuou sinergicamente na redução da viabilidade das células cancerígenas da próstata, induzindo a apoptose nas linhas celulares DU145 e PC-3, e a supressão dos genes BRCA1 e RAD51 nas células DU145, diminuindo a reparação do DNA (75). A combinação de vorinostat com outro inibidor da PARP, o veliparib, demonstrou efeitos muito semelhantes (76).

O vorinostat também foi estudado em combinação com o docetaxel, demonstrando uma redução da expressão dos genes de AR e Bcl-2 (77).

O aumento da via de sinalização dos recetores tirosinas quinases foi observado em casos de cancros da próstata avançados, o que despertou interesse no desenvolvimento de combinações terapêuticas envolvendo esta via. O inibidor da quinase MEK, o selumetinib,

foi estudado em combinação com o inibidor da HDAC6, o ricolinostat, em várias linhas celulares do cancro da próstata (PC-3, Du145 e 22Rv1). Esta combinação revelou efeitos sinérgicos nas três linhas celulares cancerígenas, com sensibilidade particularmente elevada na inibição do crescimento das células 22Rv1. A adição de paclitaxel a essa combinação resultou em maior inibição do crescimento celular e num aumento na indução de apoptose (78,79).

Vários inibidores de mTOR, como rapamicina, everolimus e temsirolimus, foram desenvolvidos e aprovados pela FDA. As suas ações anticancerígenas incluem a inibição do crescimento, migração e invasão de células cancerígenas da próstata. Estes efeitos foram potenciados pela combinação com um HDACi, como o ácido valpróico e o panobinostat (66).

Tabela 10. HDACi em combinação com outros medicamentos no tratamento de CPRC (66)

HDACi	Medicamento combinado	Resultado	Ref
Butirato de sódio	5-aza-2´ deoxicidina	Aumento da acetilação de H4, indução da re-expressão do gene AR, paragem do ciclo celular em G2/M, redução da toxicidade para células não malignas	(72)
Panobinostat	Hidralazina	Indução da apoptose, redução da formação, invasão e migração de colónias de células	(73)
Vorinostat	Olaparib	Redução da viabilidade das células, indução da apoptose, supressão da reparação de DNA e dos genes BRCA1 e RAD51	(74)
Vorinostat	Veliparib	Redução da viabilidade das células (DU145 com mutação BRCA1), indução da apoptose, produção de dano no DNA, degradação do gene BRCA1 e supressão da ubiquitina UHRF1	(75)
Vorinostat	Docetaxel	Aumento da acetilação e agregação das tubulinas, supressão da expressão de AR e Bcl-2, supressão de translocação nuclear de AR e da sua sinalização	(76)
Tricostatina A	Bicalutamida	Indução da apoptose	(77)
Panobinostat	Dovitinib	Sem efeitos adicionais	(78)
Ricolinostat	Selumetinib	Inibição do crescimento celular, indução da apoptose, supressão das proteínas KLK2 e DUSP1 e aumento da acumulação citoplasmática de AR	(79)
Ácido Valpróico	Everolimus	Inibição do crescimento celular, supressão do fator de crescimento epidérmico (EGF), das quinases ERK1 e ERK2 e aumento da acetilação da H3.	(80-82)
Panobinostat	Everolimus	Inibição do crescimento das células Myc-CaP, supressão da sobrevivência de clones, paragem do ciclo celular em Go/G1, aumento da expressão de p21 e p27, supressão do crescimento tumoral <i>in vivo</i> , entre outras alterações.	(83)
Romidepsin, Entinostat	Adenovírus TRAIL – terapia génica	Restituição da expressão superficial do recetor do adenovírus cocksakie, aumento da atividade da caspase mediada por TRAIL	(84)

2.5 Desafios na aplicação de HDACi como terapêutica do cancro da próstata e outros tumores sólidos

Apesar dos efeitos demonstrados em tumores hematológicos, a monoterapia com HDACi não tem alcançado resultados significativos no tratamento de tumores sólidos. Estudos suportam a eficácia do vorinostat, romidepsin, belinostat, panobinostat e entinostat na fase I de ensaios clínicos. Contudo, ao serem avaliados como monoterapia na fase II desses ensaios, um número significativo de pacientes tornou-se resistente à castração ou apresentou apenas uma resposta parcial. Além disso, a elevada frequência e diversidade de efeitos adversos, representados na tabela 11, impediram a continuidade do tratamento (74).

