

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA**

**EDUARDO MIGUEL FEBRONIO**

**Análise farmacocinética pela Ressonância magnética (RM) para detecção de hipóxia tumoral em neoplasia de próstata**

Ribeirão Preto  
2024



EDUARDO MIGUEL FEBRONIO

**Análise farmacocinética pela Ressonância magnética (RM) para detecção de hipóxia tumoral em neoplasia de próstata**

**Versão Corrigida**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Valdair Francisco Muglia

Ribeirão Preto  
2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo na publicação  
Biblioteca  
Faculdade de medicina de Ribeirão Preto, departamento de Clínica Médica

## FICHA CATALOGRÁFICA

Febronio, Eduardo Miguel

Análise farmacocinética pela Ressonância magnética (RM) para detecção de hipóxia tumoral em neoplasia de próstata / Eduardo Miguel Febronio; orientador, Valdir Francisco Muglia. – Ribeirão Preto, 2024.

67 p.: il.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica/ Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/ Universidade de São Paulo.

Bibliografia

Versão corrigida

1. Ressonância Magnética. 2. Hipóxia Tumoral. 3. Câncer de Próstata. 4. Análise Farmacocinética. 5. Modelos Quantitativos de Perfusão T1. I. Muglia, Valdir Francisco. II. Título.

CDD 21.ed. – 610

Febrônio, E. M. **Análise farmacocinética pela Ressonância magnética (RM) para detecção de hipóxia tumoral em neoplasia de próstata.** Tese (Doutorado em medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Aprovado em: 17/05/2024

Banca Examinadora

Prof. Dr.	Valdair Francisco Muglia
Instituição:	FMRP-USP
Julgamento:	Aprovado

Prof. Dr.	Fernando Chahud
Instituição:	FMRP-USP
Julgamento:	Aprovado

Profa. Dra.	Fernanda Maris Peria
Instituição:	FMRP-USP
Julgamento:	Aprovado

Prof. Dr.	Fabiano Rubião Lucchesi
Instituição:	Fundação Pio-XII – Hospital do Câncer de Barretos
Julgamento:	Aprovado



Dedico este trabalho ao meu filho Raul, à minha ex-esposa, Roberta, e aos meus pais, Angélica e Ernesto, com amor, admiração e gratidão pelo apoio, carinho e presença durante o longo período de sua elaboração.





## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Valdair, que ao longo dos anos de convivência, muito me ensinou, contribuindo para meu crescimento científico e intelectual e pela sua paciência e perseverança para a conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Fernando Chahud, que possibilitou a análise patológica dos casos após diversos imprevistos e trágicos eventos que permearam o processo de elaboração neste processo.

À colega de doutorado Olayemi Alagbe, por contribuir de maneira decisiva para a elaboração da introdução do presente trabalho, cuja colaboração, conseqüentemente, impacta na discussão final.

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, pela oportunidade de realização desse curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001



## RESUMO

Febrônio, E. M. **Análise farmacocinética pela Ressonância magnética (RM) para detecção de hipóxia tumoral em neoplasia de próstata.** Tese (Doutorado em medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

O câncer de próstata consiste em uma das neoplasias mais comuns em homens, com aumento de incidência nas últimas décadas. Enquanto a maior parte dos tumores tem curso indolente, alguns outros apresentam comportamento mais agressivo, sendo assim, encontrar biomarcadores que possam demonstrar agressividade de maneira não invasiva, seria de grande valia. Estudos demonstraram que a hipóxia está relacionada a maior agressividade, dessa maneira, o presente trabalho teve como objetivo investigar a associação entre hipóxia tumoral, avaliada por meio de coloração específica, e a agressividade no câncer de próstata usando modelos farmacocinético por imagem derivados de Tofts, para prever a agressividade tumoral. Para essa finalidade, de janeiro de 2019 a abril de 2021, foi realizada busca retrospectiva de pacientes com câncer de próstata confirmado e exame de ressonância magnética prévio. Após exclusões, 57 pacientes consecutivos foram incluídos. Dados dos pacientes, incluindo variáveis demográficas, laboratoriais e patológicas, foram coletados. A aquisição de imagens de ressonância magnética (RM) seguiu as diretrizes do PI-RADS, abrangendo sequências ponderadas em T2, difusão (DWI) e imagens com contraste dinâmico (DCE). Um radiologista abdominal experiente conduziu análises morfológicas e quantitativas de RM, avaliando parâmetros como tamanho da lesão, valores do Coeficiente de Difusão Aparente (ADC) e farmacocinética de Tofts. A análise histopatológica incluiu o escores internacionais e a imuno-histoquímica do marcador de hipóxia. Como resultados, não houve diferenças demográficas e de imagem significativas entre tumores hipóxicos e não hipóxicos, exceto pelos níveis elevados de Antígeno Específico da Próstata (PSA) nos últimos e ADC normalizado reduzido nos primeiros. Avaliações morfológicas revelaram lesões maiores no grupo de hipóxia. Houve uma associação positiva com hipóxia, sem prever entretanto independentemente lesões de alto risco, concluindo-se que a análise farmacocinética pelo modelo de Tofts esteve associada a tumores com hipóxia, porém não sendo um parâmetro preditor independente de tumores mais agressivos. Estudos futuros, com um maior número de pacientes, multi-institucionais e prospectivos, são necessários para verificar essa possível associação.

**Palavras-chave:** Ressonância Magnética; Hipóxia Tumoral; Câncer de Próstata; Análise Farmacocinética; Modelos Quantitativos de Perfusão T1.



## ABSTRACT

Febronio, E. M. **Pharmacokinetic analysis by Magnetic Resonance Imaging (MRI) for detection of tumor hypoxia in prostate cancer.** Tese (Doutorado em medicina) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Prostate cancer is one of the most common neoplasms in men, with an increased incidence in recent decades. While most tumors have an indolent course, some others show more aggressive behavior; therefore, finding biomarkers that can demonstrate aggressiveness in a non-invasive way would be of great value. Studies have shown that hypoxia is related to worse behavior, and thus, the present work aimed to investigate the association between tumor hypoxia, evaluated through specific staining, and aggressiveness in prostate cancer using pharmacokinetic models derived from Tofts, to predict tumor aggressiveness. For this purpose, from January 2019 to April 2021, a retrospective search of patients with confirmed prostate cancer and prior magnetic resonance imaging examination was performed. After exclusions, 57 consecutive patients were included. Patient data, including demographic, laboratory, and pathological variables, were collected. The acquisition of magnetic resonance imaging (MRI) followed PI-RADS guidelines, covering T2-weighted sequences, diffusion (DWI), and dynamic contrast images (DCE). An experienced abdominal radiologist conducted morphological and quantitative MRI analyses, evaluating parameters such as lesion size, Apparent Diffusion Coefficient values (ADC), and Tofts pharmacokinetics. Histopathological analysis included international scores and immunohistochemistry for the hypoxia marker. As a result, there were no significant demographic and imaging differences between hypoxic and non-hypoxic tumors, except for the elevated levels of Prostate-Specific Antigen (PSA) in the latter and reduced normalized ADC in the former. Morphological assessments revealed larger lesions in the hypoxia group. There was a positive association with hypoxia, without independently predicting high-risk lesions, concluding that pharmacokinetic analysis by the Tofts model was associated with hypoxic tumors but not an independent predictor parameter of more aggressive tumors. Future studies, with a larger number of patients, multi-institutional and prospective, are necessary to verify this possible association.

**Keywords:** Magnetic Resonance Imaging; Tumor Hypoxia; Prostate cancer; Pharmacokinetic Analysis; Quantitative T1 Perfusion Models.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Padrões de Gleason .....	22
Figura 2 -	Fluxograma de exclusão de exames para este estudo .....	34
Figura 3 -	Diagrama do mapa de setores, versão 2.1 PI-RADS .....	36
Figura 4A -	Mapa ADC axial .....	37
Figura 4B -	Imagem inicial de uma aquisição DCE .....	38
Figura 4C -	Curvas de intensidade temporal .....	38
Figura 5A -	Coloração por Pimonidazol, escore imunohistoquímico fraco.....	40
Figura 5B -	Coloração por Pimonidazol, escore imunohistoquímico forte.....	40





## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Classificação de risco ISUP, com base na escala de Gleason .....	23
Tabela 2 -	Classificação de grupos prognósticos de Cambridge .....	23
Tabela 3 -	Parâmetros Tofts .....	29
Tabela 4 -	Intensidade de expressão imunohistoquímica .....	41
Tabela 5 -	Escores imunorreativos .....	41
Tabela 6 -	Dados descritivos por variável .....	43
Tabela 7 -	Distribuição da amostra por classificação PI-RADS e tipo de curva de perfusão .....	43
Tabela 8 -	Distribuição percentual dos achados de patologia por escore .....	44
Tabela 9 -	Dados patológicos para ambos os grupos .....	45
Tabela 10 -	Dados demográficos e clínicos para ambos os grupos, com e sem hipóxia .....	45
Tabela 11 -	Parâmetros de RM para ambos os grupos, com e sem hipóxia .....	46
Tabela 12 -	Resultados da análise de regressão de Poisson .....	46
Tabela 13 -	Comparação entre as variáveis em pacientes com risco alto e muito alto .....	47
Tabela 14 -	Comparação das variáveis em pacientes com risco alto e muito alto no grupo sem hipóxia .....	47
Tabela 15 -	Comparação das variáveis em pacientes com risco alto e muito alto no grupo com hipóxia .....	48



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ADC</b>	Coeficiente Aparente de Difusão
<b>BOLD</b>	Blood Oxygenation Level Dependent
<b>CP</b>	Câncer de próstata
<b>CPG</b>	Classificação Prognóstica de Cambridge
<b>DCE</b>	Dynamic Contrast Enhancement
<b>dPSA</b>	Densidade de PSA
<b>GBM</b>	Glioblastoma Multiforme
<b>HC-FMRP-USP</b>	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
<b>HIF-1</b>	Fator Induzível pela Hipóxia-1
<b>IRS</b>	Escore Imunorreativo
<b>ISUP</b>	Sociedade Internacional de Patologia Urológica
<b>IVIM</b>	Imagem ponderada em difusão por movimento incoerente intravoxel
<b>LPSNC</b>	Linfoma Primário do Sistema Nervoso Central
<b>NCS</b>	Neoplasia Clinicamente Significativa
<b>PSA</b>	Antígeno Prostático Específico
<b>RM</b>	Ressonância Magnética
<b>US</b>	Ultrassonografia
<b>USTR</b>	Ultrassonografia Transretal



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	21
2	OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS.....	31
2.1	Primário .....	31
2.2	Secundários .....	31
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	33
3.1	Desenho do estudo .....	33
3.2	Critérios de Inclusão.....	33
3.3	Critérios de Exclusão.....	33
3.4	Questões éticas.....	34
3.5	Análise dos dados .....	34
3.5.1	Dados epidemiológicos e laboratoriais .....	35
3.5.2	Dados da Ressonância Magnética .....	35
3.6	Padrão de referência .....	39
3.6.1	Estudos de patologia – biópsia ou cirurgia .....	39
3.6.2	Resultado dos marcadores histológicos para hipóxia tumoral .....	39
3.7	Análise estatística .....	41
4	RESULTADOS.....	43
4.1	Análise descritiva dos dados.....	43
4.2	Análise da relação entre variáveis de interesse e hipóxia .....	44
4.3	Parâmetros de Ressonância Magnética e Hipóxia .....	45
5	DISCUSSÃO .....	49
6	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
	APÊNDICES .....	69



## 1 INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CP) é a neoplasia mais prevalente entre os homens e a segunda causa de morte por câncer na população masculina no mundo, com relevantes impactos sociais e econômicos (NACIONAL CANCER INSTITUTE, 2015). Sua origem ocorre nas células epiteliais glandulares e seus principais padrões histológicos são os adenocarcinomas dos tipos acinar usual (HUMPHREY, 2017).

