

MESTRADO INTEGRADO
MEDICINA

Cancro da Próstata Metastizado Resistente à Castração: Mecanismos de Resistência com Interesse Terapêutico

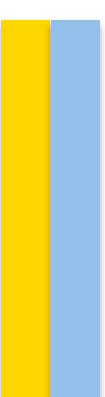
Ana Perdigão Gonçalves

M

2025



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR



**Cancro da próstata metastizado resistente à castração: Mecanismos de
resistência com interesse terapêutico**

Artigo de revisão bibliográfica

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto

Estudante: Ana Perdigão Gonçalves

6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Endereço de correio eletrónico: up201207670@up.pt

Orientador: Prof. Doutor Rui Manuel Ferreira Henrique


Professor Catedrático Convidado, Departamento de Patologia e Imunologia

Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Diretor e Assistente Graduado Sénior do Serviço de Anatomia Patológica

Investigador Sénior do Grupo de Epigenética e Biologia do Cancro - Centro de

Investigação, Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil, E.P.E.



Maio, 2025

**Cancro da próstata metastizado resistente à castração: Mecanismos de
resistência com interesse terapêutico**

Artigo de revisão bibliográfica

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto

Porto, Maio de 2025

Assinatura digital - Ana Perdigão Gonçalves

Assinatura digital - Prof. Doutor Rui Manuel Ferreira Henrique



Agradecimentos

Agradeço ao professor Rui Henrique por ser para mim um exemplo de educação, respeito pelo aluno e sabedoria. Foi um prazer trabalhar e aprender assim.

Agradeço ao meu marido Vadim pelo respeito pela minha vida académica e por toda a dedicação à família para que a escrita desta dissertação fosse possível.

“A ciência edifica-se assim, por pedras acumuladas pouco a pouco pelos experimentadores. Todos têm a mesma moral: procurar descobrir a verdade e expô-la com sinceridade, não escondendo debaixo de pretensos conhecimentos, o pouco que ainda sabemos em relação ao que desejaríamos saber...”

Charles Lepierre (1917)
in *Análise das águas minero-medicinais do Vale das Furnas da Ilha de S. Miguel (Açores)*.

Resumo

O cancro da próstata ocupa o segundo lugar nos cancros com maior incidência no sexo masculino e o quinto lugar entre os cancros mais mortais. Apesar dos avanços no diagnóstico e no tratamento, este cancro tem a característica de desenvolver, nas fases avançadas, resistência às terapêuticas existentes.

A compreensão dos mecanismos de resistência à terapêutica no cancro da próstata metastizado resistente à castração, poderá auxiliar o desenvolvimento de novas terapêuticas ou criar modificações nas abordagens terapêuticas já praticadas, de forma a abrandar ou suspender a progressão da doença.

O objetivo desta dissertação é realizar uma revisão bibliográfica dos principais mecanismos de resistência descritos. Destes mecanismos, incidir-se-á principalmente naqueles que estão mais próximos de permitir uma abordagem terapêutica mais eficaz.

Palavras-chave

Cancro da próstata metastizado resistente à castração, Recetor de androgénio, Resistência terapêutica, Resistência à castração

Abstract

Prostate cancer is the second most common neoplasm in men and it is the fifth with the highest mortality rate. Despite advances in diagnosis and treatment, many patients with advanced prostate cancer develop resistances to the treatments nowadays available.

Understanding the mechanisms of resistance underlying the development of metastatic castration-resistant prostate cancer, will contribute to find new treatments or modify the actual therapeutic options available. So that there will be possible to stop and/or control the progression of this disease.

In this master thesis, it was made a bibliographic review of the main mechanisms of resistance described. The mechanisms of resistance which are closer to contribute to new therapeutic options were detailed.

Keywords:

Metastatic castration-resistant prostate cancer, Androgen receptor, Treatment resistant, Castration-resistance

Lista de Abreviaturas e Siglas

- CaP:** Cancro da próstata
- CPRC:** Cancro da próstata resistente à castração
- DHT:** di-hidro-testosterona
- DHEA:** desidroepiandrosterona
- EAU:** European Association of Urology
- FDA:** Food and Drug Administration
- FGF:** Fibroblast Growth Factor
- FGFR:** Receptor do Fibroblast Growth Factor
- FSH:** Hormona foliculo-estimulante
- FSHR:** Receptor da hormona foliculo estimulante
- GnRH:** Hormona libertadora de gonadotrofinas
- GPCR:** Receptores acoplados à proteína G
- Hh:** Hedgehog
- HRD:** deficiência na reparação homóloga (do inglês *homologous recombination deficiency*)
- IL-6:** interleucina 6
- LH:** Hormona luteinizante
- LHR:** Receptor da hormona luteínica
- mCPRC:** Cancro da próstata resistente à castração metastizado
- LHRH:** Hormona libertadora da hormona luteinizante
- MFS:** Tempo de sobrevivência até à metastização (metastatic free survival)
- MITF:** Melanocyte inducing transcription factor
- NEPC:** Cancro da próstata neuroendócrino/de pequenas células
- NK:** Células natural killer
- PARP:** Poli ADP-ribose polimerase
- PO:** Por via oral
- PFS:** Sobrevivência livre da progressão da doença (do inglês *progression free survival*)
- PSA:** Antigénio específico da próstata
- RA:** Recetor de Androgénio
- rRNA:** RNA ribossomal
- SCLC:** Small cell lung cancer
- suPar:** Receptor do ativador do plasminogénio da uroquinase solúvel (do inglês *soluble urokinase plasminogen activator receptor*)
- tRNA:** RNA de transferência
- TPA:** Terapia de privação androgénica
- VHC:** Vírus da hepatite C
- VIRMA:** Vir-like m6A methyltransferase associated protein

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Lista de Abreviaturas e Siglas	iv
Introdução	1
Objetivos	3
Metodologia	4
Cancro da Próstata	5
Eixo hipotálamo-hipófise-gónadas	5
Produção de androgénios pelas glândulas adrenais	5
Receptor de androgénios (RA)	6
Mecanismos de Resistência	6
1 - Mecanismos dependentes do RA	6
Amplificação e sobre-expressão do gene do RA	6
Mutações pontuais no gene do RA	6
Síntese intratumoral de hormonas esteroides	6
Modificação dos co-reguladores (co-ativadores ou co-repressores)	7
Variantes de splicing	7
Modificações pós-tradução	7
Mecanismos de ativação do RA não dependentes de ligandos	7
2 - Mecanismos não associados ao RA	7
Via do Fibroblast Growth Factor (FGF)	8
Família do Transforming Growth Factor - beta	8
Via dos RAS/MAPK	8
Via wnt-beta-Catenina	8
Via de sinalização Hedgehog	9
Receptores acoplados à proteína G	10
Via JAK-STAT	10
DNA não codificante	11
m6RNA	11
2'-O-metilação	11
snoRNAs	12
micro-RNA	12
miR-182	12
miR-375	13
Carcinoma da próstata neuroendócrino (NEPC)	13
Mecanismos de Transdiferenciação	14
Presença de células resistentes à castração em tecidos de CaP primário	15
Tratamento	16
Introdução	16
Terapêuticas utilizadas no CaP localizado	16
Terapêuticas utilizadas na doença avançada	16
Quimioterapia	17
Imunoterapia	17

Terapias dirigidas a alvos moleculares	17
Marcadores de resistência terapêutica	18
AR-V7	18
Integrina $\alpha v\beta 3$	18
SNORA42	18
miR-375 e o biomarcador suPar	19
Novas abordagens terapêuticas dirigidas ao RA	19
Niclosamida	19
Novas abordagens terapêuticas dirigidas ao NEPC	19
Alisertib	19
Quimioterapia com platinos	19
Novas abordagens terapêuticas dirigidas a vias não dependentes do RA	20
ODM-208	20
Foxy-5	20
Nanonoscapine	20
Inibidores da via de sinalização Hh	20
Sinvastatina	21
Inibidores da via da JAK/STAT	21
Marcadores de resposta à terapêutica	21
BAX	21
Gli1	21
Discussão	22
Conclusão	24
Bibliografia	25

Introdução

O cancro da próstata (CaP) é uma neoplasia com elevada incidência, sendo a segunda mais frequente no sexo masculino (1). Afeta, por norma, homens com mais de 50 anos, tendo um comportamento clínico heterogéneo (2). Tem como principais factores de risco não modificáveis a idade avançada (mais de 50 anos), a história familiar, a etnia e mutações genéticas específicas na linhagem germinativa. Factores de risco modificáveis incluem a síndrome metabólica, a obesidade e o consumo de tabaco.(2)

O CaP é frequentemente assintomático e de progressão lenta. O tipo histológico mais frequente é o adenocarcinoma acinar e, relativamente ao estadio, pode estar localizado à próstata (T1 e T2), ser localmente avançado [seja estendendo-se ao tecido peri-prostático (T3a), às vesículas seminais (T3b), aos órgãos adjacentes (T4), ou aos gânglios linfáticos regionais (N1)] ou encontrar-se metastizado (M1). Uma forma mais rara de CaP possui características histológicas de diferenciação neuroendócrina, mais frequentemente com características de carcinoma de pequenas células (NEPC). Este pode surgir de forma isolada, mas é muito mais frequente surgir depois da terapia de privação androgénica (TPA). O NEPC é encontrado em aproximadamente 20% dos CaP resistentes à castração, sendo uma neoplasia agressiva e com prognóstico desfavorável (16).

Na doença localizada, a abordagem terapêutica passa, geralmente, pela prostatectomia radical ou pela radioterapia. No caso da doença localmente avançada, da doença recorrente e da doença metastizada, a base do tratamento consiste na TPA.

Em 1941, Huggins & Hodges descobriram que o CaP era dependente de androgénios (9). Desde então, foram desenvolvidos um conjunto de tratamentos médicos e cirúrgicos para reduzir as concentrações de androgénios. O objetivo deste tipo de tratamento é criar um estado de privação que induza a apoptose das células tumorais dependentes de androgénio (11).

Nos doentes tratados com supressão androgénica a longo prazo, as células do CaP tornam-se resistentes à TPA em 2-3 anos e o cancro progride, mesmo quando o nível de testosterona sérica é inferior ao nível de castração. Nesta fase, o CaP designa-se por cancro da próstata resistente à castração (CPRC).