Tabela 11. Efeitos adversos de ensaios clínicos com HDACi em tumores sólidos (74)

Fase do ensaio clínico		Efeitos adversos
Vorinostat	II	Trombocitopenia, anemia, astenia, náuseas, fadiga, desidratação, ataxia, pneumonia, hematomas e trombose venosa profunda
Romidepsin	II	Fibrilhação auricular e taquicardia, anemia, neutropenia, trombocitopenia e hipoxia
Belinostat	I+II	Leucopenia, neutropenia, trombocitopenia e anemia
Panobinostat	I+II	Hiperglicemia, trombocitopenia, náuseas, vômitos, diarreia, anorexia e hipertensão
Entinostat	II	Hiponatremia, neutropenia, anemia, hipofosfatemia e hipoalbuminemia

No entanto, há evidências de que o tratamento combinado de HDACi com agentes quimioterapêuticos produz resultados promissores. Até ao momento, a razão para a maior eficácia dos HDACi em tumores hematológicos, em comparação com tumores sólidos, permanece desconhecida. Uma possível explicação pode estar relacionada com a limitada farmacocinética desses inibidores, o que impede o alcance de concentrações terapêuticas adequadas. Outra hipótese é a curta meia-vida dos HDACi. Adicionalmente, os inibidores apresentam baixa permeabilidade, o que pode dificultar a sua acumulação nos tumores sólidos (74). Mais especificamente, o vorinostat apresenta baixa solubilidade, permeabilidade reduzida, baixa biodisponibilidade e uma meia-vida de 12 minutos. De modo semelhante, o panobinostat demonstra uma biodisponibilidade variável, dependendo do modelo animal utilizado nos estudos pré-clínicos, embora geralmente inferior a 50%. A romidepsin, devido à sua baixa solubilidade, não chegou a ser testada em modelos animais. Em contraste, o pracinostat exibe elevada solubilidade, boa biodisponibilidade e uma meia-

vida consideravelmente superior. É importante destacar que, enquanto alguns pacientes apresentam progressão da doença apesar da terapêutica, outros evidenciam estabilização do quadro clínico, com uma redução dos níveis de PSA superior a 50% (64).

Dessa forma, o futuro dos HDACi dependerá de dois avanços significativos nesta área. Em primeiro lugar, será fundamental aprimorar as suas propriedades farmacocinéticas, bem como a sua potência e seletividade. Em segundo lugar, devido ao seu perfil de toxicidade celular, será essencial aprofundar a compreensão da biologia dos HDACi no contexto do cancro, além dos biomarcadores associados aos efeitos terapêuticos, o que permitirá a seleção de pacientes mais adequados para esta terapêutica (74).

Recentemente, com o avanço no conhecimento acerca do cancro da próstata, áreas de interesse emergiram, como a centralidade do AR, os efeitos das diferentes classes de HDAC sob a ação de inibidores inespecíficos e a evolução dos mecanismos de resistência após terapêuticas com HDACi. Estes avanços promoveram a exploração de novas teorias associadas aos desafios relacionados ao uso desta terapêutica (64).

- A. Cancro da próstata negativo para o AR. Diversos estudos pré-clínicos avaliaram a proporção de AR em pacientes com cancro da próstata, revelando uma variação considerável entre os mesmos, apesar de se reconhecer amplamente que o AR desempenha um papel crucial na progressão deste tipo de cancro. Além disso, não foi observada qualquer correlação significativa entre os níveis de AR e os de PSA. Assim, torna-se necessária uma investigação mais aprofundada para esclarecer a relação entre a proporção deste recetor e o desenvolvimento do cancro da próstata (64).
- B. Outros alvos celulares das HDAC. Embora os HDACi induzam a apoptose e a interrupção do ciclo celular em diversos tipos de tumores, também desempenham um papel na regulação do EMT, e conferem efeitos protetores às células cancerígenas pela indução da proteína p21. Os inibidores vorinostat, romidepsin, panobinostat e pracinostat, atualmente envolvidos em ensaios clínicos, são inespecíficos e inibem várias HDAC. Deste modo, é crucial considerar que os HDACi podem, paradoxalmente, facilitar o crescimento tumoral em vez de inibir a sua progressão (64).
- C. Mecanismos de resistência. Esta teoria foi testada exclusivamente em estudos pré-clínicos, envolvendo mecanismos com p-glicoproteínas, sobre-expressão de HDAC, sub-expressão de HAT e a indução da proteína p21.
 - i. P-glicoproteínas. Embora seja conhecido que estas moléculas estão ativas no cancro de próstata, a sobre-expressão das mesmas inviabiliza o uso de HDACi em