Globalmente, a incidência de CP aumentou de cerca de 1,3 milhão, em 2018, para cerca de 1,5 milhão de novos casos relatados, em 2020 (RAWLA, 2019), com cerca de 375.304 mortes relacionadas ao CP (WANG, 2022). Observa-se maior prevalência de casos no mundo ocidental, sendo que a diferença na taxa de incidência mundial tem sido principalmente atribuída às diferenças no uso de testes diagnósticos (RAWLA, 2019). Essa incidência ainda é menor em homens brancos em comparação a homens afro-americanos, sendo que a mortalidade em homens afro-americanos é também cerca de o dobro da dos em homens brancos (RAWLA, 2019).

No Brasil, o câncer de próstata é o câncer não dermatológico mais prevalente em homens, com uma incidência de 68.000 casos novos entre 2018 e 2019 e que, apesar desses números, possui a menor taxa de mortalidade entre os países da América Latina (ALCÂNTARA *et al.*, 2012).

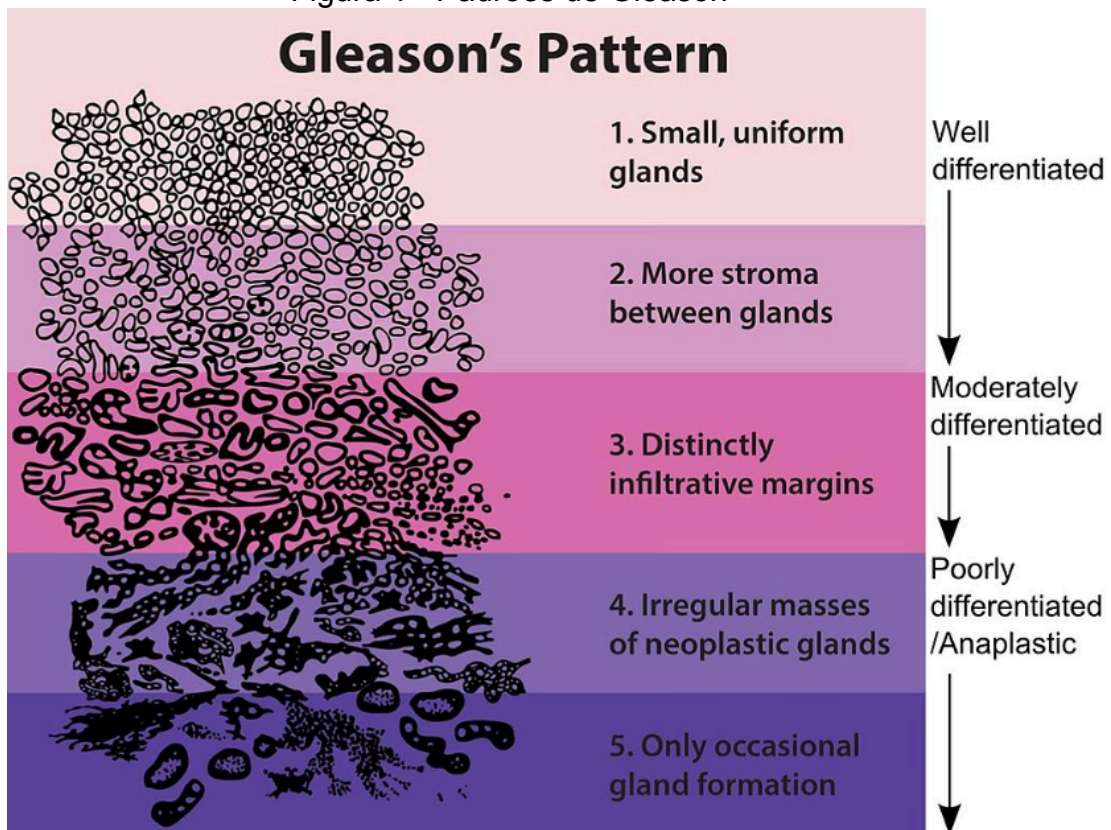
No contexto atual, a definição do diagnóstico desse câncer é estabelecida por meio do estudo histopatológico e, segundo os critérios da sociedade europeia de urologia, o rastreamento populacional do câncer de próstata é controverso, além de não recomendado na maior parte dos países do globo (MOTTET *et al.*, 2021), uma vez que se associa ao aumento na taxa de sobrediagnóstico, consequentemente de lesões mais localizadas e menos avançadas ou agressivas sem, entretanto, determinar um aumento significativo nas taxas de sobrevida ou de benefícios associados (MOTTET *et al.*, 2021).

Os padrões comuns de crescimento do adenocarcinoma prostático formam a base da classificação de Gleason, atualizada pela Sociedade Internacional de Patologia Urológica (ISUP) em 2015 (EPSTEIN *et al.*, 2016).

O parâmetro patológico (escore de Gleason) baseia-se no conceito de que padrões Gleason 1 e 2 envolvem glândulas malignas únicas, separadas e bem formadas, ou podem estar aglomeradas ou nodulares e são caracteristicamente

detectadas na zona de transição. O padrão de Gleason 3 pode apresentar glândulas aglomeradas ou em desordem, infiltrando-se no estroma, enquanto que os padrões de Gleason 4 e 5 são de alto grau e mostram infiltração estromal. Ainda com relação aos padrões mais avançados, o Gleason 4 apresenta glândulas fusiformes mal formadas, enquanto o padrão Gleason 5 mostra folhas de tumores, células individuais, cordões, disposições lineares e ninhos sólidos (EPSTEIN *et al.*, 2016; GOTTIPATI *et al.*, 2012). Um esquema gráfico pode ser observado na Figura 1.

Figura 1 - Padrões de Gleason



Fonte: Adaptado de Wikimedia Commons, 2024.

Com base na leitura patológica realizada, o escore final de Gleason é definido pela soma dos dois padrões mais frequentes observados no material patológico, usualmente obtido por biópsia ou mesmo em espécimes de prostatectomia e, seguindo esse conceito, as diretrizes dos consensos, realizados pela ISUP, com a última atualização em 2019 (VAN LEENDERS *et al.*, 2020), estabelecem que as neoplasias prostáticas podem ser divididas em grupos de risco conforme descritas na Tabela 1.



Tabela 1 - Classificação de risco ISUP, com base na escala de Gleason

<b>Graduação</b>	<b>Características</b>
<b>Grau 1</b>	Classificação de Gleason = 6
<b>Grau 2</b>	Classificação de Gleason = 7 (3+4)
<b>Grau 3</b>	Classificação de Gleason = 7 (4+3)
<b>Grau 4</b>	Classificação de Gleason = 8
<b>Grau 5</b>	Classificação de Gleason 9 ou 10

Fonte: Braunhut *et al.*, 2018.

Mais recentemente, ainda considerando classificações de risco, foi estabelecida a classificação de grupos de prognóstico de Cambridge (CPG) (GNANAPRAGASAM *et al.*, 2018). O CPG consiste na divisão de 5 grupos estratificados pelo escore de Gleason, valores do antígeno prostático específico (PSA) e/ou estágio tumoral TNM, sendo esses grupos assim descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Classificação de grupos prognósticos de Cambridge

<b>CPG</b>	<b>Risco</b>	<b>Características</b>
<b>CPG 1</b>	muito baixo	ISUP 1 <b>E</b> PSA < 10ng/ml <b>E</b> estágio T 1 ou T2
<b>CPG 2</b>	baixo	ISUP 2 <b>OU</b> PSA entre 10 e 20 ng/ml <b>E</b> estágio T1 ou T2
<b>CPG 3</b>	intermediário	ISUP 2 <b>E</b> PSA entre 10 e 20 ng/ml <b>E</b> estágio T1 ou T2; ou ISUP 3 <b>E</b> estágio T1 ou T2
<b>CPG 4</b>	Alto	apenas um dos seguintes fatores positivos: ISUP 4, PSA > 20 ng/ml, estágio T3
<b>CPG 5</b>	muito alto	2 ou mais dos seguintes fatores positivos: ISUP 4, PSA > 20 ng/ml, estágio T3; ou ISUP 5; ou estágio T4

Fonte: Adaptado de Gnanapragasam *et al.*, 2018.

Quanto aos marcadores laboratoriais, a dosagem sérica do PSA é o melhor fator preditor de doença, superando ainda o exame digital retal, sendo o PSA um parâmetro contínuo, que quanto maior o valor, maior a chance de existência de neoplasia (MOTTET *et al.*, 2021).

Ainda em se tratando do diagnóstico, a imagem por Ressonância Magnética Multiparamétrica transformou-se em uma importante ferramenta de otimização com sensibilidade e especificidade agregadas, superando a biópsia aleatória sistemática na detecção de neoplasias de mais alto grau (MOTTET *et al.*, 2021), sendo que o paciente que se enquadre no contexto de alta suspeita para neoplasia deve ser submetido a um procedimento de biópsia guiada por ultrassonografia, transretal ou transperineal (USTR) (JOHANSSON *et al.*, 2004). Considerando-se que, atualmente, a união das duas ferramentas, valores de PSA e classificação PI-RADS por estudo de RM, ampliam significativamente a definição dos pacientes que realmente devam

ser submetidos a uma biópsia, ou seja, pacientes com suspeita para neoplasia clinicamente significativa (NCS).

Uma vez que o paciente tenha sido submetido a um exame de RM com suspeita positiva para NCS, encoraja-se atualmente a realização de procedimento de “biópsia por fusão”, seja ela realizada por fusão cognitiva, em que o médico que realiza o estudo associa os achados de RM a um exame de próstata por ecografia, ou mesmo por fusão computadorizada entre as imagens de US e RM (MOTTET *et al.*, 2021).

Nesse último caso, as imagens obtidas em estudo de RM são utilizadas para guiar em tempo real a realização de procedimentos de biópsia dirigida (fragmentos da área de alteração à RM) nos segmentos que foram identificados como suspeitos para neoplasia clinicamente significativa previamente (MOTTET *et al.*, 2021).

Entende-se, assim, que ocorreu uma importante mudança no paradigma da abordagem das neoplasias de próstata clinicamente relevantes, submetendo apenas os casos que se beneficiem aos procedimentos mais invasivos, como a prostatectomia.

A partir do diagnóstico definitivo, a conduta terapêutica é definida pela histologia obtida por meio da biópsia, conforme já citado, e pelo estadiamento clínico, variando entre vigilância ativa, prostatectomia, hormonioterapia e/ou radioterapia.

Apesar dos avanços técnicos nas opções de tratamento, aproximadamente 25% dos pacientes desenvolverão doença progressiva, justificando a importância do melhor conhecimento dos fatores biológicos responsáveis pela progressão ou pela resposta adequada como pré-requisitos para estabelecer novas estratégias terapêuticas e melhorar os resultados clínicos (KUBAN *et al.*, 2011).

O fenótipo e o curso da doença abrangem um amplo espectro que parte desde um tumor indolente até um carcinoma metastático agressivo, sendo já sabido que, entre os fatores que se relacionam a prognóstico ruim, a hipóxia tumoral está associada a doença agressiva e resistência ao tratamento, notadamente por radioterapia (SMITH *et al.*, 2000; BRASSELL *et al.*, 2011) e, desse modo, um biomarcador confiável para hipóxia seria de inestimável valor para a tomada de decisão clínica.

Os trabalhos na área de Hipóxia tumoral ainda são escassos, uma vez que há muitas falhas no conhecimento acerca da relação entre hipóxia tumoral e evolução

natural do câncer de próstata, o que justifica o interesse constante e crescente no tema.

Em pacientes com câncer, a hipóxia tem sido identificada como um fator ambiental de estresse associado a resistência à radioterapia e piores prognósticos (DAI *et al.*, 2011), sendo que, conforme o câncer progride, as células tumorais adquirem a habilidade de se adaptar a ambientes de hipóxia pela formação de novos vasos, bem como migrando para outros vasos e invadindo-os (CHAN; GIACCIA, 2007; CHAUDARY; HILL, 2007).