Para além de progressão clínica, a progressão do CaP pode ser bioquímica e/ou imagiológica. A progressão bioquímica define-se por 3 incrementos consecutivos de PSA sérico intercalados por 1 semana. O PSA sérico deve ser superior a 2ng/mL e dois dos valores terem aumentos superiores a 50% do nadir (17). A progressão imagiológica define-se como aparecimento de, pelo menos, 2 lesões ósseas na cintigrafia ou uma nova lesão das partes moles. (17)

Apesar dos avanços no diagnóstico, na monitorização e no tratamento do CaP, uma percentagem significativa dos doentes com doença localizada e todos os doentes com doença metastizada, terminam por desenvolver CPRC. Existem vários fármacos com capacidade de prolongar a sobrevivência dos doentes, mas a falta de marcadores moleculares bem validados para decidir o tratamento mais adequado para cada doente em cada momento da sua doença, bem como as resistências primárias e secundárias aos tratamentos, tornam o CPRC incurável, na atualidade. Assim, uma parte significativa dos doentes com doença localizada e virtualmente

todos os doentes com CPRC acabam por desenvolver CPRC metastizado (mCPRC) com uma sobrevivência média de 16 a 18 meses (12).

Vários mecanismos moleculares explicam o desenvolvimento de resistências, sendo o eixo do recetor de androgénio (RA) o principal motor das mesmas e o principal alvo dos fármacos. Alguns destes mecanismos de resistência incluem a amplificação e sobre-expressão do RA, as variantes de *splicing*, as mutações e alterações na regulação da pós-tradução dos RA, a modificação dos co-ativadores ou co-repressores e a síntese intratumoral de hormonas esteroides. Dos mecanismos não associados ao eixo do RA, encontra-se, entre outros, a via associada ao fibroblast growth factor (FGF), ao transforming growth factor- β (TGF- β), à Ras/mitogen activated protein kinase (RAS/MAPK), à Wnt/ β -catenina, ao Hedgehog (Hh), à Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT), a moléculas de adesão celular, a recetores acoplados à proteína G, aos micro-RNA e ao DNA não codificante e as modificações que este pode vir a sofrer. (11)

A resistência primária à terapêutica é definida como uma falha do tratamento nos primeiros 3 meses, enquanto a resistência adquirida surge tipicamente após 9 a 15 meses de tratamento (18). Além de novas terapêuticas, importa referir que a combinação e a utilização de forma sequencial dos fármacos, é, também, uma área de estudo com grande importância (18).

Objetivos

Com esta dissertação procura-se descrever e sistematizar os principais mecanismos de resistência do cancro da próstata metastizado resistente à castração.

Dos vários mecanismos encontrados na literatura, foram posteriormente selecionados aqueles que possuem um maior interesse para a descoberta de novas abordagens terapêuticas, sendo estes detalhados com maior cuidado.

A compreensão dos mecanismos de resistência abre um caminho para a descoberta de novas terapêuticas, modificação de terapêuticas já utilizadas, assim como a descoberta de marcadores moleculares de resistência à terapêutica instituída, probabilidade de resposta a uma dada terapêutica, progressão da doença, recorrência da mesma e prognóstico.

Metodologia

Foi realizada uma pesquisa na base de dados PubMed® (Arquivo Digital de Literatura Biomédica e de Ciências da Vida, do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América). Seleccionaram-se os artigos com 5 ou menos anos de publicação. Foram também consultadas dissertações de estudantes da Universidade do Porto na área da Oncologia e Medicina (mestrados e doutoramentos).

Os critérios para a inclusão dos artigos pré-seleccionados na dissertação foram: o idioma Inglês ou Português, as revisões sistemáticas e as revisões bibliográficas, e a disponibilidade do texto integral do artigo.

Na primeira etapa do trabalho foram seleccionados os artigos, com os critérios acima referidos, lendo-se o título e o resumo. Posteriormente, foi lido o corpo do artigo e confirmado que o seu conteúdo seria útil para ser incorporado neste trabalho.

Utilizaram-se os termos-chave: “prostate cancer”, “CPRC”, “mCPRC”, “mCPRC treatment trials”, “NEPC”.

Cancro da Próstata

O cancro da próstata (CaP) é uma neoplasia com elevada incidência, sendo a segunda mais frequente no sexo masculino (1)

Em Portugal, existe um programa consensual de rastreio oncológico para o cancro de mama, colo-retal e do colo do útero. Contudo, o rastreio sistemático do CaP não demonstrou uma redução da mortalidade e da incidência significativa que justificasse os custos. Está, por isso, indicada a monitorização de PSA nos doentes com CaP após tratamento (14). Contudo, o Programa Europeu de Combate ao Cancro preconiza o CaP como sendo um dos quais deverá ser alvo de investigação para implementação de um programa de rastreio adequado.

O CaP é uma doença frequentemente assintomática e de progressão lenta. O diagnóstico e a monitorização podem ser feitos com recurso ao doseamento sérico do antigénio específico da próstata (PSA), à ressonância magnética multi-paramétrica e à biópsia eco-guiada. (2)

Quando existem manifestações clínicas, estas são por norma do foro genito-urinário: infeções do trato urinário complicadas, retenção urinária, hematuria, incontinência e dor no flanco por hidronefrose. Numa situação de doença avançada, serão de esperar sintomas constitucionais como a fadiga, anorexia, perda ponderal involuntária, assim como a dor óssea provocada por metástases, défice neurológico causado por compressão medular ou linfedema devido a metástases obstrutivas nos gânglios linfáticos. (2)

Existem vários mecanismos moleculares que explicam o desenvolvimento de resistência. Estão associados tanto à própria biologia do CaP, como a mecanismos de resistência partilhados com outros tumores. (12) O recetor de androgénio (RA) é o principal alvo dos fármacos e também o mais afetado pelas resistências descobertas.

Eixo hipotálamo-hipófise-gónadas

A produção de androgénios é regulada pelo eixo hipotálamo-hipófise-gónadas. O hipotálamo secreta a hormona libertadora da hormona luteinizante (LHRH), também chamada hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH). Esta hormona promove a libertação pela hipófise da hormona foliculo-estimulante (FSH) e da hormona luteinizante (LH). A LH estimula as células de Leydig a produzir testosterona, a qual é convertida nos tecidos em di-hidro-testosterona (DHT) (7). Esta última cria um *feed-back* negativo neste eixo hormonal descrito. O eixo hipotálamo-hipófise-gonadotrofinas estimula também a produção de androgénios pelo córtex das glândulas supra-renais.

Produção de androgénios pelas glândulas adrenais

Cerca de 10% dos androgénios são produzidos pela região cortical das glândulas adrenais a partir da pregnenolona e da desidroepiandrosterona (DHEA), através da via do citocromo P450 adrenal. (22) Como será abordado à frente, o acetato de abiraterona é utilizada para bloquear o citocromo P450 e por isso impedir a formação de androgénios nas glândulas adrenais. (22)

Receptor de androgénios (RA)

O RA é um fator de transcrição nuclear cuja atividade depende da ligação ao ligando. Tem um conjunto de ações que vão desde o desenvolvimento e homeostasia do aparelho reprodutor, ao do sistema músculo-esquelético, cardiovascular, imunológico, neurológico e hematopoético (15). O RA, além de estar associado à evolução do CaP, pode também estar associado à história natural de neoplasias como os cancros do fígado, da bexiga, do rim e do pulmão. (15)

Mecanismos de Resistência

O CRPC é uma doença associada a uma grande variedade de alterações moleculares. (21) As resistências podem dividir-se genericamente naquelas que afetam diretamente a via do RA e nas que são independentes deste.

Começar-se-á por resumir as principais vias de resistência descritas associadas ao RA (1- Mecanismos dependentes do RA), seguidas das formas de resistência não dependentes deste (2- Mecanismos não associados ao RA).

1 - Mecanismos dependentes do RA

Amplificação e sobre-expressão do gene do RA

No CaP sujeito a TPA, o RA está frequentemente sobre-expresso. A sobre-expressão do gene é explicada pela amplificação do gene, mas também pelo aumento de co-reguladores, o aumento da estabilidade da proteína e o aumento de fenómenos de acetilação/fosforilação em locais de iniciação da transcrição.(12)

Diversos estudos *in vitro* mostraram que células de CaP não tratadas apresentam níveis muito baixos de amplificação e sobre-expressão de RA, comparativamente a células de CaP sujeitas a TPA (12).

Mutações pontuais no gene do RA

Diversos estudos apontam para mutações pontuais do gene do RA, na ordem dos 10% de tecidos com CPRC estudados, em oposição a sensivelmente 0% de mutações nos tecidos de CaP nunca tratados com TPA (12). As principais mutações encontradas correspondem a troca de bases azotadas na região do “*ligand binding domain*” e da ligação de co-fatores. (12, 18). Estas mutações facilitam que outras moléculas, além dos androgénios, ativem o RA, como por exemplo o estrogénio, a progesterona e até os próprios antagonistas do RA. (12,18)

Síntese intratumoral de hormonas esteroides

A redução sérica de androgénios não é necessariamente acompanhada de uma redução intra-tumoral destes. Na verdade, existe um sistema “tampão” no CPRC comprovado pelo aumento de enzimas como a FASN, CYP17A1, CYP19A1 e UGT2B17 que são enzimas capazes de

sintetizar androgénios a partir de outras moléculas como o colesterol e a desidroepiandrosterona (DHEA), um esteróide produzido nas glândulas supra-renais. (17, 18).

Modificação dos co-reguladores (co-ativadores ou co-repressores)

O RA é um fator de transcrição, trabalhando em sintonia com outras moléculas, os co-reguladores. Estes podem ser co-ativadores ou co-repressores, promovendo ou reprimindo a transcrição génica, respetivamente. Estão descritos um conjunto de co-ativadores como SRC1, SRC2, SRC3, ARA70, PIAS1 e Tip60. Estudos científicos verificaram que os co-ativadores TIF2 e SRC1 aumentam a sua expressão à medida que o CPRC evolui. (12, 18)

Variantes de *splicing*

Diversas variantes de *splicing* encontram-se descritas na literatura. Destas, o AR-V7 e o ARV-567 são 2 exemplos de variantes de *splicing* do RA que não apresentam uma zona de ligação a um ligando e são encontrados com frequência no CPRC. A falta de zona de ligação origina uma atividade de transcrição permanentemente ativada, mesmo na ausência de um ligando. (7, 18)

Atualmente a niclosamida está em estudo por bloquear a variante de *splicing* AR-V7. (18) Como será abordado mais à frente, as variantes de *splicing* estão também a ser estudadas como marcadores moleculares da resistência do CPRC às terapias dirigidas ao RA. (21, 33)

Modificações pós-tradução

As modificações pós-tradução são um mecanismo importante de regulação da atividade do RA. Estas modificações podem ser a acetilação, metilação, fosforilação, ubiquitinação e sumoilação (22). As modificações que promovem a ativação do RA são frequentemente encontradas no CPRC (22).