combinação com outros agentes quimioterapêuticos. Isto ocorre não apenas porque promove a eliminação desses agentes, mas também porque alguns HDACi são substratos dessas proteínas (64).

- ii. Sobre-expressão de HDAC. Estudos demonstraram que células com expressão aumentada de determinadas HDAC exibem um tempo de duplicação celular consideravelmente maior em comparação com células que apresentam menor expressão de outras HDAC, as quais mostram uma maior proporção de células na fase S do ciclo celular. Assim, as células com menor expressão de HDAC são mais sensíveis ao tratamento com HDACi uma vez que a replicação ativa pode aumentar a vulnerabilidade aos seus efeitos (64).
- iii. Sub-expressão de HAT. A sub-expressão das HAT é compensada pelo aumento da atividade das HDAC na mesma região, mecanismo de resistência referido anteriormente.
- iv. Indução da proteína p21. Diversos estudos demonstraram que, após o tratamento com HDACi, os níveis de p21 estão aumentados numa ampla variedade de cancros. Este mecanismo pode ter implicações na resistência, dado que esta proteína desempenha um papel crucial na interrupção do ciclo celular e na prevenção da progressão do cancro. A proteína p21 também pode ser associada a menores taxas de sobrevivência, aumento da recorrência e *scores de Gleason* mais elevados, sendo necessária uma investigação mais aprofundada nesta área. Contudo, os estudos ainda apresentam resultados contraditórios, os quais podem ser atribuídos aos efeitos parácrinos da proteína p21 nas células vizinhas, que favorecem o crescimento celular (64).

Conclusões e Perspetivas futuras

As alterações epigenéticas são amplamente encontradas em pacientes com cancro da próstata, desempenhando um papel crucial na carcinogénese e na progressão da doença. Estudos realizados nas últimas décadas demonstraram que as HDAC possuem uma função crítica no desenvolvimento do cancro, ao modularem de forma reversível o estado de acetilação de proteínas histonas e não-histonas. Assim, as HDAC encontram-se desreguladas ou funcionalmente alteradas nos cancros, constituindo um alvo terapêutico crucial. Embora as terapias dirigidas contra as HDAC induzam a interrupção do ciclo celular e a apoptose em certas células tumorais, um pequeno grupo destas enzimas pode também atuar como supressor tumoral em determinadas circunstâncias, demonstrando a sua dualidade funcional. Mais investigação é necessária para sistematizar o papel das HDAC em diferentes tipos de tumores, bem como nas distintas fases da tumorigénese (5,49).

Os HDACi têm revelado potenciais efeitos terapêuticos em vários tipos de neoplasias, tanto em estudos pré-clínicos como em ensaios clínicos. Estes agentes reduzem a carga tumoral, atenuando o crescimento dos tumores e regulando a angiogénese (7). No entanto, apesar dos efeitos positivos observados em tumores hematológicos, a monoterapia com estes inibidores tem demonstrado resultados limitados no tratamento de tumores sólidos, devido ao desenvolvimento de mecanismos de resistência, respostas parciais e à elevada frequência e diversidade de efeitos adversos que comprometem a continuidade dos tratamentos (85).

Apesar disso, existem evidências que indicam que o tratamento combinado de HDACi com agentes quimioterapêuticos apresenta resultados promissores (85). O conhecimento aprofundado dos seus mecanismos de ação no carcinoma da próstata poderá ser utilizado no desenvolvimento de terapias combinadas com outros fármacos específicos para este tipo de cancro, visando obter uma resposta anticancerígena mais eficaz (71).