Do ponto de vista conceitual, a hipóxia consiste em um déficit de oxigenação de tecidos, usualmente ocorrendo em lesões neoplásicas malignas e isso ocorre, em geral, quando esses tecidos crescem em uma medida desproporcional ao suprimento sanguíneo local, sendo que, à medida que o tumor cresce, a distância entre as células e os vasos sanguíneos aumenta, reduzindo a difusão de oxigênio para as células com uma estimativa de que tecidos hipóxicos tenham oxigenação 1% a 2% inferior ao ser observado em tecidos normais correspondentes (MUZ *et al.*, 2015).

A hipóxia tumoral pode ser aguda ou crônica. A hipóxia crônica, também conhecida como hipóxia limitada por difusão, ocorre devido à “distância” aumentada entre as células necróticas e os vasos sanguíneos, o que leva à falta de oxigênio (ROCKWELL *et al.*, 2009). Já a hipóxia aguda consiste em exposição abrupta e de curto prazo das células tumorais à oclusão dos vasos sanguíneos, que dura vários minutos. Também chamada de hipóxia limitada por perfusão, ela é relacionada ao extravasamento sanguíneo extravascular, o que causa aumento da pressão intratumoral e pode levar a mudanças súbitas e intermitentes de fluxo, resultando em falta aguda de oxigênio e nutrientes. Esse processo é reversível e cíclico, determinando flutuações dos níveis de oxigênio (ROCKWELL *et al.*, 2009).

Alguns estudos mostraram que células tumorais conseguem sobreviver devido a um mecanismo de autofagia, o qual consiste em adaptação apoptótica e metabólica das células, alcançada pela diminuição do metabolismo oxidativo (MUZ *et al.*, 2015). Outros estudos mostraram ainda que a hipóxia cíclica leva à progressão do tumor devido à seleção de células reativas à falta de oxigênio no ambiente tumoral (MUZ *et al.*, 2015).

É também bem estabelecido que tumores com mais de 1 cm<sup>3</sup> fiquem submetidos a tensões de oxigênio flutuantes e estejam expostos tanto a hipóxia

aguda quanto crônica, o que sugere que o tamanho do tumor pode influenciar na hipóxia tumoral JANSSEN *et al.*, 2005; MOVSAS *et al.*, 2001).

Tanto a hipóxia aguda quanto a crônica aumentam a radio resistência do câncer e a principal via de sinalização intracelular induzida pela hipóxia é chamada de fator induzível pela hipóxia 1 (HIF-1) (HSIEH *et al.*, 2010; KATO *et al.*, 2011).

Alguns ensaios demonstram ainda que a hipóxia aumenta a habilidade metastática (HILL *et al.*, 2009) de algumas neoplasias, sendo que o HIF-1 é um fator de transcrição que atua como marcador da oxigenação e da resposta tumoral. Acredita-se ainda que esse marcador tenha papel tanto em ambientes aeróbicos, como anaeróbicos (GIACCIA *et al.*, 2003).

Em ambientes de hipóxia, a fração alfa do HIF-1 rapidamente se estabiliza e ativa funcionalmente, sendo que ela é mediadora chave de genes envolvidos em angiogênese, metabolismo, sobrevivência e invasividade de células tumorais (SEMENZA, 2003).

Além de representar um bom marcador prognóstico, como já exposto, o HIF-1 pode servir como um bom alvo para desenvolvimento de drogas específicas (GIACCIA *et al.*, 2003).

Esse mesmo marcador tem se mostrado ativado em células neoplásicas prostáticas em comparação ao epitélio normal (ZHONG *et al.*, 1999), sugerindo um papel do HIF-1 como um bom biomarcador para lesões pré-malignas (KIMBRO; SIMONS, 2006), sendo que sua sobreexpressão é um evento altamente correlacionado a risco de metástases e menor tempo para progressão (VERGIS *et al.*, 2008).

Milosevic *et al.* (2012) realizaram um estudo clínico envolvendo a medição direta dos níveis de oxigênio no tumor de próstata antes do tratamento e concluíram que a hipóxia é preditor independente de recidiva bioquímica após radioterapia isolada ou em combinação com hormonioterapia e que a relação entre hipóxia e recorrência está relacionada ao tempo, sendo maior nos 4 primeiros anos pós-tratamento (MILOSEVIC *et al.*, 2012).

Em outro estudo, publicado por Ragnum *et al.* (2015), entende-se que a coloração com pimonidazol era associada a um fenótipo hipóxico agressivo da neoplasia de próstata, caracterizado por regulação positiva da proliferação, reparo do DNA e genes de resposta à hipóxia.

O marcador de hipóxia exógena pimonidazol é um composto de 2-nitroimidazol, que forma ligações covalentes com macromoléculas celulares em níveis de oxigênio abaixo de 1,3% (GROSS *et al.*, 1995) e visualiza regiões pouco oxigenadas em seções histológicas de tumores (KIZAKA-KONDOH; KONSE-NAGASAWA, 2009). Apenas dois estudos relataram sobre esse marcador no câncer de próstata (CARNELL *et al.*, 2006; HOSKIN, 2015), sendo encontrada uma maior coloração de pimonidazol em tumores com alto escore de Gleason (CARNELL *et al.*, 2006).

Em estudo conduzido por Ragnum *et al* (2015), verificou-se que o câncer de próstata que se mostrou positivo para pimonidazol e apresentava características agressivas, incluindo a ativação de um programa transcricional que promove a proliferação celular (RAGNUM *et al.*, 2015). Ainda pelo mesmo estudo, constatou-se que a coloração imunohistoquímica com pimonidazol correlacionou-se com o escore de Gleason e teve impacto prognóstico independente, mas não com o nível sanguíneo de antígeno específico da próstata (PSA) (RAGNUM *et al.*, 2015).

Existem, entretanto, dificuldades na padronização de ensaio para o uso do pimonidazol na prática clínica, devido ao fato do teste ser de difícil realização e de alto custo, além de os reagentes necessários serem de baixa disponibilidade no mercado, o que determina baixa reprodutibilidade (CARNELL *et al.*, 2006). Esse fato suscita a necessidade de alternativas melhores e mais disponíveis para caracterizar a hipóxia no momento do diagnóstico e/ou durante o tratamento. Nesse contexto, a RM associada à incorporação de técnicas funcionais seria uma possibilidade a ser investigada (CARNELL *et al.*, 2006).

Quando se volta para a utilização dos métodos de imagem no CP, atualmente, a RM multiparamétrica já é bem estabelecida como o método de escolha para o diagnóstico e o estadiamento do CP, acresce que parâmetros semiquantitativos e quantitativos derivados da análise dinâmica do meio de contraste (do inglês Dynamic Contrast-Enhancement – DCE) podem ser utilizados como ferramenta para avaliar a agressividade do CP (REN *et al.*, 2008; SHAISH *et al.*, 2017).

A técnica DCE difere das demais técnicas funcionais, por usar um meio de contraste endovenoso, exógeno, à base de gadolínio para acessar a angiogênese tumoral. Como em outras neoplasias, o tumor prostático mostra realce precoce em relação ao tecido adjacente, o que é relacionado a neangiogênese e aumento da

densidade de microvasos, consequente à sobrerregulação de linhas moleculares induzida pelas células neoplásicas e que, em última análise, levam a produção de fatores angiogênicos, aumento de permeabilidade capilar e fatores de proliferação endotelial (VERMA *et al.*, 2012).

O termo “dinâmico” deriva de múltiplas séries de imagens, adquiridas após a injeção do meio de contraste por via endovenosa. A aplicação da técnica é baseada em dados que mostram que lesões de natureza maligna exibem realce precoce e perda dessa contrastação (wash-out) rápida, quando comparadas com tecidos saudáveis adjacentes (VERMA *et al.*, 2012). A técnica de aquisição dessa sequência, assim como o restante do protocolo de estudo específico encontram-se pormenorizados na seção de casuística e métodos deste trabalho (Capítulo 3).

A análise da cinética do meio de contraste pode ser feita de duas maneiras, as mais complexas e reprodutíveis utilizam o método quantitativo, dentre eles, destaca-se o modelo farmacocinético de Tofts *et al.* (1999). Já a mais simples e acessível consiste no método qualitativo, realizado por meio de avaliação visual, existindo ainda métodos chamados de semi-quantitativos (VERMA *et al.*, 2012), que por sua vez utilizam curvas de intensidade do realce em função do tempo.

O método qualitativo, ou visual, baseia-se na assunção geral de que os vasos tumorais têm maior permeabilidade e menor resistência, o que determina um realce mais rápido pelo meio de contraste, ocorrendo ainda uma troca mais rápida desse meio de contraste entre os capilares e o tecido tumoral. Assim, o padrão esperado é de um realce precoce seguido por perda de contrastação igualmente precoce. Essa técnica tem uma sobreposição relevante entre os tecidos benigno e maligno, que varia ainda entre as diferentes zonas prostáticas, determinando assim uma limitação intrínseca do método (VERMA *et al.*, 2012).

Já os métodos quantitativos baseiam-se em modelos de troca de concentração do meio de contraste, usando técnicas de modelagem farmacocinética. A maior parte desses modelos consiste em determinar a taxa de troca do meio de contraste entre o plasma e o espaço extracelular, usando taxas constantes de transferência que são conhecidas por estarem altas em diferentes cânceres (VERMA *et al.*, 2012), conforme observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros Tofts

$k_{trans}$	constante de transferência de volume anterógrado, entre o plasma sanguíneo e o espaço extravascular extracelular (EES) – unidade em $\text{min}^{-1}$
$k_{ep}$	constante da taxa de refluxo reverso entre o espaço extravascular extracelular e o plasma sanguíneo – unidade em $\text{min}^{-1}$
$v_e$	(EES <sup>d</sup> ) volume do espaço extravascular extracelular por unidade de volume tissular

Fonte: Adaptado de VERMA *et al.*, 2012.

O  $k_{trans}$  determina o fluxo do espaço intravascular para o extracelular e pode representar a permeabilidade vascular enquanto o volume fracionário do espaço extravascular extracelular ( $v_e$ ) é utilizado para obtenção da constante de velocidade ( $k_{ep}$ ), onde  $k_{ep} = k_{trans}/v_e$  (VERMA *et al.*, 2012; PADHANI *et al.*, 2000; OTO *et al.*, 2011), sendo que o  $k_{ep}$  representa o efluxo do meio de contraste do meio extracelular de volta para o plasma.

O sinal obtido nas sequências DCE deve ainda ser convertido em valores T1, baseados em um mapa de referência, uma vez que a intensidade de sinal não tem relação linear com a concentração de gadolínio utilizada para a obtenção das curvas de concentração, cuja análise é finalmente realizada pelo radiologista (VERMA *et al.*, 2012). Felizmente, há inúmeros programas e aplicativos que realizam essa análise de maneira mais simples e prática, os quais foram aplicados neste estudo, conforme descritos no terceiro capítulo.

A interpretação das imagens ainda considera as diferenças entre a zona periférica e a zona de transição prostáticas, bem como são interpretadas em conjunto com as demais sequências do estudo multiparamétrico prostático (T2, Difusão / ADC).

A variável  $k_{trans}$ , em estudos prévios, mostrou-se uma medida bem reproduzível da permeabilidade capilar e tem sido descrita como consistentemente maior no câncer de próstata quando comparado ao tecido prostático normal, podendo então ser igualmente um instrumento de significativa relevância para a definição de hipóxia (PADHANI *et al.*, 2000; OTO *et al.*, 2011; MUGLIA *et al.*, 2019).

Do exposto, apesar das evidências científicas que ressaltam a importância da hipóxia tumoral como fator independente de mal prognóstico no câncer de próstata e a capacidade da RM em detectar áreas de baixa oxigenação em vários tumores (exemplo já bem definido, como o de colo de útero, até o momento) (HOSKIN, 2015), não há relatos de estudos clínicos analisando a capacidade da RM de prever

a hipóxia tecidual e suas implicações prognósticas em pacientes com câncer de próstata.