Mecanismos de ativação do RA não dependentes de ligandos

O RA pode ativar-se com outras moléculas de uma forma não dependente de ligandos. Exemplos de moléculas capazes de ativar o RA desta forma são os fatores de crescimento (insulin-like growth factor-I (IGF-I), keratinocyte growth factor (KGF) e epidermal growth factor (EGF)), as citocinas (IL-6 and IL-8) e as quinases (por exemplo o HER2/ERBB2). (18)

2 - Mecanismos não associados ao RA

Neste grupo de mecanismos encontramos as vias associadas ao *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor-β* (TGF-β), *Ras/mitogen activated protein kinase* (RAS/MAPK), *Wnt/β-catenina*, ao Hedgehog (Hh), à *Janus kinase/signal transducer and activator of transcription* (JAK/STAT), a moléculas de adesão celular e a recetores acoplados à proteína G. Será depois abordada a importância do DNA não codificante e das modificações que este pode sofrer. Os micro-RNAs serão também mencionados.

Via do Fibroblast Growth Factor (FGF)

Esta via está implicada num conjunto de funções biológicas, nomeadamente na proliferação, sobrevivência, migração e diferenciação celulares. (23) O FGF é um fator de crescimento que se liga a receptores específicos (FGFR), ativando principalmente a via Ras/MAPK (23). Permite a comunicação entre o tecido epitelial e o conjuntivo, o que é fundamental para a homeostase dos tecidos e também para a própria organogénese (22).

Uma alteração nesta via, e nas vias que subsequentemente ativa, favorece a tumorigénese. No CaP verifica-se um aumento da expressão do FGF 6 e do FGF 8, em oposição a um domínio de FGF 7 e 10, encontrados no tecido prostático saudável. Também existe um aumento do FGFR do tipo 1 que se associa à transição epitélio-mesenquimatosa (EMT) e à progressão tumoral. (22)

Família do Transforming Growth Factor - beta

Numa situação normal, a via do TGF-beta tem a função de inibir a proliferação e diferenciação celulares. (22) Numa situação de tumorigénese, por outro lado, os TGF-beta conseguem estimular a angiogénese e suprimir o sistema imunitário, o que facilita a metastização. (22) Durante a progressão tumoral, verifica-se a perda dos receptores do TGF-beta, o que significa uma perda na inibição do crescimento e da diferenciação celulares (22).

Via dos RAS/MAPK

A via RAS/MAPK é uma via bem descrita na biologia celular, encontrando-se frequentemente desregulada nas neoplasias. É uma via que, em resposta a estímulos extracelulares mitóticos, comunica-os ao núcleo da célula, ativando genes específicos (22). Regula um conjunto de atividades celulares como o crescimento celular, divisão e diferenciação celular. (22, 24). Está, também, relacionada com a angiogénese, a reparação tecidular, a regulação do ciclo celular e a migração celular. Todos estes fenómenos são de suma importância para o desenvolvimento e crescimento de um tumor (24).

A família Ras está frequentemente mutada em diferentes neoplasias. (24) Tal pode causar a sobre-ativação da via RAS/MAPK, o que se verifica em cerca de 90% dos CaP metastizados e 43% dos CaP não metastizados, com uma taxa de mitose, crescimento celular, angiogénese e diferenciação superiores ao esperado. (23)

Via wnt-beta-Catenina

A via wnt-beta-catenina, identificada há várias décadas, tem uma função importante na embriogénese e homeostasia tecidular (22, 25). Nos últimos anos, tem sido estudada como uma via responsável pela progressão do CaP, nomeadamente no processo de transdiferenciação neuroendócrina, indução da transformação epitelial em mesenquimatosa, resistência à TPA e metastização óssea. (23) Está também associada à história natural de outras neoplasias e doenças não neoplásicas (25).

A via Wnt-beta-catenina envolve a translocação nuclear da beta-catenina com a ativação de vários genes. (25) Esta via surge frequentemente desregulada em neoplasias por mutações e/ou o silenciamento do gene supressor tumoral Wnt (Wnt tumor supressor). (25)

Existem ensaios clínicos a decorrer para a utilização da via Wnt-beta-catenina no diagnóstico, tratamento e prognóstico de doenças como a cirrose associada à infeção por vírus da hepatite C (VHC), cancro do ovário, cancro colorretal e tumores sólidos. Contudo, os ensaios estão ainda em fases iniciais e não existem fármacos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA). (25) Outros estudos descobriram que compostos naturais modificavam a via Wnt-beta-catenina em pacientes com CaP. Exemplos destes compostos são a rotlerina, curcumina, silibina, ácido ursólico, niclosamida, entre outros (25).

Um péptido que tenta imitar a proteína endógena Wnt5A - Foxy-5 - tem sido estudado, uma vez que os CaP com baixa ou nula expressão de Wnt5A estão associados a maior recorrência bioquímica após prostatectomia radical (26). Em estudos com ratinhos previamente tratados com moléculas oncogénicas injetadas nas suas próstatas às 8 semanas de idade, foi feita uma injeção de Foxy-5 a cada 2 dias. Da análise dos resultados verificou-se uma redução da capacidade de metastização do CaP, sendo que essa redução foi de 90% para a metastização regional e 75% para a metastização à distância, sem efeitos no tumor primário a nível do seu crescimento, proliferação e apoptose. (26)

A importância do atraso ou mesmo bloqueio da metastização prende-se com a relação entre a metastização, a progressão das neoplasias e a morte do paciente. (27) A baixa expressão de Wnt5A e a sua relação com a maior facilidade de metastização tumoral, encontram-se documentadas, não só no CaP, mas também no cancro da mama e do cólon. Ensaios clínicos de fase 1 e 2 estão a ser conduzidos, tendo até à data demonstrado uma boa tolerância e baixo risco de toxicidade ao Foxy-5 (27).

Via de sinalização Hedgehog

A via de sinalização Hedgehog (Hh) é uma via ativada na organogénese durante o desenvolvimento embrionário. Aparece de novo ativada na tumorigénese. Quando a proteína Hh se liga ao seu receptor, inicia-se uma cascata de reações que culmina na ativação de fatores de transcrição Gli. Esta família de fatores de transcrição consegue interagir com o RA, conduzindo a uma produção de androgénios mesmo em situações de privação de androgénios. (22) Por outro lado, numa situação de privação, a via de sinalização Hh tende a ativar-se. (22) A importância desta via de sinalização prende-se, também, com a sua capacidade de promover a angiogénese, desdiferenciação celular e transição epitélio-mesenquimatosa.

Diversos fármacos, designadamente o itraconazole, gismodegib, vismodegib e sonidegib, demonstraram ser inibidores da via de sinalização Hh em ensaios clínicos. Contudo, para melhor identificar os respondedores a estes inibidores são necessários biomarcadores. Os genes Gli1, SPHK1, SHROOM2, PDL1M3 e OXT2 correlacionam-se com a expressão da via de sinalização Hh. Desta forma, a sua redução antes e após terapêutica permite confirmar a correta inibição da via e por isso podem vir a funcionar como marcadores moleculares de resposta ao tratamento. (29)

Moléculas de adesão celular

Ao longo da progressão das neoplasias, as moléculas de adesão celular estão envolvidas na proliferação celular, motilidade e invasão. (22) As integrinas são um exemplo de uma família de moléculas de adesão que sofrem alterações nos sub-tipos e percentagens destes sub-tipos, ao longo da história natural do CaP (22). Constituem exemplos de sub-tipos de integrinas sobre-expressas no CaP a α Vbeta6, α Vbeta3, α 3beta1, α 6beta1.

Quaglia et al. concluíram que a integrina α Vbeta3 estaria envolvida na transdiferenciação neuroendócrina com maior expressão nesta variante do CaP, comparativamente ao adenocarcinoma (22, 49). Por outro lado, a integrina α Vbeta6 seria mais característica do adenocarcinoma da próstata e não do NEPC.

Vários inibidores das integrinas, desde as estatinas que inibem α Vbeta3, a anticorpos monoclonais foram estudados. (22) Apesar das vantagens em termos pré-clínicos, nos ensaios clínicos os resultados não foram tão promissores (51). Tome-se como exemplo o anticorpo contra a integrina α V abituzumab, estudado em ensaios de fase II para o tratamento do mCPRC. Apesar dos resultados apontarem para uma redução da metastização a nível ósseo, a sobrevivência livre da progressão da doença (PFS do inglês *progression free survival*) não teve aumentos significativos (51). Contudo, novos ensaios clínicos seguem em curso, assim como as integrinas são apontadas como promissores biomarcadores da progressão de neoplasias. (51)

Receptores acoplados à proteína G

Os receptores acoplados à proteína G (GPCR) são uma família de receptores de membrana envolvidos em inúmeros processos celulares. Estão presentes no eixo hipotálamo-hipófise-gónadas, descrito anteriormente, e encontram-se sobre-expressos no CaP. (22)

A proteína G associada ao receptor da hormona luteínica (LHR), demonstrou a capacidade de estimular a produção de esteróides em células sensíveis e não sensíveis à testosterona. (22) De uma forma semelhante, no receptor da hormona foliculo estimulante (FSHR), um receptor também acoplado à proteína G, além da sua ativação e conseqüente síntese de esteróides, demonstrou a capacidade de promover a atividade osteoclástica e a angiogénese, ou seja, facilitar a metastização óssea. (22).

Via JAK-STAT

Muitos dos processos e funções celulares são regulados por citocinas. Destas, a interleucina 6 (IL-6) aparece frequentemente em níveis superiores aos esperados no CaP (22). A IL-6 funciona como um factor de crescimento para as células cancerígenas do CaP, pois ativa a via da JAK/STAT com a transcrição de genes que inibem a apoptose e promovem a angiogénese (22).

A via da JAK/STAT é também responsável por gerar PD-L1, uma molécula envolvida na evasão do controlo do sistema imunitário, nomeadamente a ação das células *natural killer* (NK). (22) A ativação da via JAK/STAT aparece associada a um pior prognóstico da doença (52).

Estudos que bloqueiam a via da JAK/STAT levaram a uma maior capacidade de morte celular mediana pelas células NK.(22) Os resultados foram mais evidentes naqueles células com uma alteração no TB53/RB1 (52).

Esta via surge também associada à capacidade de plasticidade celular, um dos fenômenos atualmente em estudo para explicar a resistência do CaP à terapêutica (52).