O futuro dos HDACi como terapêutica oncológica, dependerá de dois avanços cruciais na área. O primeiro consiste em melhorar significativamente as propriedades farmacocinéticas *in vivo* destes inibidores, bem como aprimorar a sua potência e seletividade. O segundo avanço reside na compreensão mais aprofundada da complexa biologia do cancro, e na identificação de biomarcadores associados aos efeitos terapêuticos, dado que os HDACi apresentam perfis únicos e correlacionados de toxicidade celular. Esta abordagem permitirá identificar com maior precisão a população de doentes mais adequada para a terapia com estes inibidores.

Assim, este será um ponto de inflexão decisivo para as terapêuticas baseadas em HDAC e, muito provavelmente, contribuirá para melhorar significativamente os resultados dos futuros ensaios clínicos com estes inibidores (85).

Referências bibliográficas

- (1) Lee CH, Akin-Olugbade O, Kirschenbaum A. Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2011 Sep;40(3):565-75.
- (2) Barbieri CE, Bangma CH, Bjartell A, Catto JW, Culig Z, Gronberg H, et al. The Mutational Landscape of Prostate Cancer. *Eur. Urol*. 2013 Oct;64(4):567-76.
- (3) Sekhoacha M, Riet K, Motlounq P, Gumenku L, Adegoke A, Mashele S. Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches. *Molecules*. 2022 Sep 5;27(17):5730.
- (4) Wang G, Zhao D, Spring DJ, DePinho RA. Genetics and biology of prostate cancer. *Genes & Development*. 2018 Sep 1;32(17-18):1105-40.
- (5) Li Y, Seto E. HDACs and HDAC Inhibitors in Cancer Development and Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016 Oct 3;6(10):a026831.
- (6) Kaushik D, Vashistha V, Isharwal S, Sedique SA, Lin M-F. Histone deacetylase inhibitors in castration-resistance prostate cancer: molecular mechanism of action and recent clinical trials. *Therapeutic Advances in Urology*. 2015 Dec;7(6):388-95.
- (7) Pramanik SD, Halder AK, Mukherjee U, Kumar D, Dey YN, Mogana R. Potential of histone deacetylase inhibitors in the control and regulation of prostate, breast and ovarian cancer. *Front Chem*. 2022 Aug 12;10.
- (8) Schatten, H. Brief Overview of Prostate Cancer Statistics, Grading, Diagnosis and Treatment Strategies. In: Schatten, H. *Clinical Molecular and Diagnostic Imaging of Prostate Cancer and Treatment Strategies*. Missouri: Springer International Publishing AG, part of Springer Nature; 2018. P. 1-14.
- (9) IARC, WHO. Globocan 2022. The Global Cancer Observatory; Fevereiro 2024 [citado a outubro 2024]. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/cancers/27-prostate-fact-sheet.pdf>
- (10) Taitt H. Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. *Am J Mens Health*. 2018 Nov;12(6):1807-23.
- (11) IARC, WHO. Globocan 2022: Portugal. [Internet]. The Global Cancer Observatory; Fevereiro 2024 [citado a fevereiro 2024]. Disponível em:

<https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/620-portugal-fact-sheet.pdf>

- (12) Moran A, O'Hara C, Khan S, Shack L, Woodward E, Maher ER, et al. Risk of cancer other than breast and ovarian in individuals with BRCA1 and BRCA2 mutations. *Fam Cancer*. 2012 Jun;11(2):235-42.
- (13) Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*. 2022 Jan;72(1):7-33.
- (14) Bergengren O, Pekala KR, Matsoukas K, Fainberg J, Mungivan SF, Bratt O, et al. 2022 Update on Prostate Cancer Epidemiology and Risk Factors-A Systematic Review. *European Urology*. 2023 Aug;84(2):191-206.
- (15) Parra-Soto S, Ahumada D, Petterman-Rocha F, Boonpoor J, Gallegos JL, Anderson J, et al. Association of meat, vegetarian, pescatarian and fish-poultry diets with risk of 19 cancer sites and all cancer: findings from the UK Biobank prospective cohort study and meta-analysis. *BMC Med*. 2022 Feb 24;20(1):79.
- (16) Shivappa N, Steck SE, Hurley TG, Hussey JR, Hebert JR. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr*. 2014 Aug;17(8):1689-96.
- (17) Togawa K, Leon ME, Lebailly P, Freeman LE, Nordby K-C, Baldi I, et al. Cancer incidence in agriculture workers: findings from an international consortium of agriculture cohort studies (AGRICOH). *Environ Int*. 2021 Dec;157:106825.
- (18) Onyije FM, Hosseini B, Togawa K, Schuz J, Olsson A. Cancer incidence and mortality among petroleum industry workers and residents living in oil producing communities: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Apr 20;18(8):4343.
- (19) Russo GI, Calogero AE, Condorelli RA, Scalia G, Morgia G, La Vignera S. Human papillomavirus and risk of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *The Aging Male*. 2020 Apr 2;23(2):132-8.
- (20) Chopra S, Foltz WD, Milosevic MF, Toi A, Bristow RG, Ménard C, et al. Comparing oxygen-sensitive MRI (BOLD R2*) with oxygen electrode measurements. A pilot study in men with prostate cancer. *Int J Radiat Biol*. 2009 Sep;85(9):805-13.
- (21) Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR, Czene K, Havelick DJ, Scheike T, et al. Familial risk and heritability of cancer among twins in Nordic Countries. *JAMA*. 2016 Jan 5;315(1):68-76.
- (22) Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer-analyses of

- cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med.* 2000 Jul 13;343(2):78-85.
- (23) Nyberg T, Tischkowitz M, Antoniou AC. BRCA1 and BRCA2 pathogenic variants and prostate cancer risk: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2022 Apr;126(7):1067-81.
- (24) Nicolosi P, Ledet E, Yang S, Michalski S, Freschi B, O'Leary E, et al. Prevalence of Germline Variants in Prostate and Implications of Current Genetic Testing Guidelines. *JAMA Oncol.* 2019 Apr 1;5(4):523-8.
- (25) Nyberg T, Govindasami K, Leslie G, Dadaev T, Bancroft E, Raghallaigh HN, et al. Homeobox B13 G84E Mutation and Prostate Cancer Risk. *European Urology.* 2019 May;75(5):834-45.
- (26) Jelic MD, Mandic AD, Maricic SM, Srdjenovic BU. Oxidative stress and its role in cancer. *Journal of Cancer Research and therapeutics.* 2021 Jan-Mar;17(1):22-8.
- (27) Heinlein CA, Chang C. Androgen receptor in prostate cancer. *Endocrine Reviews.* 2004 Apr;25(2):276-308.
- (28) Kipriyanov EA, Karnaukh PA, Vazhenin IA, Vazhenin AV. Radical prostatectomy and robotic radiosurgery as treatment options for localized prostate cancer. *Sib J Oncol.* 2020 Mar;19:50-6.
- (29) Desai K, McManus JM, Sharifi N. Hormonal Therapy of Prostate Cancer. *Endocrine Reviews.* 2021 May 25;42(3):354-73.
- (30) Marzo AM, Nelson WG, Meeker AK, Coffey DS. Stem cell features of benign and malignant prostate epithelial cells. *J Urol.* 1998 Dec;160(6 pt 2):2381-92.
- (31) Grasso CS, Wu YM, Robinson DR, Cao X, Dhanasekaran SM, Khan AP, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. *Nature.* 2012 Jul 1;487(7406):239-43.
- (32) Klocker H, Culig Z, Hobisch A, Hittmair A, Bartsch G, Peterziel H, et al. Androgen receptor mutations in prostate cancer. In: *Molecular Biology of Prostate Cancer.* Berlin; 2013. P. 81-8.
- (33) Kumar A, Coleman I, Morrissey C, Zhang X, True LD, Gulati R, et al. Substantial interindividual and limited intraindividual genomic diversity among tumors from men with metastatic prostate cancer. *Nat Med.* 2016 Apr 1;22(4):369-78.
- (34) Aurilio G, Cimadamore A, Mazzucchelli R, Lopez-Beltran A, Verri E, Scarpelli M, et al. Androgen Receptor Signaling Pathway in Prostate Cancer: From Genetics to Clinical Applications. *Cells.* 2020 Dec 10;9(12):2653.