Assim, o presente estudo pretende avaliar a capacidade dos modelos de Tofts, notadamente das variáveis  $k_{trans}$  e  $k_{ep}$ , como ferramentas que possam detectar a presença de hipóxia em áreas suspeitas para neoplasia clinicamente significativa ao estudo de RM.



## 2 OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS

### 2.1 PRIMÁRIO

Avaliar a capacidade da ressonância magnética em detectar hipóxia tumoral na neoplasia de próstata, demonstrada por marcadores histológicos, utilizando análises quantitativa e semiquantitativa.

### 2.2 SECUNDÁRIOS

Descrever independentemente a relação entre os achados de imagem sugestivos de hipóxia tumoral (se existentes), obtidos com a técnica de RM-DCE (pico de realce, tempo para pico, constante de transferência  $k_{trans}$ , volume fracionário de espaço extravascular extracelular  $v_e$  e a constante  $k_{ep}$ ) em associação a marcadores histológicos avaliados por imunohistoquímica específica para o HIF em espécimes de prostatectomia e/ou biópsia de próstata guiada por USTR.

Descrever a associação entre o escore de Gleason do câncer de próstata (marcador amplamente utilizado de agressividade tumoral) aos marcadores de hipóxia tumoral identificados pela imagem e pela avaliação histológica.



### 3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

#### 3.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo retrospectivo realizado em centro único – hospital universitário de nível terciário regional, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP), com demanda populacional de aproximadamente 3 milhões de habitantes.

#### 3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

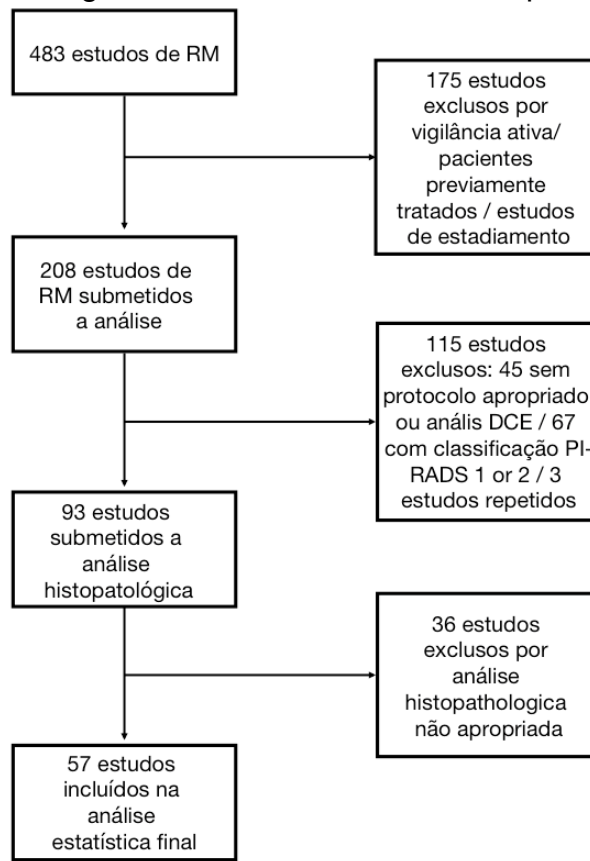
Foram selecionados, consecutivamente, 483 estudos de RM de pacientes com diagnóstico de neoplasia prostática com classificação de risco de D'Amico intermediária ou alta, confirmados pela análise histopatológica (biópsia ou prostatectomia), em acompanhamento nos Ambulatórios de Urologia do Complexo do HC-FMRP-USP que tiveram exames de RM realizados previamente ao diagnóstico histopatológico.

O intervalo máximo estipulado entre o exame de RM e a realização do estudo histopatológico escolhido foi de 180 dias.

#### 3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo, exames de pacientes com tratamento prévio para neoplasia de próstata por hormonioterapia ou radioterapia (n=175), aqueles que tiveram imagens subótimas que limitassem ou impedissem a análise DCE ou exames realizados com protocolos de estudo diferentes do proposto (n=45), estudos com classificação PI-RADS 1 ou 2 (n=67), estudos repetidos de mesmo paciente (n=3) e, finalmente, casos que apresentaram exame histopatológico incompleto ou inconclusivo (n=36). O fluxograma de exclusão pode ser observado na Figura 2.

Figura 2 – Fluxograma de exclusão de exames para este estudo



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

### 3.4 QUESTÕES ÉTICAS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC-FMRP-USP com parecer substanciado do dia 17 de junho de 2019, sob o protocolo de número 3.396.213, sem ressalvas ou comentários.

### 3.5 ANÁLISE DOS DADOS

A captação de casos foi iniciada em janeiro de 2019 e teve seu encerramento em julho de 2021.

A análise histopatológica foi realizada no decorrer dos anos de 2022 e 2023, sendo que o intervalo foi longo, devido a questões relacionadas a dificuldades determinadas pela pandemia de Covid-19, assim como pelo falecimento do Prof. Dr. Alfredo Ribeiro da Silva, o qual havia iniciado a leitura dos estudos de patologia,

sendo que todos os casos que já haviam sido avaliados para o momento da qualificação do presente trabalho precisaram ser novamente estudados para evitar vieses de leitura, com nova análise realizada pelo Prof. Fernando Chahud.

As variáveis selecionadas encontram-se listadas nas subseções a seguir.

### 3.5.1 Dados epidemiológicos e laboratoriais

Idade do paciente, valores de PSA absoluto e Densidade de PSA – obtida pelo cálculo  $PSA_{(ng/ml)} / V_{(ml)}$ .

### 3.5.2 Dados da Ressonância Magnética

Os exames foram todos realizados em uma única instituição – HC-FMRP USP – entre os anos de 2019 e 2021, em aparelhos de 3T (Achieva 3T), fabricado pela Philips, The Best, Netherlands, com bobina Pélvica Phased-array de 16 canais.

O protocolo incluiu sequências morfológicas, como imagens ponderadas em T2 de alta resolução nos planos axial, coronal e sagital, e imagens quantitativas, como estudos de difusão, todas antes da injeção de contraste. Em seguida, foi realizada a administração do meio de contraste intravenoso e foram obtidas imagens dinâmicas pós-contraste.

Para as imagens de difusão, foram utilizados os valores b de 0, 50, 100, 150, 250, 500 e 1500 s/mm<sup>2</sup>, com um mapa de reconstrução do coeficiente de difusão aparente.

As imagens do estudo DCE pós-contraste da próstata foram realizadas após a administração de 0,1 μmol de gadopentetato de dimeglumina (Magnevist; Bayer HealthCare) por quilograma de peso corporal, seguido por uma solução salina de 20 ml a uma taxa de 3 ml/seg. A resolução temporal foi ajustada para 6-8 segundos.

Durante e após um bolus intravenoso de 0,1 μmol/kg de Gd-DTPA, os seguintes parâmetros foram utilizados: TR = 16 ms; TE = múltiplos, começando em 2,4 ms; ângulo de inclinação = 7 graus; Fator EPI = 23; supressão de gordura = Pro Set; Fator de aceleração (SENSE) = 1,9; Matriz = 287 x 287; Espessura de corte = 3 mm.

Dessa maneira, a aquisição de imagens de ressonância magnética (MRI) seguiu as diretrizes do PI-RADS, abrangendo sequências ponderadas em T2, DWI e imagens com contraste dinâmico (DCE).

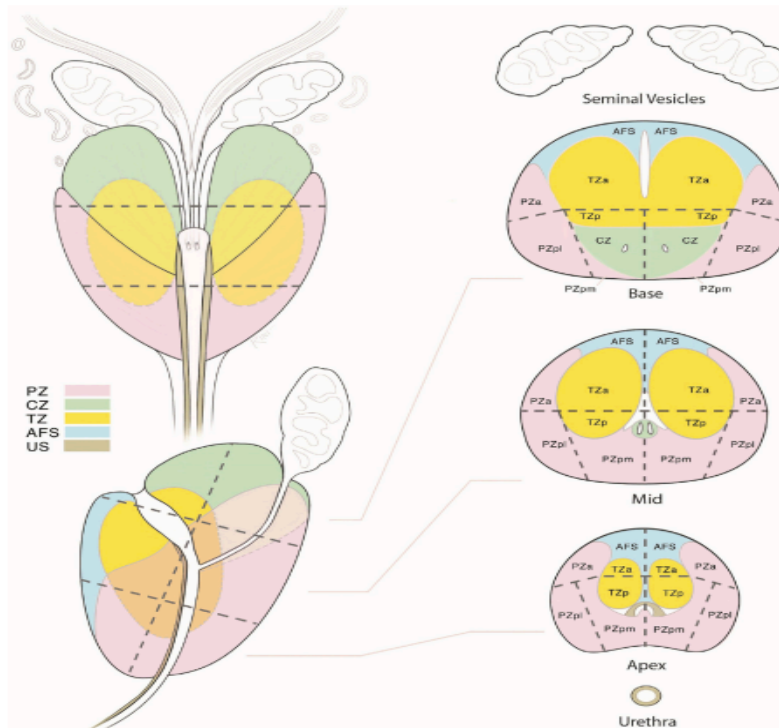
Um radiologista abdominal com 12 anos de experiência conduziu análises morfológicas e quantitativas de MRI, avaliando parâmetros como tamanho da lesão, valores do Coeficiente de Difusão Aparente (ADC) e a farmacocinética de Tofts.

### 3.5.2.1 Análise sistemática dos exames de RM

Volume da próstata calculado pelo método de elipse segundo os critérios do manual **PI-RADS (V2.1)** (BRASSELL *et al.*, 2011). Nele, verifica-se:

- localização da lesão índice seguindo o mapa estabelecido pelo manual citado, conforme Figura 3;

Figura 3 - Diagrama do mapa de setores, versão 2.1 PI-RADS



Fonte: Adaptado de Brassell *et al.*, 2011.

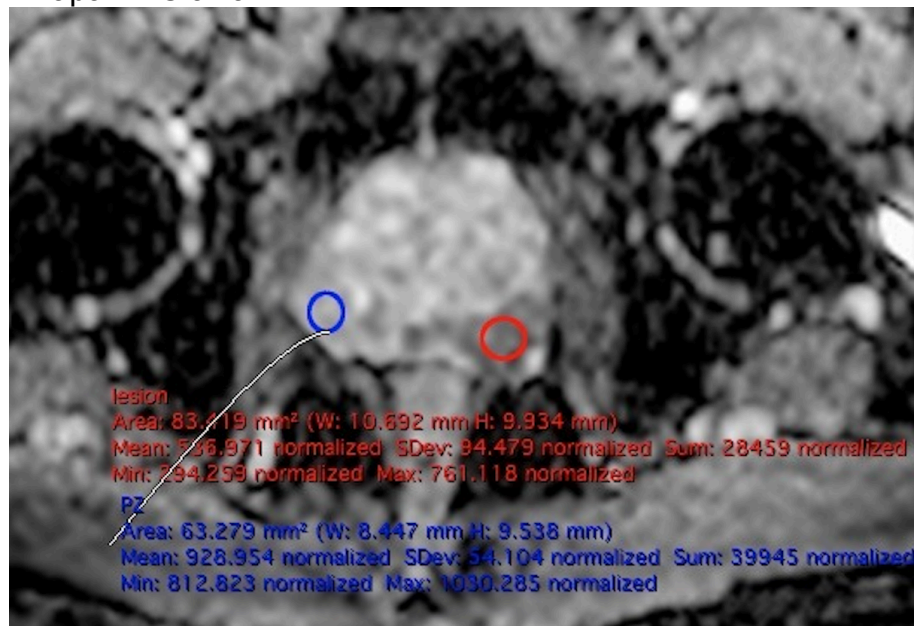
- maior diâmetro da lesão (cm);
- classificação pelos critérios **PI-RADS (V2.1)** (BRASSELL *et al.*, 2011) em sequências **T2**, de difusão e a classificação final conjunta;
- valores de **ADC** obtidos pelo posicionamento de ROI's (Region of Interest) na lesão suspeita para neoplasia e na zona periférica de referência no

mesmo plano de corte ou no plano de corte mais próximo, assim como a obtenção de valores ajustados / normalizados de **ADC**, que correspondem à relação  $ADC_{\text{lesão}} / ADC_{\text{ZP}}$ ;

- e) tipo de curva de realce observado ao estudo de perfusão **DCE** – com classificação tipo 1,2 ou 3;
- f) valores aferidos das constantes quantitativas de análise de perfusão -  $k_{\text{trans}}$  e  $k_{\text{ep}}$ , obtidas por meio de cálculo automático fornecido pela ferramenta “DCE tool”, disponível no aplicativo de visualização de imagens (Horos v 3.3.2, 2024).