DNA não codificante

Em 1958, o dogma central da biologia molecular foi proposto. Neste dogma considerou-se que a informação biológica estava armazenada na sequência de nucleótidos do DNA e que fluía unidirecionalmente do DNA para o RNA e deste para as proteínas. Esta teoria foi sofrendo alterações e um dos aspectos atualmente revistos é o facto de que o DNA não codificante, anteriormente considerado *junk* DNA, ser hoje estudado pela relação com a formação de RNA não codificante com atividades muito importantes na biologia celular e na biologia do cancro. É interessante notar que apenas 1,5% do genoma codifica proteínas e que o RNA não codificante se encontra desregulado em muitas neoplasias (19). O RNA não codificante sofre modificações, tal como o DNA, entre as quais se inclui a metilação. (19). Estas modificações, se aberrantes, podem facilitar a expressão de genes que estimulam a sobrevivência celular e a proliferação, propiciando a tumorigénese. (19)

m6RNA

A metilação do RNA na posição N6 na adenosina (m6RNA), tem sido identificada como um passo no aparecimento e progressão do CaP, nomeadamente na proliferação, invasão e metastização (19). O m6RNA tem interesse na deteção e prognóstico do CaP, assim como na própria identificação de resistência à(s) terapêutica(s). (19) Uma proteína do complexo de moléculas que permite a metilação do RNA para formar o m6RNA é a Vir-like m6A methyltransferase associated protein (VIRMA). (19) Num estudo, verificou-se que a redução da expressão de VIRMA (pela técnica CRISPR-Cas9), permitiu a diminuição do m6RNA, com inibição da progressão tumoral. (19)

2'-O-metilação

A metilação da ribose na posição 2'-O (2'-O-metilação Nm onde N pode ser qualquer dos 4 nucleótidos A, C, G ou U) é a mais modificação frequente no RNA não codificante, ocorrendo frequentemente no RNA de transferência (tRNA) e no RNA ribossomal (rRNA). (19) A modificação aumenta a hidrofobia do RNA, dando estabilidade à molécula e protegendo-a da atuação de enzimas. Estudos apontam que o rRNA com esta modificação pode sofrer um aumento da sua atividade e, assim, um incremento da formação de oncoproteínas (19). Portanto, as terapêuticas que impeçam o correto funcionamento dos ribossomas em tecidos com CaP, têm o potencial de causar uma redução da produção de oncoproteínas. (19) Contudo, os ensaios clínicos que testaram terapêuticas que afetam a maturação dos ribossomas e/ou a transcrição do rRNA apresentaram limitações na especificidade e seletividade (19). A procura de marcadores

moleculares terapêuticos com o Small nucleolar RNA (snoRNA), tenta contornar a falta de especificidade e de sensibilidade notada com o bloqueio de vias relacionadas com o rRNA. (19)

snoRNAs

Os snoRNAs são um tipo de RNA não codificante, estando presentes no núcleo das células eucariotas. Têm um papel importante na modificação do rRNA (32). Evidências recentes apontam para um papel também na regulação do tRNA e do mRNA. (32) O papel dos snoRNAs parece ser, ora de tumorigênicos, como de supressores de tumores, estando envolvidos no processo de 2'-O-metilização Nm do rRNA. (32) Estudos recentes notaram que os snoRNAs podem ter um papel semelhante ao dos micro-RNA, assim como estar envolvidos noutras vias, entre elas, o *splicing* alternativo. (32)

Tendo isto em conta, o papel do snoRNA na história natural das neoplasias é inequívoco, participando na modificação, estabilidade e regulação de proteínas envolvidas na tumorigénese. (32)

micro-RNA

Os micro-RNA são moléculas não codificantes, compostas por 21 a 23 nucleótidos, que atuam como reguladores transcripcionais e pós-transcripcionais através do emparelhamento de bases com o RNA mensageiro (mRNA) (11). Os micro-RNA estão envolvidos em virtualmente todos os processos bioquímicos. Desde esta descoberta, têm-se vindo a estudar as relações dos micro-RNA com o desenvolvimento de neoplasias, nas quais se inclui o CaP. (11)

Diversos estudos têm indicado uma desregulação dos micro-RNA em neoplasias, estando descritos micro-RNA supressores de tumores e micro-RNA oncogénicos que, ao estar em proporções contrárias à normalidade, potenciam a tumorigénese (20). Estas alterações, de forma semelhante às descritas para o DNA, incluem amplificação, mutações, deleções e mecanismos epigenéticos (por exemplo a hipermetilação e modificações das histonas). (20)

Relativamente ao CaP, os micro-RNAs revelaram potencial na identificação de recorrência do tumor, monitorização da progressão e predição da resposta à terapêutica (11). A sobre-expressão de *miR-96*, *-182*, *182*-183*, *-375*, *32*, *-26a*, *-181a*, *-93*, *-196a*, *-25*, *-92* and *let-7i* e a baixa expressão de *miR-16*, *-31*, *-125b*, *-145*, *-149*, *-181b*, *-184*, *-205*, *-221* and *-222* foram confirmadas em tecidos de CaP. (18, 20)

miR-182

O miR-182 é um micro-RNA encontrado em quantidades superiores ao esperado num conjunto de neoplasias, sendo por isso considerado um onco mi-RNA. (30) A sua expressão correlaciona-se positivamente com o grau de Gleason. (30, 31) Associa-se à transição epiteliomesenquimatosa, com estudos a indicar a relação do miR-182 com o MITF (melanocyte inducing transcription factor) (31). A transição epiteliomesenquimatosa é um processo reversível no qual as células perdem parcialmente ou suprimem o seu fenótipo epitelial, passando a manifestar um

fenótipo mesenquimatoso (31). Este passo associa-se a maior agressividade tumoral, pois aumenta a capacidade de migração, invasão e metastização. (31). O MITF, apesar de envolvido na melanomagénese, está envolvido também no desenvolvimento de outros tumores, nomeadamente no CaP. Tem um papel na supressão da expressão genética, sendo que no CaP os valores do transcrito e da proteína MITF são inferiores aos encontrados em tecidos prostáticos normais. Em contrapartida, como foi mencionado, os valores de miR-182 são por norma superiores nos tecidos com CaP.

Diversos estudos notaram que um aumento de miR-182 causa uma redução dos níveis de mRNA de MITF. O oposto também se verificou, ou seja, inibindo o miR-182, ocorria um aumento nos níveis de mRNA de MITF. (31) Esta inter-relação suscitou interesse no miR-182 como biomarcador de CaP. (31) Contudo, estas moléculas estão, também, envolvidas em outras vias biológicas, o que, no CaP, tem dificultado o papel do miR-182 ou de outras moléculas com o qual está envolvido, como marcadores biológicos. (31) Apesar de se ter detectado miR-182 em exosomas e existirem estudos que demonstram a sua medição no sangue periférico, a utilização deste como biomarcador não invasivo no CaP não é ainda uma realidade (30,31).

miR-375

O miR-375 tem sido estudado como um promissor marcador de diagnóstico e progressão do CaP em combinação com o PSA sérico atualmente utilizado. (30) Foi possível detetar este micro-RNA no soro de pacientes com CaP, apesar de na urina isso não ter sido possível (30). Vários estudos apontam o aumento do miR-375 no CaP, comparativamente aos tecidos prostáticos sem a doença. A combinação da medição do miR-375 com a proteína associada suPar, correlaciona-se com estadio avançado do CaP (T3 e T4), assim como uma menor sobrevivência (30).

Carcinoma da próstata neuroendócrino (NEPC)

Um tipo histológico de CaP exhibe características de diferenciação neuroendócrina (NEPC). Este tipo histológico é raro (0,5 a 2%) em doentes não submetidos a TPA e/ou radioterapia, mas já no CPRC está presente em 17 a 30% dos pacientes. (18). A transdiferenciação neuro-endócrina está descrita em modelos animais e celulares, não só para tumores sujeitos a TPA, como também após tratamentos de quimioterapia e radioterapia. (18). Este grupo de tumores não responde às terapêuticas geralmente instituídas, uma vez que não expressam RA, nem conseqüente expressão de PSA. (18) O NEPC é, por isso, um sub-tipo histológico de CaP agressivo e letal, sendo as abordagens terapêuticas existentes largamente insuficientes. (19)

No NEPC encontramos, frequentemente, mutações ao nível dos genes supressores tumorais TP53, RB1 e PTEN. Histologicamente, encontramos uma variedade de apresentações, o que levou, em 2014, a um consenso de nomenclatura por parte da *Prostate Cancer Foundation* (19). Distinguem-se o adenocarcinoma da próstata com diferenciação neuro-endócrina, o adenocarcinoma com diferenciação neuro-endócrina e células de Paneth, o tumor carcinóide, o carcinoma de pequenas células, o carcinoma neuroendócrino de grandes células e o tumor misto de carcinoma neuroendócrino com adenocarcinoma acinar. (19) Imunohistoquimicamente, o

NEPC apresenta a expressão de marcadores neuroendócrinos como a sinaptofisina (SYP), a molécula de adesão celular neural (NCAM ou CD56) e cromogranina A (CHGA), com a ausência de expressão de PSA e RA já descritas. O carcinoma de pequenas células é o sub-tipo histológico menos diferenciado e, por isso, mais agressivo. A sobrevivência média dos doentes é inferior a 1 ano. (19)

Mecanismos de Transdiferenciação

Os mecanismos de transdiferenciação têm sido alvo de muitos estudos, dos quais surgiram 2 teorias que tentam explicar este fenómeno:

A hipótese das células neuroendócrinas, defende que no tecido prostático saudável existem naturalmente células neuroendócrinas. Estas representam cerca de 1% das células locais, sendo a sua função produzir e secretar neuro-hormonas que regulam de forma parácrina as outras células em redor. As células neuro-endócrinas partilham semelhanças com as células do NEPC, o que poderia explicar serem o ponto de partida para a formação do NEPC.