- (35) Gao T, Marcelli M, McPhaul MJ. Transcriptional activation and transient expression of the human androgen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1996 Sep;59(1):9-20.
- (36) Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucl Acids Res.* 1994 Aug 11;22(15):3181-6.
- (37) Kazemi-Esfarjani P, Trifiro MA, Pinsky L. Evidence for a repressive function of the long polyglutamine tract in the human androgen receptor: possible pathogenetic relevance for the (CAG)_n-expanded neuronopathies. *Hum Mol Genet.* 1995 Apr;4(4):523-7.
- (38) Zitzmann M, Depenbusch M, Gromoll J, Nieschlag E. Prostate volume and growth in testosterone-substituted hypogonadal men are dependent in the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene: a longitudinal pharmacogenetic study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 May;88(5):2049-54.
- (39) Bubendorf L, Kononen J, Koivisto P, Schram P, Moch H, Gasser TC, et al. Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by high throughput fluorescence in situ hybridization on tissue microarrays. *Cancer Res.* 1999 Feb 15;59(4):803-6.
- (40) Miyoshi Y, Uemura H, Fujinami K, Mikata K, Harada M, Kitamura H, et al. Fluorescence in situ hybridization evaluation of c-myc and androgen receptor gene amplification and chromosomal anomalies in prostate cancer in Japanese patients. *Prostate.* 2000 May 15;43(3):225-32.
- (41) Visakorpi T, Hyytinen E, Koivisto P, Tanner M, Keinanen R, Palmberg C, et al. In vivo amplification of the androgen receptor gene and progression of human prostate cancer. *Nat Genet.* 1995 Apr;9(4):401-6.
- (42) Linja MJ, Savinainen KJ, Saramaki OR, Tammela TL, Vessella RL, Visakorpi T. Amplification and overexpression of androgen receptor gene in hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Res.* 2001 May 1;61(9):3550-5.
- (43) Koivisto PA, Helin HJ. Androgen receptor gene amplification increases tissue PSA expression in hormone refractory prostate carcinoma. *J Pathol.* 1999 Oct;189(2):219-23.
- (44) Shin S, Verma IM. BRCA2 cooperates with histone acetyltransferases in androgen receptor-mediated transcription. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003 Jun 10;100(12):7201-6.
- (45) Yeh S, Lin HK, Kang HY, Thin TH, Lin MF, Chang C. From HER2/Neu signal cascade to androgen receptor and its coactivators: a novel pathway by induction

- of androgen target genes through MAP kinase in prostate cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999 May 11;96(10):5458-63.
- (46) Stanzione R, Picascia A, Chieffi P, Imbimbo C, Palmieri A, Mirone V, et al. Variations of proline-rich kinase Pyk2 expression correlate with prostate cancer progression. *Lab Invest*. 2001 Jan;81(1):51-9.
- (47) Djavan B, Waldert M, Seitz C, Marberger M. Insulin-like growth factors and prostate cancer. *World J Urol*. 2001 Aug;19(4):225-33.
- (48) Pollack M. Insulin-like growth factors and prostate cancer. *Epilemiol Rev*. 2001 Jan 1;23(1):59-66.
- (49) Macedo-Silva C, Benedetti R, Ciardiello F, Cappabianca S, Jerónimo C, Altucci L. Epigenetic mechanisms underlying prostate cancer radioresistance. *Clinical Epigenetics*. 2021 Jun 8;13(1):125.
- (50) Valente MJ, Henrique R, Costa VL, Jerónimo C, Carvalho F, Bastos ML, et al. A rapid and simple procedure for the establishment of human normal and cancer renal primary cell cultures from surgical specimens. *PLoS One*. 2011 May 4;6(5):e19337.
- (51) Wang Y, Jadhav RR, Liu J, Wilson D, Chen Y, Thompson IM, et al. Roles of distal and genic methylation in the development of prostate tumorigenesis revealed by genome-wide DNA methylation analysis. *Sci Rep*. 2016 Feb 29;6(1):22051.
- (52) Fiano V, Zugna D, Grasso C, Trevisan M, Delsedime L, Molinaro L, et al. LINE-1 methylation status in prostate cancer and non-neoplastic tissue adjacent to tumor in association with mortality. *Epigenetics*. 2017 Nov 28;12(1):11-8.
- (53) Gravina GL, Ranieri G, Muzi P, Marampon F, Mancini A, Pasquale BD, et al. Increased levels of DNA methyltransferases are associated with the tumorigenic capacity of prostate cancer cells. *Oncol Rep*. 2013 Mar;29(3):1189-95.
- (54) Weichert W, Roske A, Gekeler V, Beckers T, Stephan C, Jung K, et al. Histone deacetylases 1, 2 and 3 are highly expressed in prostate cancer and HDAC2 expression is associated with shorter PSA relapse time after radical prostatectomy. *Br J Cancer*. 2008 Feb 12;98(3):604-10.
- (55) Direção-Geral da Saúde. Norma Clínica: Prescrição e Determinação do Antígeno Específico da Próstata - PSA. Julho 2011 [citado a março 2024]. Disponível em: <https://normas.dgs.min-saude.pt/2011/12/29/prescricao-e-determinacao-do-antigenio-especifico-da-prostata-psa/>
- (56) Altwaijry N, Somani S, Parkinson JA, Tate RJ, Keating P, Warzecha M, et al. Regression of prostate tumors after intravenous administration of lactoferrin-bearing polypropylenimine dendriplexes encoding TNF- α , TRAIL, and interleukin-12. *Drug Deliv*. 2018 Nov;25(1):679-89.