Análise DCE de lesões visíveis por RM, conforme a sequência de Figuras 4A, 4B e 4C.

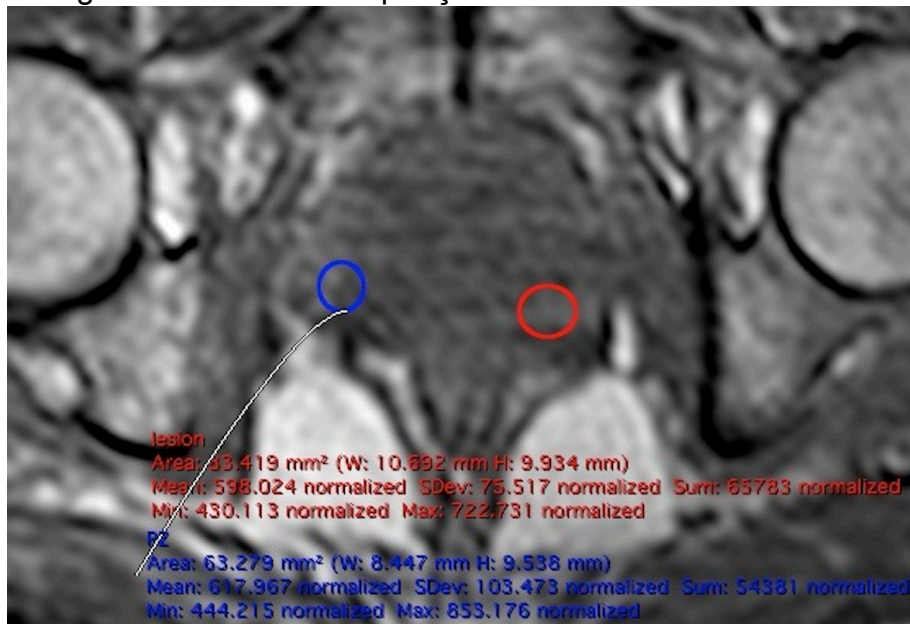
Figura 4A - Mapa ADC axial



Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Na Figura 4A é possível verificar a lesão na zona periférica do lobo esquerdo da próstata com um ROI vermelho sobre ela. No lobo direito, outro ROI, azul, foi colocado na Zona Periférica aparentemente normal.

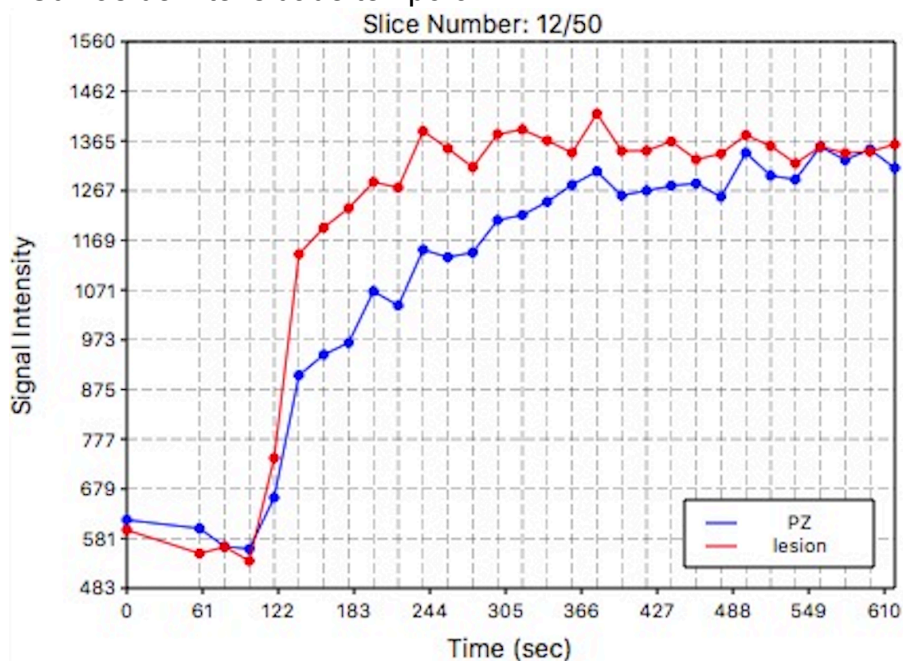
Figura 4B - Imagem inicial de uma aquisição DCE



Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Na imagem projetada na Figura 4B, foi inserida uma ROI colocada na área correspondente à lesão suspeita no mapa ADC.

Figura 4C - Curvas de intensidade temporal



Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Na Figura 4C verificam-se as curvas de intensidade temporal, de onde foram calculadas as variáveis  $K_{trans}$  e  $K_{ep}$ .

As leituras dos exames seguiram o padrão acima, sendo que, conforme se pode observar, as variáveis de valores de ADC, ADC normalizado, tamanho das



lesões, padrões de curva e finalmente os valores de  $K_{trans}$  e  $K_{ep}$  puderam todas ser obtidas sistematicamente dessa maneira.

### 3.6 PADRÃO DE REFERÊNCIA

O padrão de referência utilizado para este estudo foi a análise histopatológica, seja pela biópsia ou pelo espécime de prostatectomia radical.

As biópsias prostáticas foram realizadas por um dos residentes do segundo ano de Radiologia e diagnóstico por imagem, as quais foram supervisionadas por médico assistente do HC-FMRP-USP. Utilizou-se a técnica de fusão cognitiva, pois os pacientes tinham RM prévia, por via transretal. Para os pacientes que tinham biópsia e prostatectomia, priorizou-se a análise pelo espécime cirúrgico, por se tratar do método de maior acurácia em relação à localização das lesões índices. Manteve-se a análise somente pela biópsia, pois sua exclusão criaria um viés de seleção, uma vez que os pacientes com tumores mais agressivos, em sua maioria, não são encaminhados para a prostatectomia radical.

A correlação entre a localização do tumor no espécime cirúrgico/biópsia e a imagem da RM foi realizada pelo pesquisador sênior, com cerca de 20 anos de imagem abdominal.

#### 3.6.1 Estudos de patologia – biópsia ou cirurgia

Os dados de patologia correspondem à graduação de Gleason final e, conseqüentemente, à classificação de risco pelos escores ISUP e pela classificação de Cambridge, já descritos na introdução do presente trabalho.

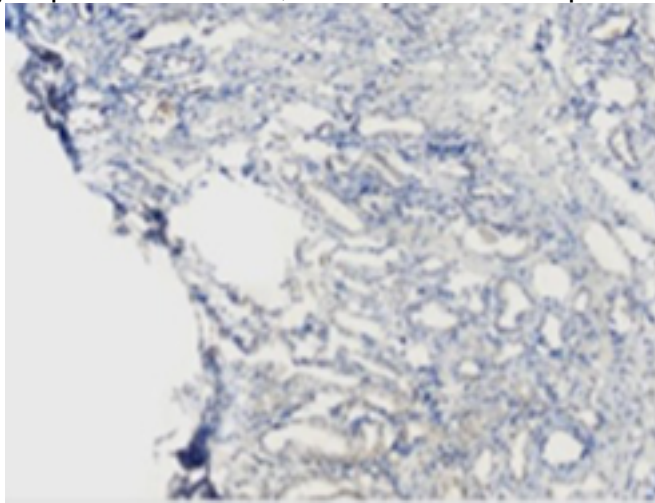
#### 3.6.2 Resultado dos marcadores histológicos para hipóxia tumoral

O marcador exógeno de hipóxia pimonidazol é um composto de 2-nitroimidazol, que forma ligações covalentes com macromoléculas celulares em níveis de oxigênio abaixo de 1,3% e visualiza regiões pouco oxigenadas em cortes histológicos de tumores (RAGNUM *et al.*, 2015). As células foram reconhecidas por

detecção imuno-histoquímica de pimonidazol utilizando um anticorpo monoclonal de camundongo, com posterior detecção através de método de imunofluorescência.

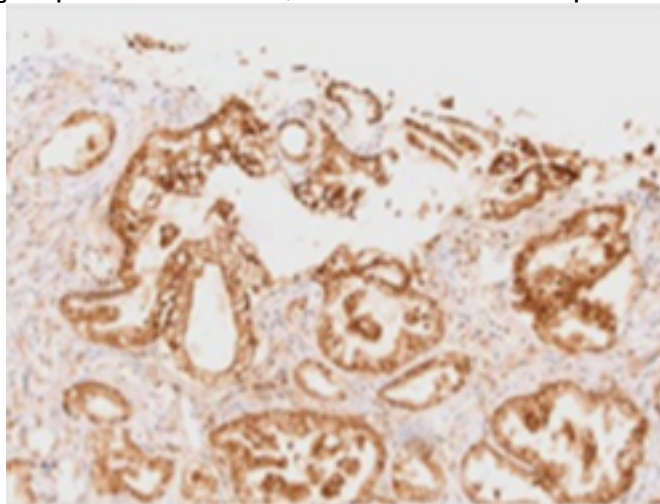
O processo de análise histopatológica / imunohistoquímica para hipóxia foi realizado utilizando os mesmos parâmetros publicados por Jin Cho e W Pyo, JS (DAI *et al.*, 2011), assim como exemplificado no estudo de Ragnum *et al.* (2015) – figura 5A e 5B.

Figura 5A - Coloração por Pimonidazol, escore imunohistoquímico fraco



Fonte: Adaptado de Ragnum *et al.* (2015)

Figura 5B - Coloração por Pimonidazol, escore imunohistoquímico forte



Fonte: Adaptado de Ragnum *et al.* (2015)

A intensidade da expressão de proteínas nas amostras coradas imunohistoquimicamente foi graduada de 0 a 3, conforme observado na Tabela 4.

Tabela 4 - Intensidade de expressão imunohistoquímica

<b>Intensidade de expressão</b>	<b>Graduação</b>
<b>0</b>	Negativo
<b>1</b>	Fraco
<b>2</b>	Moderado
<b>3</b>	Forte

Fonte: Adaptado de DAI *et al.*, 2011

Para efeitos de interpretação, 0 e 1 foram considerados negativos; 2 e 3, positivos para marcador de hipóxia.

Finalmente, o “escore imunorreativo” (immunoreactive score – IRS) foi calculado pela multiplicação do grau de intensidade de coloração pela porcentagem de células positivamente coradas, obtendo-se a classificação descrita na Tabela 5.

Tabela 5 - Escores imunorreativos

<b>NEGATIVO</b>	IRS entre 0 e 4
<b>POSITIVO</b>	IRS entre 6 e 12

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os estudos estatísticos foram realizados em dezembro de 2023 pela instituição PROESTAT (2023), tendo como responsável a profissional Estela Cristina Carne seca.

Inicialmente, os dados foram descritos por meio de frequências absolutas e percentuais (variáveis qualitativas) e de medidas, como média, desvio-padrão, mínimo, mediana e máximo (variáveis quantitativas).