Em alternativa, a hipótese da plasticidade celular tem sido fortemente apoiada pelos estudos genómicos realizados em biópsias e em tumores removidos cirurgicamente. Esta hipótese defende que o adenocarcinoma pode evoluir fenotipicamente para um NEPC através de um conjunto de alterações graduais da plasticidade celular. Em estudos histológicos de massas tumorais de adenocarcinoma com focos de NEPC, notou-se a presença da fusão dos genes ERG e TMPRSS2 em 50% dos casos. Esta proporção é semelhante à observada no adenocarcinoma acinar, mas não nas células neuroendócrinas de tecidos prostáticos saudáveis, o que apoia a segunda hipótese. (19)

Em outro estudo, foram analisadas biópsias de metástases de vários pacientes. Estas metástases foram divididas em CPRC-NE e CPRC-adenocarcinoma. A clínica dos pacientes e as diferenças imuno-histoquímicas foram sumarizadas. Como seria expectável, o CPRC-NE apresentou menor expressão de RA e menor actividade deste, medida pelo mRNA. No CPRC-NE, as mutações pontuais do RA eram quase nulas, ao contrário do CPRC-adenocarcinoma. Foi especulado que, para as células não estarem mutadas, teriam de ter sido previamente selecionadas durante a TPA realizada nesses doentes. (20) As mutações pontuais em locais que não o gene RA, eram mais frequentes que nas biópsias de CaP localizado, mas semelhantes entre o CPRC-NE e o CPRC-adenocarcinoma. Observou-se um contínuo de valores dentro de cada um destes grupos, mesmo quando se agruparam os doentes por localização das suas metástases ou por terapêutica idêntica feita anteriormente. (20) Esta situação pode ser explicada pela existência de vários sub-tipos de tumores e pela própria progressão da doença num conjunto de pequenas e graduais modificações (20).

Assim, existem diversas teorias para explicar o mecanismo de transdiferenciação neuroendócrina (20), podendo ser resumidas em:

- Progressão linear de adenocarcinoma não tratado a CPRC-adenocarcinoma e, posteriormente, a CPRC combinado com um tumor NE

- Independência destas duas formas, ou seja, inicialmente, algumas das células gerarão células capazes de formar um CPRC-NE, enquanto outras células originarão um CPRC-adenocarcinoma

- Progressão divergente, na qual a célula inicial ficará programada para gerar um CPRC-adenocarcinoma ou um CPRC-NE

- Progressão independente desde o estado de CPRC-adenocarcinoma. Isto é, inicialmente as células evoluirão para um CPRC-adenocarcinoma, sendo que depois, algumas células permanecerão como CPRC-adenocarcinoma, enquanto outras se converterão em CPRC-NE

- Progressão divergente a partir do CRPC-adenocarcinoma, isto é, inicialmente origina-se um CPRC-adenocarcinoma sendo que a partir deste, ou se forma um CPRC-NE, ou permanece numa situação de CPRC-adenocarcinoma

A evolução divergente tem sido apoiada como a mais provável. (20) Contudo não se pode excluir a hipótese de uma des-diferenciação do adenocarcinoma para células menos diferenciadas que permitam, posteriormente, a diferenciação em células neuro-endócrinas (20).

A transdiferenciação neuro-endócrina aparece, assim, como uma forma de resistência alternativa, pois não passa diretamente pelo RA e, por isso, não responderá adequadamente às terapêuticas existentes. (20,22)

Presença de células resistentes à castração em tecidos de CaP primário

Células CRPC-like foram encontradas em tecidos de CaP primário. Assim, tecidos com diagnóstico de adenocarcinoma da próstata, ainda não classificados como CPRC, continham células semelhantes às encontradas no CRPC. (36) Esta descoberta suscita estudos para um novo mecanismo de resistência. Uma resistência que não é adquirida durante a TPA, mas que existe previamente a esta e termina expressando-se durante a TPA (36).

Este grupo de doentes beneficiaria de uma terapêutica mais agressiva desde o início e conseguir distinguir entre os doentes com células CRPC-like e os que não as possuem, permitiria, desde fases precoces, ajustar a terapêutica à biologia do tumor. (36)

Tratamento

Introdução

Existem diversas opções terapêuticas para o CaP, o CPRC e o mCPRC. Contudo, poucos são os marcadores moleculares bem validados para utilização, antes e durante o tratamento, com vista à eleição do melhor tratamento para cada doente, em cada fase da sua doença. (33)

Terapêuticas utilizadas no CaP localizado

Muitos pacientes com CaP localizado não beneficiam de uma terapêutica. Esta situação compreende-se nas pessoas com mais idade e/ou comorbilidades, nas quais uma intervenção terapêutica poderia levar à perda da qualidade de vida, em vez do oposto. (38)

A *European Association of Urology (EAU)*, nas suas últimas *guidelines*, atualizadas em março de 2025, demonstra com um risco de evidência elevado, que na doença localizada, em homens com menos de 10 anos de esperança média de vida, assim como em situações de pacientes com uma esperança média de vida superior a 10 anos, mas um CaP localizado de baixo risco, a decisão mais acertada será o *watchful waiting*. (38)

No CaP localizado de risco intermédio, o *watchful waiting* deve ser sugerido em indivíduos assintomáticos com uma esperança média de vida inferior a 10 anos (38). Já nos indivíduos com uma esperança superior a 10 anos, a prostatectomia radical é preferida (38).

Na doença localizada de alto risco, a EAU recomenda o *watchful waiting* em pacientes assintomáticos com uma esperança média de vida inferior a 10 anos (38). A prostatectomia radical é sugerida aos restantes.

Terapêuticas utilizadas na doença avançada

Dada a importância do RA e dos androgénios, muitas das terapêuticas utilizadas na doença localmente avançada e na doença metastizada vão atuar nesta via. A TPA tanto pode ser por castração cirúrgica (orquiectomia), como por castração química. (35) Existem vários fármacos para a castração química como os agonistas do LHRH (como exemplos: leuprolide, goserelin, triptorelin e histrelin) e os antagonistas do LHRH (por exemplo o degarelix).

Além das terapêuticas hormonais, como o é a TPA, foi necessário encontrar terapêuticas capazes de reduzir a produção de androgénios noutras partes do organismo e intra-tumoralmente, assim como terapêuticas capazes de bloquear o efeito dos androgénios. Surgiram, desta forma, os inibidores da enzima CYP17 e os antagonistas do RA. (45)

A primeira geração de antagonistas do RA foi introduzida há 4 décadas, aparecendo uma segunda geração que tentou contornar as dificuldades dos primeiros fármacos. Exemplos de fármacos de segunda geração são a enzalutamida, a apalutamida e a darolutamida, fármacos com grande importância nos doentes com CPRC não metastizado (nmCPRC). (35, 42) A eficácia e segurança destes 3 fármacos em doentes com nmCPRC a realizar TPA em simultâneo, foi avaliada e confirmada em 3 ensaios clínicos: ARAMIS, SPARTAN e PROSPER. (42) Foi demonstrada eficácia

no atraso da metastização, obtendo-se um aumento entre 36,6 e 40,5 meses até à metastização *versus* 14,7 a 18,4 meses até à metastização para o grupo placebo. (28)

Para contornar a produção adrenal e intra-tumoral de androgénios, foram desenvolvidos os inibidores da enzima CYP17, uma enzima fundamental para a síntese de androgénios. Como exemplo encontramos a abiraterona. (35)

Quimioterapia

Consiste na utilização de um quimioterápico, como por exemplo o docetaxel, o cabazitaxel, a mitoxantrona ou a estramustina. (41) É, por norma, iniciada nos doentes com mCPRC metastizado e sintomático. (20) O esquema terapêutico geralmente utilizado consiste no docetaxel combinado com a prednisona (41). Como segunda linha, é frequente substituir o docetaxel pelo cabazitaxel (41).

O docetaxel pertence à família dos taxanos e foi o primeiro quimioterápico a demonstrar uma melhoria na qualidade de vida de doentes com mCPRC. Desempenha a sua função através da ligação à tubulina dos microtúbulos e à sua estabilização, induzindo o bloqueio do ciclo celular e a inibição da proliferação celular (20). O estudo TAX 327 demonstrou que o tratamento com docetaxel a cada 21 dias aumentava a sobrevivência dos pacientes e reduzia a dor. (21)

O cabazitaxel é um taxano semi-sintético desenvolvido com o objectivo de ultrapassar a resistência ao docetaxel (20). O estudo TROPIC comparou o cabazitaxel com a mitoxantrona, concluindo que o cabazitaxel poderia ser utilizado em doentes com mCPRC previamente tratados com docetaxel. (11)

Imunoterapia

A imunoterapia compreende um conjunto de terapêuticas capazes de estimular o sistema imunitário para que este reconheça e, assim, consiga incrementar a capacidade de destruir células tumorais. A vacina Sipuleucel-T (Provenge) é derivada de células dendríticas autólogas CD54+ (20). Estas são extraídas do próprio doente e combinadas com proteínas de fusão compostas por fosfatase ácida prostática e fator estimulador de colónias de granulócitos e monócitos (20). A vacina é dada em 3 doses, com 2 semanas de intervalo entre doses, sendo utilizada em doentes com mCPRC assintomático ou com poucos sintomas. (41)

Estudos de fase III demonstraram benefícios no tempo de sobrevivência global, apesar dos efeitos deste tratamento só poderem ser notados vários meses mais tarde (46). A eficácia foi superior nos pacientes nunca expostos a quimioterapia (46).

Pelos elevados custos e complexidade técnica subjacente, a imunoterapia tem uma reduzida expressão como terapêutica para o CPRC. (46)

Terapias dirigidas a alvos moleculares

Os inibidores das proteínas poly-ADP-ribose polimerase (PARP), como o olaparib, fazem parte das terapias dirigidas a alvos moleculares. Têm como objetivo bloquear enzimas intracelulares que ajudam a reparar o DNA defeituoso. (47) Os pacientes com mCPRC devem ser estudados, analisando-se o genoma do seu CaP para identificar os que apresentam uma

deficiência na reparação da recombinação homóloga (HRD do inglês *homologous recombination deficiency*). (47)

A deficiência em HRD é um fenótipo encontrado em várias neoplasias, incluindo as da próstata, do ovário, da mama e do pâncreas (48). As mutações nos genes BRCA1 e BRCA2, envolvidos na reparação do DNA, possuem um papel importante na expressão deste fenótipo (48). Se estas mutações estiverem presentes, inibindo a via das PARP, será muito difícil para as células do CaP reparar mutações no seu genoma, uma vez que têm várias vias implicadas na reparação do genoma afetadas. Tal situação potenciará a apoptose (47).

Marcadores de resistência terapêutica

Como antes mencionado, a progressão para CPRC dita uma mudança na abordagem terapêutica, podendo-se ainda distinguir o nmCPRC do mCPRC. Desta forma, poder acompanhar a resistência, ou não, às terapêuticas instituídas ou que se planeiam instituir, é muito importante.

AR-V7

O AR-V7 surge em circulação em pacientes com reduzida resposta à terapêutica de segunda e de terceira linhas. (18, 39) Esta variante de *splicing* do mRNA do RA não apresenta zona de ligação ao ligando, estando ativada de forma permanente.