- (57) Mottet N, van den Bergh RCN, Briers E, Van den Broeck T, Cumberbatch MG, De Santis M, 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 Feb;79(2):243–62.
- (58) Miranda M, Curvo R. *Manual de Urologia.* 3^a ed. Lisboa. APNA; 2021.
- (59) Mohan R, Schelhammer PF. Treatment options for localized prostate cancer. *Am. Fam. Physician.* 2011 Aug 15;84(4):413-20.
- (60) DynaMed. Management of Castration – Resistant Prostate Cancer. EBSCO Information Services. Acedido a 12 de janeiro de 2025. Disponível em: <https://www.dynamed.com/management/management-of-castration-resistant-prostate-cancer-1>
- (61) Molina A, Belldegrún A. Novel Therapeutic Strategies for Castration Resistant Prostate Cancer: Inhibition of Persistent Androgen Production and Androgen Receptor Mediated Signaling. *J Urol.* 2011 Mar;185(3):787-94.
- (62) Saad F, Aprikian A, Finelli A, Fleshner NE, Gleave M, Kapoor A, et al. 2022 Canadian Urological Association (CUA)-Canadian Uro Oncology Group (CUOG) guideline: Management of castration-resistant prostate cancer (CRPC). *Can Urol Assoc J.* 2022 Nov;16(11):E506-15.
- (63) Choudhary C, Kumar C, Gnad F, Nielsen ML, Rehman M, Walther TC, et al. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science.* 2009 Aug 14;325(5942):834–40.
- (64) Rana Z, Diermeier S, Hanif M, Rosengren RJ. Understanding Failure and Improving Treatment Using HDAC Inhibitors for Prostate Cancer. *Biomedicines.* 2020 Jan 30;8(2):22.
- (65) Byles V, Zhu L, Lovaas JD, Chmielewski LK, Wang J, Faller DV, et al. SIRT1 induces EMT by cooperating with EMT transcription factors and enhances prostate cancer cell migration and metastasis. *Oncogene.* 2012 Oct 25;31(43):4619–29.
- (66) Biersack B, Nitzsche B, Hopfner M. HDAC inhibitors with potential to overcome drug resistance in castration-resistant. *Cancer Drug Resist.* 2022 Jan 4;5(1):64-79.
- (67) Jadhavar PS, Ramachandran SA, Riquelme E, Gupta A., Quinn KP, Shivakumar D, et al. Targeting prostate cancer with compounds possessing dual activity as androgen receptor antagonists and HDAC6 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 2016 Nov 1;26(21):5222-8.
- (68) Chen X, Zhao S, Wu Y, Chen Y, Lu T, Zhu Y. Design, synthesis and biological evaluation of 2-amino-N-(2-aminophenyl)thiazole-5-carboxamide derivatives