Para analisar a associação das variáveis de interesse com a hipóxia e, conseqüentemente, estimar a razão de prevalência bruta e ajustada, foi utilizado o modelo de regressão de Poisson com variância robusta (Zou, 2004), simples e múltiplo. Para analisar a associação entre hipóxia e agressividade, foi utilizado o mesmo modelo, sem ajuste por covariáveis. Também foi utilizado o pós-teste de Tukey (TEAM, 2013) para as comparações múltiplas no caso de covariáveis qualitativas com mais de dois níveis, como o PI-RADS e a curva tipo.

Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS (2006), para as quais se adotou um nível de significância de 5%.



## 4 RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISE DESCRITIVA DOS DADOS

Após as exclusões, 57 pacientes permaneceram no estudo. A média de idade dos pacientes foi de  $65,5 \pm 7,2$  anos, com volume prostático médio de  $45,8 \pm 22,4$  cm<sup>3</sup> e tamanho médio das lesões neoplásicas de  $1,35 \pm 0,83$  cm. Considerando-se as variáveis clínico laboratoriais, obteve-se uma média de valores de PSA de  $14,93$  ng/ml  $\pm 18,57$ , com dPSA média de  $0,36$  ng/ml<sup>2</sup>  $\pm 0,41$ , conforme apresentado na Tabela 6.

Tabela 6 - Dados descritivos por variável

Variável	n	Média (DP)	Mediana (Q1-Q3)	Min-Máx
Idade (anos)	57	64,98 (7,2)	66 (59-70)	50-86
Volume (cm <sup>3</sup> )	57	45,89 (22,4)	40 (31,03-52,73)	18,53-120,05
Tam. Lesão (cm)	57	1,35 (0,83)	1,2 (0,9-1,6)	0,4-6,1
PSA (ng/ml)	57	14,93 (18,57)	8,1 (5,68-15,7)	1,14-100
dPSA (ng/ml <sup>2</sup> )	57	0,36 (0,41)	0,2 (0,12-0,42)	0,03-2,01

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Como apenas lesões detectáveis na ressonância magnética foram incluídas no estudo, a classificação final PI-RADS incluiu apenas as categorias 3 (n=3, 3,5%), categoria 4 (n=36, 63,2%) e categoria 5 (n=19, 33,3%) e, dessa mesma amostra, conforme pormenorizado na Tabela 7, a distribuição das curvas de perfusão DCE obtidas foi de 14,04% para o tipo 1 (n=8), 70,18% para o tipo 2 (n=40) e 15,79% para o tipo 3 (n=9).

Tabela 7 - Distribuição da amostra por classificação PI-RADS e tipo de curva de perfusão

PI-RADS final	n	Percentual %
3	2	3,51
4	36	63,16
5	19	33,33
CURVA TIPO	n	Percentual %
1	8	14,04
2	40	70,18
3	9	15,79

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Quanto aos achados de imagem, mais especificamente, foram obtidas médias de valores de ADC das lesões neoplásicas de  $0,68 \times 10^{-3} \text{ mm/s}^2 \pm 0,15$  e das zonas periféricas normais de  $1,29 \times 10^{-3} \text{ mm/s}^2 \pm 0,18$ , o que conferiu um valor médio de ADC normalizado de  $0,52 \pm 0,12 \text{ mm/s}^2$ ; e os valores médios das variáveis do estudo DCE / Tofts com médias de valores  $k_{\text{trans}}$  de  $0,1 \pm 0,14$  e  $k_{\text{ep}}$  de  $0,16 \pm 0,11$ .

A análise histopatológica, especificamente com classificações de escore de Gleason e ISUP, encontra-se descrita na Tabela 8, a seguir.

Tabela 8 - Distribuição percentual dos achados de patologia por escore

Gleason	Percentual	ISUP	Percentual
6 (3+3)	3,51	<b>1</b>	3,51
7 (3+4)	59,65	<b>2</b>	59,65
7 (4+3)	21,05	<b>3</b>	21,05
8 (3+5)	1,75	<b>4</b>	3,51
8 (4+4)	1,75		
9 (4+5)	7,02		
9 (5+4)	3,51	<b>5</b>	12,28
10 (5+5)	1,75		

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Considerando a classificação de prognóstico de Cambridge (CPG), optou-se por estratificá-la em 2 grupos, entendendo por negativos os casos de risco muito baixo, baixo e intermediário (CPG 1, 2 e 3) com  $n=41$  (71,92%); e positivos, os casos de risco alto e muito alto (CPG 4 e 5) com  $n=16$  (28,07%).

Já quanto à avaliação mais específica para a presença de hipóxia em análise imunohistoquímica, 45,6% dos casos foram classificados como positivos ( $n=26$ ) e 54,4% negativos ( $n=31$ ).

## 4.2 ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS DE INTERESSE E HIPÓXIA

Houve diferença significativa entre os dois grupos de hipóxia para o tamanho da lesão ( $1,15 \pm 0,54 \text{ cm}$  vs  $1,57 \pm 1,05 \text{ cm}$ ),  $p=0,034$ , com um valor mais alto para o grupo de hipóxia positiva. No entanto, em relação à distribuição dos escores ISUP, entre os dois grupos, não houve diferença significativa, como se verifica na Tabela 9.

Tabela 9 - Dados patológicos para ambos os grupos

	Hipóxia -	Hipóxia +	Valor -p
<b>Tamanho das lesões (mm)</b>	11,5 ± 5,3	15,7 ± 10,5	0,034
<b>ISUP</b>	1 – 1	1 – 1	0,162
	2 – 19	2 – 1	
	3 – 7	3 – 5	
	4 – 2	4 – 0	
	5 – 2	5 – 5	

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Em relação às variáveis demográficas e laboratoriais, conforme a Tabela 10, a seguir, apenas o PSA total apresentou diferença significativa entre os grupos com e sem hipóxia, com valor médio de  $16,9 \pm 18,7$  ng/ml para o primeiro grupo e  $12,6 \pm 18,5$  ng/ml para o último grupo, com média mais alta para o grupo sem hipóxia.

Verifica-se que não houve diferenças significativas entre os grupos hipóxicos e não hipóxicos em termos de idade e densidade de PSA.

Tabela 10 - Dados demográficos e clínicos para ambos os grupos, com e sem hipóxia

	Hipóxia -	Hipóxia +	Valor-p
<b>Idade (anos)</b>	63,7 ± 8,2	66,5 ± 5,6	0,125
<b>PSA (ng/ml)</b>	16,9 ± 18,7	12,6 ± 18,4	0,033
<b>dPSA</b>	0,403 ± 0,400	0,311 ± 0,431	0,124

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

#### 4.3 PARÂMETROS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E HIPÓXIA

Variáveis relacionadas à análise de ressonância magnética não apresentaram diferenças significativas entre os dois grupos para a média do ADC das lesões ( $p=0,53$ ),  $k_{trans}$  ( $p=0,32$ ) e  $k_{ep}$  ( $p=0,55$ ). No entanto, foi observada uma diferença significativa para o ADC normalizado entre os dois grupos ( $p=0,048$ ), com valores mais baixos para o grupo de hipóxia, conforme observado na Tabela 11, a seguir.

Tabela 11 - Parâmetros de RM para ambos os grupos, com e sem hipóxia

	Hipóxia -	Hipóxia +	Valor-p
	3 - 1	3 - 1	-
<b>PI-RADS final</b>	4 - 23	4 - 13	-
	5 - 7	5 - 12	-
<b>Volume prostático (cm<sup>3</sup>)</b>	47,9 +/- 25,5	43,5 +/- 18,2	0,665
<b>ADC médio (x 10<sup>-3</sup> mm/s<sup>2</sup>)</b>	0,694 +/- 0,73	0,658 +/- 0,128	0,591
<b>ADC normalizado (x 10<sup>-3</sup> mm/s<sup>2</sup>)</b>	0,540 +/- 0,143	0,489 +/- 0,093	0,048
<b>K<sub>trans</sub></b>	0,134 +/- 0,186	0,066 +/- 0,034	0,328
<b>K<sub>ep</sub></b>	0,167 +/- 0,118	0,142 +/- 0,097	0,558

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Para analisar a associação das variáveis de interesse (PSA, dPSA, tamanho da lesão, ADC,  $k_{trans}$  e  $k_{ep}$ ) com hipóxia e, conseqüentemente, estimar a razão de prevalência bruta e ajustada, foi utilizado o modelo de regressão de Poisson com variância robusta, tanto simples quanto múltiplo, nesse modelo, a única variável associada à presença de hipóxia foi  $k_{trans}$ , conforme observado na Tabela 12.

Tabela 12 - Resultados da análise de regressão de Poisson

Variável	Modelo Bruto		Modelo Ajustado	
	Odds Ratio (95% UC)	val-p	Odds Ratio (95% UC)	val-p
<b>PSA (ng/ml)</b>	0,99 (0,97-1,02)	0,52	-	-
<b>dPSA (ng/ml<sup>2</sup>)</b>	0,70 (0,24-2,09)	0,53	-	-
<b>ADC norm. (x 10<sup>-3</sup> mm/s<sup>2</sup>)</b>	0,92 (0,74-1,13)	0,40	-	-
<b>K<sub>trans</sub></b>	0,62 (0,41-0,95)	0,03	0,66 (0,45-0,96)	0,03
<b>K<sub>ep</sub></b>	0,88 (0,66-1,16)	0,36	-	-
<b>Tamanho da lesão (cm)</b>	1,26 (1,08-1,47)	<0,01	1,11 (0,95-1,30)	0,03

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Com relação à estratificação da amostra proposta pela classificação de risco de Cambridge, considerando-se positivos os casos com risco alto ou muito alto e havendo prevalência de 11 casos sem hipóxia e 5 casos com hipóxia, ao estudar a associação das mesmas variáveis de interesse com essa classificação de risco dos pacientes, apenas a variável dPSA foi estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ), conforme pode ser observado na Tabela 13.



Tabela 13 - Comparação entre as variáveis em pacientes com risco alto e muito alto

Variável	Modelo bruto		Modelo ajustado	
	RP (IC95%)	val-p	RP (IC95%)	val-p
Hipóxia	1,85 (0,72-4,74)	0,20	1,94 (0,76-4,97)	0,17
PSA (ng/ml)	1,03 (1,02-1,04)	<0,01	-	-
dPSA (ng/ml <sup>2</sup> )	3,82 (2,45-5,97)	<0,01	3,37 (1,89-5,99)	<0,01
K <sub>trans</sub>	0,52 (0,16-1,69)	0,28	0,53 (0,26-1,06)	0,07
K <sub>ep</sub>	0,99 (0,63-1,55)	0,97	1,09 (0,6-1,98)	0,78

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Ao analisar a capacidade do modelo em diferenciar pacientes com lesões de alto e muito alto risco, apesar de  $k_{trans}$  não mostrar uma associação significativa com essas lesões, estimou-se que, em média, a cada aumento de um décimo nos valores  $k_{trans}$ , a prevalência de risco alto ou muito alto diminui em 62%, conforme se verifica nas Tabelas 14 e 15.

Tabela 14 - Comparação das variáveis em pacientes com risco alto e muito alto no grupo sem hipóxia

Variável	Modelo bruto		Modelo ajustado	
	RP (95% UC)	val-p	RP (95% UC)	val-p
PSA (ng/ml)	1,02 (1,01-1,04)	<0,01	-	-
dPSA (ng/ml <sup>2</sup> )	3,46 (1,81-6,64)	<0,01	2,92 (1,49-5,7)	<0,01
K <sub>trans</sub>	0,62 (0,41-0,95)	0,24	0,38 (0,15-0,96)	0,04
K <sub>ep</sub>	0,88 (0,66-1,16)	0,67	1,41 (0,69-2,85)	0,34

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.