Estudos detetaram que a expressão da proteína AR-V7 era inferior a 1% em tecidos prostáticos normais, com uma expressão de cerca de 75% nos tumores metastizados. (39) Os valores da proteína AR-V7 aumentavam gradualmente, provavelmente devido à pressão das terapias dirigidas ao RA, sendo que diferentes metástases podiam ter diferentes valores de AR-V7 (39). Notou-se igualmente que existiam respostas terapêuticas muito diferentes em termos da redução do PSA entre pacientes com valores aumentados de AR-V7 e valores reduzidos deste. O mesmo se aplicava ao tempo de sobrevivência, depois de iniciada uma terapia dirigida ao RA, para estes dois grupos de pacientes. (39)

Foi possível detetar valores de AR-V7 no sangue periférico de doentes. (39). Este grupo de pacientes beneficiaria, como segunda linha terapêutica, de quimioterapia com taxanos (docetaxel ou cabazitaxel) em vez de terapias dirigidas ao RA. (39) A deteção do AR-V7 pode ser utilizada, para além do CaP, no cancro do pulmão, da mama e colorretal. (39)

Integrina $\alpha\beta3$

A integrina $\alpha\beta3$ tem sido apontada como outro possível biomarcador da progressão de adenocarcinoma da próstata para NEPC, uma vez que a sua presença é quase ausente no adenocarcinoma, mas significativa no NEPC (51). Uma deteção precoce da variante NEPC permitiria, atempadamente, re-ajustar a terapêutica (51).

SNORA42

O snoRNA designado SNORA42 foi encontrado em concentrações aumentadas no CaP, comparativamente aos tecidos adjacentes. Valores superiores de SNORA42 no CaP metastizado

foram associadas a uma menor sobrevivência (53). O SNORA42 é, por isso, um promissor biomarcador da progressão do CaP. (53)

miR-375 e o biomarcador suPar

De uma forma semelhante ao SNORA42, a combinação da medição do miR-375 com a medicação do receptor do ativador do plasminogénio da uroquinase solúvel (suPar, *soluble urokinase plasminogen activator receptor*), permitiu verificar que ambos se encontram aumentados nos estadios T3 e T4 do CaP (30)

Novas abordagens terapêuticas dirigidas ao RA

Niclosamida

A AR-V7, para além de poder vir a funcionar como um marcador de resistência à terapêutica, está a ser utilizada como alvo terapêutico. Atualmente, a niclosamida está em estudo por bloquear a variante de *splicing* AR-V7 e ter sinergia com a abiraterona. (21)

Contudo, a niclosamida foi alterada para que tivesse uma maior biodisponibilidade oral (niclosamida/PDMX1001). Posteriormente, esta foi administrada a pacientes com CPRC nunca expostos à abiraterona. Administrou-se concomitantemente abiraterona e prednisona. As doses recomendadas foram calculadas em cerca de 1200mg por via oral (PO) (3 vezes ao dia), 1000mg de abiraterona PO (1 vez ao dia) e prednisona 5mg PO (2 vezes ao dia). (21) As conclusões do estudo apoiam a combinação destes 3 fármacos, uma vez que são bem tolerados, com uma atividade significativa contra a progressão do CPRC (21).

São, contudo, necessários mais estudos com um maior número de pacientes, sendo que a niclosamida/PDMX1001 pode vir a ser também utilizada noutras neoplasias (21).

Novas abordagens terapêuticas dirigidas ao NEPC

O NEPC resulta de um conjunto de alterações genéticas e epigenéticas. A perda ou inativação do RB1 e/ou do TP53 são das alterações mais comuns. (37) Uma melhor compreensão do desenvolvimento do NEPC potenciou o estudo e a tentativa do desenvolvimento de novas terapêuticas. (37)

Alisertib

Um dos fármacos em estudos de fase II é o alisertib, um inibidor da aurora kinase A, um membro da família das kinases mitóticas com um papel importante durante a fase G2 e a fase M do ciclo celular. (37, 38) Apesar dos resultados não terem sido os desejados, o alisertib demonstrou a importância do bloqueio da aurora kinase A na sobrevida dos doentes. Sobretudo na sobrevida daqueles com um padrão de sobre-ativação da aurora kinase A. (37)

Quimioterapia com platinos

As semelhanças encontradas entre o cancro do pulmão de pequenas células (em inglês *small cell lung cancer*) (SCLC) e o NEPC, levaram à utilização de quimioterapia baseada em platinos

(cisplatina com etoposide) (37). Ambos os fármacos causam alterações irreversíveis no DNA conduzindo à apoptose. A resposta inicial à quimioterapia é significativa, mas os seus efeitos no tempo não são ainda os desejados. (37)

Novas abordagens terapêuticas dirigidas a vias não dependentes do RA

ODM-208

O CYP11A1 é uma enzima que cataliza a primeira reação da síntese de androgénios, na qual o colesterol é convertido em pregnenolona (40). O ODM-208 é um inibidor oral, não esteróide, selectivo da CYP11A1 que permite inibir todas as vias androgénicas e não androgénicas de esteróides (40)

O estudo CYPIDES foi desenvolvido para testar a segurança e eficácia deste fármaco em pacientes com mCPRC (40). A insuficiência adrenal foi o efeito adverso mais reportado, com melhoria se existisse uma redução da dose e a progressão do tratamento no tempo. Os pacientes que desenvolveram insuficiência adrenal foram devidamente tratados e não necessitaram de suspender a terapêutica em curso. (40) Os resultados da administração de ODM-208 foram mais satisfatórios no grupo de pacientes com maiores taxas de mutação do RA. (40)

Foxy-5

O Foxy-5 é um péptido que se assemelha à proteína endógena Wnt5A. Foi utilizado em estudos com modelos de ratos conduzindo a uma redução significativa da capacidade de metastização do tumor. (27) A expressão de Wnt5A está associada a um melhor prognóstico, tendo esta terapêutica o objetivo de aumentar os níveis deste péptido (27) Dois ensaios clínicos de fase 1 concluíram que esta terapêutica era segura e bem tolerada (43).

Nanonoscapine

A nanonoscapine é um derivado opióide com propriedades anti-tumorogénicas, por ter a capacidade de inibir a proliferação tumoral, colocando as células em fase G2/M e promovendo a apoptose (44). Desde 1960 que é utilizada como antitússico em formulações sob a forma de xarope (44). O seu uso na oncologia tem limitações por interações medicamentosas importantes e efeitos colaterais com o aumento da dose (44). Desta forma, a nanotecnologia permitiu a criação de um composto com maior eficiência, segurança, necessidade de uma menor dosagem e aumento do tempo de permanência no sangue (44). A medição dos genes Gli1 e BAX, genes supressores de tumores, permitiu a comprovação da eficácia da nanonoscapine modificada, uma vez que estes genes aumentaram em grande quantidade após a terapêutica. (44)

Inibidores da via de sinalização Hh

O itraconazole, o gismodegib, o vismodegib e o sonidegib são inibidores da via de sinalização Hh atualmente em ensaios clínicos. O sonidegib foi utilizado em pacientes com CaP localizado de alto-risco previamente à realização da prostatectomia radical. Após a cirurgia, dos 7

tumores avaliados, 6 obtiveram uma redução para mais de metade dos valores do mRNA Gli1, marcador utilizado para a avaliação da resposta terapêutica aos inibidores da via Hh. (29) Já o vismodegib não obteve os mesmos resultados (29). É, por isso, importante compreender a melhor etapa da história natural da doença para poder introduzir os inibidores das vias de sinalização do Hh com segurança e eficácia. (29)

Sinvastatina

As integrinas são proteínas transmembranares de adesão de superfície com um papel fundamental na homeostasia dos tecidos. (49) Os inibidores das integrinas são um alvo terapêutico em estudo, uma vez que no CaP existem integrinas sobre-expressas com um papel na transdiferenciação neuroendócrina, crescimento tumoral e migração celular. (22, 49)

Infelizmente, muitos estudos clínicos não obtiveram os resultados promissores dos estudos pré-clínicos (51). Ainda assim, o uso das estatinas, nomeadamente da sinvastatina, demonstrou ter um papel importante na inibição da integrina $\alpha v \beta 3$ (50).

Inibidores da via da JAK/STAT

Fármacos que bloqueiam a via da JAK/STAT demonstraram uma maior capacidade de morte celular mediana pelas células NK, assim como a redução da plasticidade celular associada a mecanismos de transdiferenciação neuroendócrina e resistência à terapêutica (52). São necessários mais estudos para o seu uso na prática clínica. (52)

Marcadores de resposta à terapêutica

BAX

O BAX, da família Bcl-2, é responsável pelo controlo da apoptose mediada por mitocôndrias (44). A sua elevação sugere uma resposta favorável à terapêutica elegida, com uma esperada supressão do crescimento tumoral (44).

Gli1

O fator de transcrição Gli1 é outro marcador sugerido para o acompanhamento da resposta à terapêutica, pelo seu papel na proliferação celular e na transição epitélio-mesenquimatosa. (44) O estudo e a melhor compreensão dos reguladores do fator de transcrição Gli1, pode permitir a produção de fármacos capazes de o regular. (44)

Discussão

Quando do diagnóstico de CaP, cerca de 20% dos pacientes apresentam doença localmente avançada ou metastizada. Assim, neste grupo de pacientes, as abordagens passam geralmente pela TPA, pelo que uma proporção importante destes doentes virá a desenvolver mecanismos de resistência dependentes ou independentes do RA.

Nestes pacientes, o eixo do RA continua ativo, mesmo com níveis de castração, através de um conjunto de mecanismos de resistência como a amplificação do gene do RA, mutações pontuais neste gene, síntese intra-tumoral de hormonas esteróides, modificação dos co-reguladores e variantes de *splicing*.

As vias não dependentes do RA ganharam extrema importância nos últimos anos, tendo-se descrito nesta dissertação um conjunto destas, como por exemplo a via associada ao fibroblast growth factor (FGF), ao transforming growth factor- β (TGF- β), à Ras/mitogen activated protein kinase (RAS/MAPK), à Wnt/ β -catenina, ao Hedgehog (Hh), à JAK/STAT, a moléculas de adesão celular, a recetores acoplados à proteína G, aos micro-RNA, ao DNA não codificante e às modificações que este pode vir a sofrer.

Existe uma distinção entre o nmCPRC e o mCPRC. O diagnóstico de nmCPRC engloba aqueles pacientes sem evidência radiológica de metástases, que progridem mesmo sob TPA. A identificação destes doentes permite oferecer-lhes uma nova terapêutica com vista a adiar a metastização, pois os antagonistas dos RA demonstraram eficácia, juntamente com a TPA, nos pacientes com nmCPRC.