- as novel Bcr-Abl and histone deacetylase dual inhibitors. *RSC Advances*. 2016 Oct 25;6(105):103178–84.
- (69) Hieu DT, Anh DT, Tuan NM, Hai P-T, Huong L-T-T, Kim J, et al. Design, synthesis and evaluation of novel N -hydroxybenzamides/N -hydroxypropenamides incorporating quinazolin-4(3 H)-ones as histone deacetylase inhibitors and antitumor agents. *Bioorg Chem*. 2018 Feb;76:258–67.
- (70) Zhang K, Yao Y, Tu Z, Liao C, Wang Z, Qiu Y, et al. Discovery of class I histone deacetylase inhibitors based on romidpesin with promising selectivity for cancer cells. *Future Med Chem*. 2020 Feb;12(4):311–23.
- (71) Eigl BJ, North S, Winqvist E, Finch D, Wood L, Sridhar SS, et al. A phase II study of the HDAC inhibitor SB939 in patients with castration resistant prostate cancer: NCIC clinical trials group study IND195. *Invest. New Drugs*. 2015 Aug;33(4):969–76.
- (72) Lin J, Elkouf J, Ricart B, Palmer E, Zevallos-Delgado C, Noonepalle S, et al. Phase I study of entinostat in combination with enzalutamide for treatment of patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Oncologist*. 2021 Dec;26(12):e2136–42.
- (73) Fialova B, Luzna P, Gursky J, Langova K, Kolar Z, Trtkova KS. Epigenetic modulation of AR expression in prostate cancer DU145 cells with the combination of sodium butyrate and 5' -aza-2' -deoxycytidine. *Oncol Rep*. 2016 Oct;36(4):2365–74.
- (74) Pacheco MB, Camilo V, Lopes N, Moreira-Silva F, Correia MP, Henrique R, et al. Hydralazine and panobinostat attenuate malignant properties of prostate cancer cell lines. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Jul 13;14(7):670.
- (75) Chao OS, Goodman Jr OB. Synergistic loss of prostate cancer cell viability by coinhibition of HDAC and PARP. *Mol Cancer Res*. 2014 Dec;12(12):1755–66.
- (76) Yin L, Liu Y, Peng Y, Peng Y, Yu X, Gao Y, et al. PARP inhibitor veliparib and HDAC inhibitor SAHA synergistically co-target the UHRF1/BRCA1 DNA damage repair complex in prostate cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018 Jul 16;37(1):153.
- (77) Park SE, Kim H-G, Kim DE, Jung YJ, Kim Y, Jeong S-Y, et al. Combination treatment with docetaxel and histone deacetylase inhibitors downregulates androgen receptor signaling in castration-resistant prostate cancer. *Invest New Drugs*. 2018 Apr;36(2):195–205.
- (78) Cheng Y, Tian H. Current development status of MEK inhibitors. *Molecules*. 2017 Sep 26;22(10):1551.

- (79) Corno C, Arrighetti N, Ciusani E, Corna E, Carenini N, Zaffaroni N, et al. Synergistic interaction of histone deacetylase 6- and MEK-inhibitors in castration resistant prostate cancer cells. *Front Cell Dev Biol.* 2020 Jul 10;8.
- (80) Vallo S, Mani J, Stastny M, Makarevic J, Juengel E, Tsaur I, et al. The prostate cancer blocking potential of the histone deacetylase inhibitor LBH598 is not enhanced by the multi receptor tyrosine kinase inhibitor TKI258. *Invest New Drugs.* 2013 Apr;31(2):265–72.
- (81) Wedel S, Hudak L, Seibel J-M, Juengel E, Tsaur I, Wiesner C, et al. Inhibitory effects of the HDAC inhibitor valproic acid on prostate cancer growth are enhanced by simultaneous application of the mTOR inhibitor RAD001. *Life Sci.* 2011 Feb 28;88(9-10):418–24.
- (82) Wedel S, Hudak L, Seibel J-M, Makarevic J, Juengel E, Tsaur I, et al. Impact of combined HDAC and mTOR inhibition on adhesion, migration and invasion of prostate cancer cells. *Clin Exp Metastasis.* 2011 Jun;28(5):479–91.
- (83) Tsaur I, Hudak L, Makarevic J, Juengel E, Mani J, Borgmann H, et al. Intensified antineoplastic effect by combining an HDAC-inhibitor, an mTOR-inhibitor and low dose interferon alpha in prostate cancer cells. *J Cell Mol Med.* 2015 Aug;19(8):1795–804.
- (84) Balakumaran BS, Porrello A, Hsu DS, Glover W, Foye A, Leung JY, et al. MYC activity mitigates response to rapamycin in prostate cancer through eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1-mediated inhibition of autophagy. *Cancer Res.* 2009 Oct 1;69(19):7803–10.
- (85) McClure JJ, Li X, Chou CJ. Advances and Challenges of HDAC Inhibitors in Cancer Therapeutics. In 2018. p. 183–211.