Tabela 15 - Comparação das variáveis em pacientes com risco alto e muito alto no grupo com hipóxia

Variável	Modelo bruto		Modelo ajustado	
	RP (95% UC)	val-p	RP (95% UC)	val-p
PSA (ng/ml)	1,03 (1,02-1,05)	<0,01	-	-
dPSA (ng/ml <sup>2</sup> )	17,06 (5,21-55,87)	<0,01	79,3 (8,39-749,75)	<0,01
K <sub>trans</sub>	0,5 (0,06-4,46)	0,54	0,47 (0,01-15,61)	0,67
K <sub>ep</sub>	1,28 (0,5-3,28)	0,61	0,35 (0,04-3,25)	0,36

Fonte: Elaborado pelo próprio autor como resultado original da pesquisa.



## 5 DISCUSSÃO

A neoplasia de próstata, por sua alta prevalência e incidência, representa uma área de importante atuação dos métodos de imagem na atualidade, justamente pelos estudos de RM proporcionarem informações valiosas, não apenas sobre o diagnóstico e estadiamento da neoplasia, mas também para fornecer dados sobre o comportamento biológico das lesões, antes mesmo da realização das biópsias ou prostatectomia.

Um dos resultados mais relevantes da presente pesquisa, apesar de seu número reduzido de amostra, foi a associação demonstrada na Tabela 12 entre o  $k_{trans}$  e a hipóxia tumoral, também observada para o tamanho da lesão. Na comparação entre os grupos, com e sem hipóxia, obteve-se diferença significativa para o ADC normalizado, menor no grupo com hipóxia, indicando, talvez, maior celularidade dessas lesões, o que, em última análise, poderia representar maior agressividade. Cabe destacar a sobreposição observada dos valores absolutos de ADC, o que não permitiu uma associação estatisticamente significativa conforme observado na Tabela 11, sendo que a normalização desses valores, realizada através do ajuste por razão com as áreas de zona periférica preservada, determina um ajuste da variável, o que a torna viável como um possível parâmetro biomarcador de agressividade.

Esses resultados corroboram os previamente encontrados na literatura. Um dado discordante, em relação à literatura, foi o percentual de lesões com hipóxia, com 45,6% dos casos positivos (n=26), observando-se uma elevada proporção do achado.

Aqui, alguns fatores podem ser aventados para explicar este fato. A instituição de estudo é um centro de referência terciário e, para a neoplasia prostática, é uma referência de uma região de mais de 3 milhões de pessoas e um hospital público, para onde são drenados os casos mais complexos e mais avançados. Considerando que a maioria destes pacientes não faz uma busca ativa do diagnóstico precoce do câncer de próstata, é de se esperar que haja uma proporção maior de cânceres mais agressivos, devido a este viés de seleção. Outro fator importante é que, como foram selecionados apenas os casos com lesão visível à RM, isto fez diminuir a proporção de casos de cânceres com melhor diferenciação histológica e/ou mais

indolentes. Finalmente, conforme observado nos resultados, após a realização de modelos de regressão, a única variável associada à presença de hipóxia foi  $k_{trans}$ .

Em trabalho recente, publicado por Ogbonnaya *et al.* (2023), foi observada uma correlação positiva entre características de textura radiômica e 3 genes relacionados à hipóxia, expressados diferentemente. Além dessa correlação, foi possível demonstrar que esses mesmos genes estão relacionados a um desfecho de sobrevida desfavorável quando presentes no tumor (Ogbonnaya *et al.*, 2023).

Conforme já desenvolvido na introdução, em diversos trabalhos já publicados, há uma associação conhecida entre hipóxia tumoral e comportamento de maior agressividade de algumas neoplasias, destacando-se o foco atual para o adenocarcinoma de próstata, o que justifica o objetivo deste estudo em investigar a associação entre hipóxia, avaliada e quantificada por coloração anti-HIF, a agressividade tumoral em cânceres de próstata e os possíveis marcadores de imagem ao estudo de RM para a presença de hipóxia.

Biomarcadores são definidos como características mensuráveis que sejam indicadores de um comportamento biológico normal, processos patológicos ou de respostas a uma exposição ou intervenção (O'CONNOR *et al.*, 2019). Esses biomarcadores são usados em oncologia para predizer ou estratificar pacientes em diferentes grupos terapêuticos, ou mesmo para monitorar alguma modalidade proposta de tratamento (O'CONNOR *et al.*, 2019).

Em estudo publicado em 2008 por Le e Courter, abordaram-se várias formas ou biomarcadores para avaliar a hipóxia. No entanto, nenhuma dessas abordagens, por si só, conseguiu capturar todas as complexidades da hipóxia tumoral e sua heterogeneidade. Logo, nenhuma delas foi considerada um biomarcador "padrão-ouro" para a hipóxia. Os autores (LE; COURTER, 2008) sugerem ainda que uma combinação de biomarcadores seria mais robusta do que um único marcador.

Dessa maneira, a possibilidade de utilização de biomarcadores de imagem confiáveis e reprodutíveis que pudessem aferir a presença de hipóxia em tumores de próstata seria de grande valia para o contexto de cuidados oncológicos, considerando-se ainda a alta disponibilidade de exames de RM multiparamétrica na atualidade.

Algumas técnicas de RM têm se mostrado úteis na aferição de hipóxia nos últimos anos e sugerem um caminho interessante para atingir esses objetivos, como

a técnica Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD) que demonstra a capacidade de aferir positivamente a presença de hipóxia (O'CONNOR *et al.*, 2019).

Em outro trabalho, publicado por Hoskin *et al.* (2007), foi demonstrada sensibilidade alta (88%), porém baixa especificidade (36%) da técnica BOLD para a determinação de hipóxia tumoral, com valores preditivos negativos de 70%, sugerindo a ferramenta como um potencial marcador para hipóxia.

Entretanto, devido a dificuldades em sua aplicação para a prática diária, por questões de aumento de dificuldade técnica no trabalho médico radiológico e falta de evidências mais robustas de sua aplicabilidade, surge a necessidade de encontrar biomarcadores mais simples e reproduzíveis que possam ser obtidos por meio de estudos de rotina de RM multiparamétrica de próstata, como foi proposto por este trabalho.

No trabalho realizado por Muglia *et al.* (2019), foi demonstrada uma correlação positiva inversamente proporcional entre a intensidade de realce das lesões e a agressividade dos tumores, porém sem a aferição de parâmetros quantitativos como neste estudo, que procurou avaliar a capacidade de diversas variáveis obtidas em exames da rotina diária em diagnóstico por imagem da próstata e notadamente dos parâmetros Toft, como possíveis biomarcadores para hipóxia tumoral.

Dessa maneira, a justificativa para a realização do presente estudo, como uma tentativa de definir esses biomarcadores, encontra ampla fundamentação na literatura. Entretanto, conforme observado na seção de resultados, não se encontraram diferenças significativas entre tumores com e sem hipóxia para diversas variáveis, incluindo variáveis demográficas, laboratoriais, patológicas e de imagem, exceto para os valores de PSA, que foram maiores no grupo sem hipóxia, e para o ADC normalizado, que foi menor no grupo com hipóxia.

Em alguns trabalhos, como o de Oto *et al.* (2011), pôde ser demonstrada uma associação positiva moderada entre valores de ADC e escores de Gleason, assim como valores de  $k_{ep}$  e densidade da microvasculatura da neoplasia, porém sem força de correlação para sugerir a utilização desses marcadores na prática diagnóstica. Sugeriria-se ainda que estudos com maior número de pacientes pudessem caminhar para a demonstração das técnicas de difusão, como biomarcadores para a presença de hipóxia com relação inversamente proporcional, o que igualmente foi observado neste trabalho.

Ainda seguindo esse conceito, em outro trabalho publicado por Chen *et al.* (2020), a utilização de técnicas de Imagem ponderada em difusão por movimento incoerente intravoxel (IVIM) demonstrou correlação positiva com a agressividade dos tumores de próstata, o que encoraja a progressão de novos estudos nessa mesma linha de investigação pelos métodos de difusão.

Com relação aos parâmetros Tofts, houve neste trabalho ainda uma associação positiva entre os valores de  $k_{trans}$  derivados da análise farmacocinética, mas destacando-se que o  $k_{trans}$  não foi um preditor independente de lesões de maior risco (alto e muito alto risco – CPG 4 e 5).

Ainda sobre esses resultados, os dados obtidos não apoiam descobertas anteriores na literatura, como o trabalho de Hoskin *et al.* (2015), que indicou uma predominância de tumores de grau histológico mais alto em pacientes com tumores de próstata na presença de hipóxia tumoral. Várias hipóteses podem ser discutidas para explicar essa falta de associação.

Primeiro, o método de quantificação da hipóxia tumoral em alguns estudos anteriores não utilizou o pimonidazol, como no estudo de Hoskin *et al.* (2015), justificando-se a ideia de padronização mais homogênea da forma de aferição do padrão de referência histopatológico / imunohistoquímico. Além disto, supõe-se ainda que a associação pode não ter sido detectada devido ao número limitado de pacientes nesta amostra, devendo-se considerar que, apesar do universo inicial de pacientes bastante significativo, houve muitas exclusões devido à rigurosidade dos critérios utilizados.

Por último, como os pacientes não foram seguidos longitudinalmente, não é possível descartar uma associação entre hipóxia e tumores mais agressivos. Se esse acompanhamento tivesse sido realizado a médio ou longo prazo, o desfecho clínico (recidiva e/ou óbito pela doença) seria o marcador de agressividade tumoral, em vez de histologia ou classificação de risco (CARNELL *et al.*, 2006; MIYAZAWA *et al.*, 2014).

No estudo realizado por Vergis *et al.* (2008) foram positivas essas associações nessa mesma linha de raciocínio, o que justifica a interpretação aqui sugerida. Ainda nesse mesmo trabalho (Vergis *et al.*, 2008), os autores consideram que, apesar do longo tempo de captação de pacientes e do desenho dessa captação de maneira prospectiva, sua amostra não foi tão grande quanto o esperado (n=289), de maneira semelhante ao ocorrido no atual estudo.

Buscou-se, nesta pesquisa, estudar a utilização de técnicas quantitativas e semiquantitativas em ressonância magnética (RM) (OTO *et al.*, 2011) para a caracterização de hipóxia, sendo que, inicialmente, foi realizada uma avaliação morfológica das lesões e encontrada uma diferença significativa no tamanho dessas com a presença ou não de hipóxia, sendo as últimas significativamente maiores, como esperado em tumores mais agressivos (KUNDER *et al.*, 2021).

Na análise quantitativa, por meio de sequências de difusão, foram utilizados dois parâmetros: a ADC média das lesões e a ADC normalizada. Nesses parâmetros, foi encontrada uma diferença significativa para a ADC normalizada, com valores no grupo com hipóxia menores do que no grupo sem hipóxia, o que também seria esperado em tumores mais agressivos com maior proliferação celular e, portanto, maior restrição ao movimento de moléculas de água, conforme já discutido nesta seção (WALLER *et al.*, 2020).

Em relação aos achados da DWI, os resultados aqui obtidos são suportados por outros estudos disponíveis na literatura que também encontraram valores menores ADC médio e ADC normalizada em tumores mais agressivos (SHAISH *et al.*, 2017; TAMADA *et al.*, 2017).

A análise cinética mostrou que o  $k_{trans}$  estava associado à hipóxia, mas não foi um preditor independente de tumores de alto e intermediário risco. As variáveis  $k_{ep}$  e  $v_e$  não foram associadas à hipóxia e não foram, portanto, consideradas preditoras de lesões mais agressivas da mesma forma.

Em estudos anteriores, o modelo de Tofts foi eficiente em demonstrar perfusão reduzida em diferentes situações, incluindo hipóxia tumoral (VOS *et al.*, 2013). A hipóxia foi identificada como um fator ambiental de estresse associado à resistência a radioterapia e piores prognósticos (BROWN; WILSON, 2004). Sendo assim, foi demonstrado que, à medida que o câncer progride, as células tumorais adquirem a capacidade de se adaptar a ambientes hipóxicos, formando novos vasos (neoangiogênese) e aumentando a capacidade de invasão vascular.