O NEPC, uma forma agressiva de CaP caracterizada pela baixa expressão ou mesmo ausência do RA, não é sensível às terapêuticas dirigidas ao eixo do RA. A identificação deste grupo de pacientes permite oferecer-lhes quimioterapia com platinos, o único tratamento atualmente disponível.

Entre os casos de CaP primariamente diagnosticados, menos de 2% correspondem a NEPC. Contudo, em doentes previamente submetidos a terapêutica (especialmente TPA e radioterapia) a percentagem de NEPC ronda os 10 a 17%. O NEPC induzido pela terapêutica é, assim, muito mais frequente que o NEPC *de novo*. Os fenómenos responsáveis pela evolução do adenocarcinoma da próstata para NEPC incluem alterações genéticas, epigenéticas e em várias vias moleculares. Estudos apontam que a transdiferenciação celular do tipo divergente é a explicação mais provável para a evolução temporal do CaP para NEPC. A compreensão destas alterações e da sua ordem cronológica, pode potenciar a descoberta de marcadores moleculares e de novas abordagens terapêuticas, atualmente insuficientes para esta variante do CaP.

Relativamente a fármacos desenvolvidos em resposta à melhor compreensão das resistências à TPA, foi descrita a niclosamida. Esta bloqueia a AR-V7, para além de poder vir a funcionar como um marcador de resistência à terapêutica. Tem um efeito sinérgico com a abiraterona e a sua reformulação para maior disponibilidade oral (niclosamida/PDMX1001) está a ser utilizada em vários ensaios clínicos.

Para o NEPC, está em estudo o alisertib, um inibidor da aurora kinase A. Embora a taxa de resposta não ser muito elevada, demonstrou a importância do bloqueio desta via nos pacientes com padrão de sobre-ativação da aurora kinase A.

Quanto a fármacos desenvolvidos em resposta a uma melhor compreensão de vias não dependentes do RA, foram descritos nesta dissertação o ODM-208, o Foxy-5 e a nanonoscapine.

O ODM-208 é um inibidor oral, não esteróide, selectivo da CYP11A1 que inibe todas as vias androgénicas e não androgénicas de esteróides. A insuficiência adrenal é um efeito adverso a ser tido em conta com possibilidade de tratamento eficaz sem a necessidade de suspender a terapêutica em curso. Os resultados da administração foram mais satisfatórios no grupo de pacientes com maiores taxas de mutação do RA.

O Foxy-5 é um péptido que mimetiza a proteína endógena Wnt5A, permitindo a redução, de forma significativa, da capacidade de metastização do tumor em ensaios pré-clínicos. A expressão de Wnt5A está associada a um melhor prognóstico, tendo esta terapêutica o objetivo de aumentar os níveis deste péptido. Ensaios clínicos de fase 1 concluíram que esta terapêutica era segura e bem tolerada.

A nanonoscapine é um derivado opióide com propriedades anti-tumorogénicas. Tem a desvantagem de possuir interações medicamentosas importantes e efeitos colaterais com o aumento da dose. Com recurso à nanotecnologia foi possível melhorar as suas características farmacocinéticas. O uso da nanoscapine procura inibir a proliferação tumoral, promovendo a apoptose.

Como marcadores de resistência à terapêutica encontra-se em estudo a variante de splicing AR-V7, encontrada em 75% dos pacientes com CaP metastizado. A progressão gradual dos valores de AR-V7 poderá permitir um acompanhamento do tumor e das alterações que este pode estar a sofrer. Os pacientes com a deteção desta variante beneficiam de uma alteração à terapêutica com a introdução de taxanos. De uma forma semelhante, a deteção da integrina $\alpha V\beta 3$, por norma ausente no adenocarcinoma, poderá ser utilizada como biomarcador da progressão do tumor com a presença da variante NEPC.

Como marcadores de resposta positiva à terapêutica estão em estudo o BAX e o Gli1, genes supressores de tumor que se desejam aumentados.

A compreensão dos mecanismos de resistência abre um caminho para a descoberta de novas terapêuticas, modificação de terapêuticas já utilizadas, assim como a descoberta de marcadores moleculares de resistência à terapêutica instituída, probabilidade de resposta a uma dada terapêutica, progressão da doença, recorrência da mesma e prognóstico.

Conclusão

Nos doentes com CaP tratados com supressão androgénica a longo prazo, as células tumorais tornam-se resistentes à TPA em 2-3 anos e o cancro progride, mesmo quando o nível de testosterona sérica é inferior ao nível de castração (CPRC). Uma parte significativa dos doentes com doença localizada, e virtualmente todos os doentes com CPRC, acabam por desenvolver mCPRC, com uma sobrevivência média de 16 a 18 meses.

Apesar dos avanços no diagnóstico, na monitorização e no tratamento do CaP, o CPRC é ainda uma doença incurável. Vários mecanismos moleculares explicam o desenvolvimento de resistências, sendo o eixo do RA o principal motor das mesmas e o principal alvo dos fármacos.

Os mecanismos não mediados pelo RA, têm ganho grande atenção nos últimos anos, principalmente na procura de terapêuticas e marcadores moleculares para o CPRC. A compreensão dos mecanismos de transdiferenciação neuroendócrina tem permitido a melhor compreensão deste processo com vista à obtenção de terapêutica para a variante do NEPC.

O tempo de sobrevivência até à metastização é hoje considerado um dado com grande interesse, não só científico, como para o próprio doente. O atraso da metastização relaciona-se com o aumento da sobrevivência global e da qualidade de vida do doente, sendo necessário estabelecer terapêuticas capazes de atrasar a metastização.

A procura dos mecanismos de resistência do CPRC, dependentes do RA ou independentes deste, e dos mecanismos de transdiferenciação neuroendócrina, ajudará à descoberta de novos alvos terapêuticos, assim como de marcadores de resposta à terapêutica ou de resistência a esta. com vista a oferecer ao paciente o melhor tratamento, em cada fase da sua doença.

Bibliografia

- 1- Cancer (IARC) TIA for R on. Global Cancer Observatory. Accessed October 10, 2024. <https://gco.iarc.fr/>
- 2- 2022 Update on Prostate Cancer Epidemiology and Risk Factors—A Systematic Review Bergengren, Oskar et al., *European Urology*, Volume 84, Issue 2, 191 - 206. Accessed October 10, 2024. [https://www.europeanurology.com/article/S0302-2838\(23\)02786-0/fulltext](https://www.europeanurology.com/article/S0302-2838(23)02786-0/fulltext)
- 3 - Amboss. Prostate Cancer. Published online 2023. Accessed October 10, 2024. <https://next.amboss.com/us/article/Ji0ssf?q=prostate+cancer#1ya2VM>
- 4 - Wang Y, Wang Y, Ci X, Choi SYC, Crea F, Lin D, Wang Y. Molecular events in neuroendocrine prostate cancer development. *Nat Rev Urol*. 2021 Oct;18(10):581-596. doi: 10.1038/s41585-021-00490-0
- 5- Cheng Q, Butler W, Zhou Y, Zhang H, Tang L, Perkinson K, Chen X, Jiang XS, McCall SJ, Inman BA, Huang J. Pre-existing Castration-resistant Prostate Cancer-like Cells in Primary Prostate Cancer Promote Resistance to Hormonal Therapy. *Eur Urol*. 2022 May;81(5):446-455. doi: 10.1016/j.eururo.2021.12.039
- 6 - Vellky JE, Ricke WA. Development and prevalence of castration-resistant prostate cancer subtypes. *Neoplasia*. 2020 Nov;22(11):566-575. doi: 10.1016/j.neo.2020.09.002
- 7 - Vellky JE, Ricke WA. Development and prevalence of castration-resistant prostate cancer subtypes. *Neoplasia*. 2020 Nov;22(11):566-575. doi: 10.1016/j.neo.2020.09.002
- 8 - Hakozaiki, Y., Yamada, Y., Kawai, T. *et al.* Time to castration resistance is a novel prognostic factor of cancer-specific survival in patients with nonmetastatic castration-resistant prostate cancer. *Sci Rep* 12, 16202 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20319-z>
- 9 - Denmeade SR, Isaacs JT. A history of prostate cancer treatment. *Nat Rev Cancer*. 2002 May;2(5):389-96. doi: 10.1038/nrc801
- 10 - Karantanos T, Corn PG, Thompson TC. Prostate cancer progression after androgen deprivation therapy: mechanisms of castrate resistance and novel therapeutic approaches. *Oncogene*. 2013 Dec 5;32(49):5501-11. doi: 10.1038/onc.2013.206
- 11 - Crowley F, Sterpi M, Buckley C, Margetich L, Handa S, Dovey Z. A Review of the Pathophysiological Mechanisms Underlying Castration-resistant Prostate Cancer. *Res Rep Urol*. 2021 Jun 30;13:457-472. doi: 10.2147/RRU.S264722
- 12 - Yehya A, Ghamlouche F, Zahwe A, Zeid Y, Wakimian K, Mukherji D, Abou-Kheir W. Drug resistance in metastatic castration-resistant prostate cancer: an update on the status quo. *Cancer Drug Resist*. 2022 Jun 22;5(3):667-690. doi: 10.20517/cdr.2022.15

- 13 - SNS 24. Doenças oncológicas - rastreios oncológicos. Accessed March 3, 2025. <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-oncologicas/rastreios-oncologicos/>
- 14 - Serviço Nacional de Saúde. Norma nº060/2011 atualizada a 13/07/2017. Prescrição e determinação do Antígeno Específico da Próstata - PSA. Accessed March 3, 2025. <https://normas.dgs.min-saude.pt/2011/12/29/prescricao-e-determinacao-do-antigenio-especifico-da-prostata-psa/>
- 15 - Davey RA, Grossmann M. Androgen Receptor Structure, Function and Biology: From Bench to Bedside. *Clin Biochem Rev.* 2016 Feb;37(1):3-15. PMID: 27057074; PMCID: PMC4810760.
- 16 - Spetsieris N, Boukovala M, Patsakis G, Alafis I, Efstathiou E. Neuroendocrine and Aggressive-Variant Prostate Cancer. *Cancers (Basel).* 2020 Dec 16;12(12):3792. doi: 10.3390/cancers12123792.
- 17 - Hatano K, Nonomura N. Systemic Therapies for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: An Updated Review. *World J Mens Health.* 2023 Oct;41(4):769-784. doi: 10.5534/wjmh.220200
- 18 - Dong L, Zieren RC, Xue W, de Reijke TM, Pienta KJ. Metastatic prostate cancer remains incurable, why? *Asian J Urol.* 2019 Jan;6(1):26-41. doi: 10.1016/j.ajur.2018.11.005
- 19 - Silva, Daniela CB. (2022). *Epigenetic regulation of non-coding RNAs in prostate cancer*. Tese de doutoramento do Programa Doutoral em Patologia e Genética Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/149006/2/620210.pdf>
- 20 - Faria, Carlos AS. (2017). *Tratamento do Carcinoma da Próstata Resistente à Castração*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Medicina, Universidade da Beira Interior. https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/8039/1/5419_10896.pdf
- 21 - Parikh, M., Liu, C., Wu, CY. *et al.* Phase Ib trial of reformulated niclosamide with abiraterone/prednisone in men with castration-resistant prostate cancer. *Sci Rep* **11**, 6377 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85969-x>
- 22 - Crowley F, Sterpi M, Buckley C, Margetich L, Handa S, Dovey Z. A Review of the Pathophysiological Mechanisms Underlying Castration-resistant Prostate Cancer. *Res Rep Urol.* 2021 Jun 30;13:457-472. doi: 10.2147/RRU.S264722
- 23- Yun YR, Won JE, Jeon E, Lee S, Kang W, Jo H, Jang JH, Shin US, Kim HW. Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. *J Tissue Eng.* 2010 Nov 7;2010:218142. doi: 10.4061/2010/218142

- 24- The Ras/Raf/MAPK Pathway. Molina, Julian R. et al. *Journal of Thoracic Oncology*, Volume 1, Issue 1, 7 - 9. Accessed January 20, 2025. [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(15\)31506-9/fulltext](https://www.jto.org/article/S1556-0864(15)31506-9/fulltext)
- 25 - Liu, J., Xiao, Q., Xiao, J. et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Sig Transduct Target Ther* 7, 3 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00762-6>
- 26 - Kelsey, R. Foxy-5 in prostate cancer model. *Nat Rev Urol* 14, 638 (2017). <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.160>
- 27- Canesin G, Evans-Axelsson S, Hellsten R, Krzyzanowska A, Prasad CP, Bjartell A, Andersson T. Treatment with the WNT5A-mimicking peptide Foxy-5 effectively reduces the metastatic spread of WNT5A-low prostate cancer cells in an orthotopic mouse model. *PLoS One*. 2017 Sep 8;12(9):e0184418. doi: 10.1371/journal.pone.0184418
- 28 - Associação Portuguesa de Urologia. Cancro da Próstata não Metalizado Resistente à Castração. Accessed, March 21, 2025. <https://apurologia.pt/wp-content/uploads/2019/10/canc-prost-n-metas-resist-cast.pdf>
- 29 - Jorge E. Cortes, Ralf Gutzmer, Mark W. Kieran, James A. Solomon, Hedgehog signaling inhibitors in solid and hematological cancers, *Cancer Treatment Reviews*, Volume 76, 2019, Pages 41-50, ISSN 0305-7372, <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2019.04.005>
- 30- Pinto, David BC. (2017) *Circulating MicroRNAs as Markers of Prostate Cancer Progression: a Time-based Approach*. Tese de mestrado para a obtenção do grau de Mestre em Oncologia, especialização em Oncologia Molecular. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. https://sigarra.up.pt/faup/en/pub_geral.show_file?pi_doc_id=146606
- 31 - Stafford MYC, McKenna DJ. MiR-182 Is Upregulated in Prostate Cancer and Contributes to Tumor Progression by Targeting MITF. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 17;24(3):1824. doi: 10.3390/ijms24031824
- 32 - Huang, Zh., Du, Yp., Wen, Jt. et al. snoRNAs: functions and mechanisms in biological processes, and roles in tumor pathophysiology. *Cell Death Discov*. 8, 259 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41420-022-01056-8>
- 33- Tian, Z., Karsh, LI, Nissenblatt, MJ, Canfield, SE et al. Androgen Receptor Splice Variant, AR-V7, as a Biomarker of Resistance to Androgen Axis-Targeted Therapies in Advanced Prostate Cancer. *Clinical Genitourinary Cancer*, Volume 18, No. 1, 1-10, 2019, <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2019.09.015>
- 34 - Xie W, Ravi P, Buyse M, Halabi S, Kantoff P, Sartor O, Soule H, Clarke N, Dignam J, James N, Fizazi K, Gillessen S, Mottet N, Murphy L, Parulekar W, Sandler H, Tombal B, Williams S, Sweeney CJ. Validation of metastasis-free survival as a surrogate endpoint for overall survival in localized

prostate cancer in the era of docetaxel for castration-resistant prostate cancer. *Ann Oncol*. 2024 Mar;35(3):285-292. doi: 10.1016/j.annonc.2023.11.017

35 - Vellky JE, Ricke WA. Development and prevalence of castration-resistant prostate cancer subtypes. *Neoplasia*. 2020 Nov;22(11):566-575. doi: 10.1016/j.neo.2020.09.002

36 - Cheng Q, Butler W, Zhou Y, Zhang H, Tang L, Perkinson K, Chen X, Jiang XS, McCall SJ, Inman BA, Huang J. Pre-existing Castration-resistant Prostate Cancer-like Cells in Primary Prostate Cancer Promote Resistance to Hormonal Therapy. *Eur Urol*. 2022 May;81(5):446-455. doi: 10.1016/j.eururo.2021.12.039

37 - Wang Y, Wang Y, Ci X, Choi SYC, Crea F, Lin D, Wang Y. Molecular events in neuroendocrine prostate cancer development. *Nat Rev Urol*. 2021 Oct;18(10):581-596. doi: 10.1038/s41585-021-00490-0

38 - Du, R., Huang, C., Liu, K. *et al*. Targeting AURKA in Cancer: molecular mechanisms and opportunities for Cancer therapy. *Mol Cancer* 20, 15 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01305-3>

39 - Sharp A, Coleman I, Yuan W, Sprenger C, Dolling D, Rodrigues DN, Russo JW, Figueiredo I, Bertan C, Seed G, Riisnaes R, Uo T, Neeb A, Welti J, Morrissey C, Carreira S, Luo J, Nelson PS, Balk SP, True LD, de Bono JS, Plymate SR. Androgen receptor splice variant-7 expression emerges with castration resistance in prostate cancer. *J Clin Invest*. 2019 Jan 2;129(1):192-208. doi: 10.1172/JCI122819

40 - Fizazi K, Bernard-Tessier A, Roubaud G, et al. Targeted Inhibition of CYP11A1 in Castration-Resistant Prostate Cancer [published correction appears in *NEJM Evid*. 2024 Feb;3(2):EVIDx2300368. doi: 10.1056/EVIDx2300368.]. *NEJM Evid*. 2024;3(1):EVIDoa2300171. doi:10.1056/EVIDoa2300171

41- American Cancer Society. Prostate Cancer - Treating Prostate Cancer - Immunotherapy for Prostate Cancer. Accessed April 4, 2025. <https://www.cancer.org/cancer/types/prostate-cancer/treating/vaccine-treatment.html>

42 - Associação Portuguesa de Urologia. Recomendações para a identificação e gestão de doentes com carcinoma da próstata resistente à castração não metastizado. Accessed April 4, 2025. https://apurologia.pt/wp-content/uploads/2023/06/SEPARATA_APU_VF.pdf

43 - 9P Positive ad hoc results from neoadjuvant Foxy-5 treatment of colon cancer patients in the ongoing phase II NeoFox study. Salazar Soler, R. et al. *Annals of Oncology*, Volume 35, S6. Accessed, April 13, 2025. [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(24\)00159-5/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(24)00159-5/fulltext)

- 44 - Nazari, Mohammad & Heidarian, Ronak & Masoudnia, Mina & Askari Dastjerdi, Raana & Ghaedi, Parnian & Taleahmad, Sara. (2023). Nanonoscipine: A Promising Treatment for Prostate Cancer Through Targeting GLI1 and BAX Expression. 10.21203/rs.3.rs-3757868/v1
- 45 - American Cancer Society. Prostate Cancer - Treating Prostate Cancer - Hormone Therapy. Accessed, April 13, 2025. <https://www.cancer.org/cancer/types/prostate-cancer/treating/hormone-therapy.html>
- 46 - Wei, X.X., Kwak, L., Hamid, A. *et al.* Outcomes in men with metastatic castration-resistant prostate cancer who received sipuleucel-T and no immediate subsequent therapy: experience at Dana Farber and in the PROCEED Registry. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 25, 314–319 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41391-022-00493-x>
- 47 - American Cancer Society. Prostate Cancer - Targeted Drug Therapy for Prostate Cancer. Accessed, April 23, 2025. <https://www.cancer.org/cancer/types/prostate-cancer/treating/targeted-therapy.html>
- 48 - Stewart MD, Merino Vega D, Arend RC, et al. Homologous Recombination Deficiency: Concepts, Definitions, and Assays. *Oncologist*. 2022;27(3):167-174. doi:10.1093/oncolo/oyab053
- 49 - Verrillo CE, Quaglia F, Shields CD, et al. Expression of the $\alpha V\beta 3$ integrin affects prostate cancer sEV cargo and density and promotes sEV pro-tumorigenic activity in vivo through a GPI-anchored receptor, NgR2. *J Extracell Vesicles*. 2024;13(8):e12482. doi:10.1002/jev2.12482
- 50 - Kafka M, Gruber R, Neuwirt H, Ladurner M, Eder IE. Long-Term Treatment with Simvastatin Leads to Reduced Migration Capacity of Prostate Cancer Cells. *Biomedicines*. 2022 Dec 22;11(1):29. doi: 10.3390/biomedicines11010029. PMID: 36672537; PMCID: PMC9855777.
- 51 - Bergonzini C, Kroese K, Zweemer AJM and Danen EHJ (2022) Targeting Integrins for Cancer Therapy - Disappointments and Opportunities. *Front. Cell Dev. Biol.* 10:863850. doi: 10.3389/fcell.2022.863850
- 52 - Deng S, Wang C, Wang Y, et al. Ectopic JAK-STAT activation enables the transition to a stem-like and multilineage state conferring AR-targeted therapy resistance *Nat Cancer*. 2022;3(9):1071-1087. doi:10.1038/s43018-022-00431-9
- 53 - Yi C, Wan X, Zhang Y, Fu F, Zhao C, Qin R, Wu H, Li Y, Huang Y. SNORA42 enhances prostate cancer cell viability, migration and EMT and is correlated with prostate cancer poor prognosis. *Int J Biochem Cell Biol*. 2018 Sep;102:138-150. doi: 10.1016/j.biocel.2018.07.009. Epub 2018 Jul 24. PMID: 30053504.