Em outro trabalho publicado por Feng *et al.* (2015), foram comparados os parâmetros Tofts à radio resistência de tumores cerebrais, mais especificamente o glioblastoma multiforme (GBM), foi observada uma correlação positiva entre os valores de  $k_{trans}$ ,  $k_{trans}$  relativo e  $k_{ep}$  relativo à sensibilidade a terapia dos tumores. O estudo ainda sugere que o estabelecimento de valores de corte de 0,022 para o  $k_{trans}$  relativo apresentou sensibilidade de 100% e especificidade de 91,7%, como

preditores de resposta, sem obtenção de outros resultados semelhantes para as demais variáveis, o que é coerente aos achados no atual estudo. É possível que este perfil esteja relacionado ao fato de que neoplasias gliais de alto grau apresentem taxas de crescimento mais alta e por consequência, maiores componentes de necrose, o que em contrapartida, não é frequentemente observado em neoplasias prostáticas, cujo crescimento, conforme já discorrido, costuma ser mais lento e indolente.

Neste mesmo estudo, dentre os parâmetros Tofts avaliados, houve associação positiva apenas para o  $k_{trans}$  com hipóxia. Ao analisar o significado fisiológico desses parâmetros, considerando-se que o  $k_{trans}$  corresponde especificamente à transferência de volume de sangue do espaço intravascular para o extravascular extracelular e que os ambientes de hipóxia transitória determinam maior extravasamento sanguíneo no ambiente tumoral e aumento da permeabilidade capilar, além do estímulo a angiogênese, conforme previamente relatado, é coerente que essa correlação tenha sido positiva.

Essa suposição não é válida para tecido necrótico e fibroso, em que a densidade de capilares funcionais pode ser extremamente baixa e as distâncias de difusão no espaço extravascular extracelular, grandes (GAUSTAD *et al.*, 2020).

Já com relação ao  $k_{ep}$ , que por sua vez corresponde ao regresso dos componentes sanguíneos ao plasma e é obtido pelas variáveis  $k_{trans}$  e  $v_e$  (volume fracionário do espaço extracelular onde  $k_{ep} = k_{trans}/v_e$ ), ao se considerar que os ambientes tumorais com hipóxia tenham perda de arquitetura tissular com redução de grupamentos acinares usuais, alta densidade celular (MUGLIA *et al.*, 2019), presença de componentes necróticos e fibrosos, em que a densidade de capilares funcionais pode ser extremamente baixa e as distâncias de difusão no espaço extravascular extracelular, grandes (GAUSTAD *et al.*, 2020). além das demais alterações já sugeridas, possivelmente essa variável não tenha apresentado correlação positiva com a hipóxia devido a variações proporcionais do  $v_e$  em relação ao  $k_{trans}$ .

No trabalho publicado por Kickingeder *et al.* (2014), foi observada uma diferença significativa de manifestação de dois tumores diferentes cerebrais, o linfoma primário do sistema nervoso central (LPSNC) e o GBM, sendo que o LPSNC exibiu valores significativamente mais altos de  $k_{trans}$  e  $k_{ep}$  quando comparado ao GBM, sugerindo maior permeabilidade vascular no primeiro, relacionada no contexto



do trabalho a diferenças histopatológicas entre os tumores. Esse fato deve ser considerado para a interpretação dos resultados obtidos neste trabalho, conforme discutido previamente.

Foram ainda observadas outras associações positivas sugerindo maior agressividade tumoral na presença de hipóxia, como o tamanho maior dessas lesões e uma ADC normalizada mais baixa. Isso pode indicar que, com maior número de lesões, poderia ter sido obtida uma associação do modelo farmacocinético de Tofts com a hipóxia e, portanto, ter um biomarcador não invasivo por RM para tumores de maior risco merecendo uma abordagem mais agressiva no tratamento inicial desses pacientes.

Este estudo teve algumas limitações importantes que merecem atenção. Inicialmente, sua natureza retrospectiva com vieses inerentes, principalmente o viés de seleção. Procurou-se reduzir esses riscos com critérios rigorosos de inclusão e exclusão. Conforme disposto ao longo desta discussão, pequeno número da amostra de pacientes também pode ter impactado os resultados, potencialmente mascarando uma associação mais robusta entre os parâmetros do modelo de Tofts e a hipóxia.

Outra limitação do estudo foi a análise por apenas um radiologista. Como se trata de um estudo retrospectivo e na instituição de estudo todos os exames são revisados por dois radiologistas, reduz-se a chance de terem havido exames com lesões focais não incluídos. A utilização de ROI's para a aferição dos parâmetros utilizados, igualmente, pode ter determinado impacto, uma vez que, nessa modalidade de aferição, se deve escolher um corte de interesse para a aplicação das medidas. Acredita-se que o processo de segmentação, no entanto, seja muito mais reprodutível e menos suscetível a variações de interpretação, sendo uma opção a ser aplicada em eventuais novos estudos.



## 6 CONCLUSÕES

Conforme exposto, o presente estudo se propôs a avaliar a viabilidade de biomarcadores de imagem, não invasivos, para detecção de características de agressividade de tumores prostáticos, notadamente avaliando a possibilidade de aferição de hipóxia tumoral, que consiste em uma característica já correlacionada em estudos anteriores com comportamento de maior agressividade.

Não foram obtidas diferenças significativas entre tumores com e sem hipóxia para diversas variáveis, incluindo variáveis demográficas, laboratoriais, patológicas e de imagem, exceto para os valores de PSA, que foram maiores no grupo sem hipóxia, e para o ADC normalizado, que foi menor no grupo com hipóxia.

Em resumo, mostrou-se que um parâmetro da análise farmacocinética pelo modelo de Tofts, o  $k_{trans}$  esteve associado a tumores com hipóxia, sem entretanto, esse parâmetro corresponder a um preditor independente de tumores mais agressivos. Acresce que as limitações do trabalho devem ser consideradas, destacando-se a amostra reduzida, o desenho retrospectivo e a realização em centro único.

Considera-se ainda que, em vista da pequena quantidade de trabalhos disponíveis sobre o tema e dos dados aqui obtidos, sejam necessários estudos adicionais, que abranja maior número de pacientes e com desenhos multi-institucionais e prospectivos. Esses recursos potencialmente podem legitimar a utilização dos parâmetros estudados, que são de fácil aquisição e teoricamente bem reproduzíveis, como biomarcadores confiáveis de hipóxia tumoral, conseqüentemente sugerindo tumores com comportamentos mais agressivos e piores desfechos ou respostas terapêuticas desfavoráveis.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, S. D. S. A.; MARTINELLI, P. M.; SOUZA, L. V. A.; FONSECA, F. L. A. Epidemiological profile of prostate cancer mortality and access to hospital care in Brazilian regions - an ecological study. **Journal of Human Growth and Development**, v. 31, p. 310-317, 2021. ISSN 0104-1282. Disponível em: <[http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-12822021000200014&nrm=iso](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-12822021000200014&nrm=iso)>. Acesso em: 12 out. 2023.
- BRASSELL, S. A.; RICE, K. R.; PARKER, P. M.; CHEN, Y.; FARREL, J. S.; CULLEN, J.; MCLEOD, D. G. Prostate cancer in men 70 years old or older, indolent or aggressive: clinicopathological analysis and outcomes. **The Journal of urology**, United States, v. 185, n. 1, p. 132-137, 2011. ISSN 1527-3792. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21074211>>. Acesso em: 25 nov. 2023.
- BRAUNHUT, B. L.; PUNNEN, S.; KRYVENKO, O. N. Updates on Grading and Staging of Prostate Cancer. **Surg Pathol Clin**, v. 11, n. 4, p. 759-774, Dec. 2018. ISSN 1875-9157. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30447840/>>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- BROWN, J. M.; WILSON, W. R. Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. **Nat Rev Cancer**, v. 4, n. 6, p. 437-47, Jun. 2004. ISSN 1474-175X (Print) 1474-175x. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15170446/>>. Acesso em: 02 fev. 2024.
- CARNELL, D. M.; SMITH, R. E.; DALEY, F. M.; SAUNDERS, M. I.; BENTZEN, S. M.; HOSKIN, P. J. An immunohistochemical assessment of hypoxia in prostate carcinoma using pimonidazole: implications for radioresistance. **International journal of radiation oncology, biology, physics**, United States, v. 65, n. 1, p. 91-99, 2006. ISSN 0360-3016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16563659>>. Acesso em: 10 dez. 2023.
- CHAN, D. A.; GIACCIA, A. J. Hypoxia, gene expression, and metastasis. **Cancer Metastasis Rev**, v. 26, n. 2, p. 333-9, Jun. 2007. ISSN 0167-7659 (Print) 0167-7659. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17458506/>>. Acesso em: 15 jan. 2024.
- CHAUDARY, N.; HILL, R. P. Hypoxia and metastasis. **Clin Cancer Res**, v. 13, n. 7, p. 1947-9, Apr, 1, 2007. ISSN 1078-0432 (Print) 1078-0432. Disponível em: <<https://aacrjournals.org/clincancerres/article/13/7/1947/182333/Hypoxia-and-Metastasis>>. Acesso em: 30 jan. 2024.
- CHEN, Z.; XUE, Y.; ZHANG, Z.; LI, W.; WEN, M.; ZHAO, Y.; LI, J.; WENG, Z.; YE, Q. The performance of intravoxel-incoherent motion diffusion-weighted imaging derived hypoxia for the risk stratification of prostate cancer in peripheral zone. **Eur J Radiol**, v. 125, p. 108865, Apr. 2020. ISSN 0720-048x. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32058895/>>. Acesso em: 10 fev. 2024.

DAI, Y.; BAE, K.; SIEMANN, D. W. Impact of hypoxia on the metastatic potential of human prostate cancer cells. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 81, n. 2, p. 521-8, Oct. 1, 2011. ISSN 0360-3016 (Print) 0360-3016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3163803/>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

EPSTEIN, J. I.; EGEVAD, L.; AMIN, M. B.; DELAHUNT, B.; SRIGLEY, J. R.; HUMPHREY, P. A.; COMMITTEE, G. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. **Am J Surg Pathol**, v. 40, n. 2, p. 244-52, Feb. 2016. ISSN 0147-5185. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26492179/>>. Acesso em: 05 fev. 2024.

FENG, C.; GAO, P.; QIU, X.; QIAN, T.; LIN, Y.; ZHOU, J.; SUI, B. Prediction of radiosensitivity in primary central nervous system germ cell tumors using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. **Chin J Cancer Res**, v. 27, n. 3, p. 231-8, Jun. 2015. ISSN 1000-9604 (Print) 1000-9604. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4490191/>>. Acesso em: 23 out. 2023.

GAUSTAD, J. V.; HAUGE, A.; WEGNER, C. S.; SIMONSEN, T. G.; LUND, K. V.; HANSEM, L. M. K.; ROFSTAD, E. K. DCE-MRI of Tumor Hypoxia and Hypoxia-Associated Aggressiveness. **Cancers (Basel)**, v. 12, n. 7, Jul. 20, 2020. ISSN 2072-6694 (Print) 2072-6694. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32698525/>>. Acesso em: 15 out. 2023.

GIACCIA, A.; SIIM, B. G.; JOHNSON, R. S. HIF-1 as a target for drug development. **Nat Rev Drug Discov**, v. 2, n. 10, p. 803-11, Oct. 2003. ISSN 1474-1776 (Print) 1474-1776. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14526383/>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

GNANAPRAGASAM, V. J.; BRATT, O.; MUIR, K.; LEE, L. S.; HUANG, H. H.; STATTIN, P.; LOPHATANANON. The Cambridge Prognostic Groups for improved prediction of disease mortality at diagnosis in primary non-metastatic prostate cancer: a validation study. **BMC Med**, v. 16, n. 1, p. 31, Feb. 28, 2018. ISSN 1741-7015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29490658/>>. Acesso em: 05 out. 2023.

GOTTIPATI, S.; WARNCKE, J.; VOLLMER, R.; HUMPHREY, P. A. Usual and unusual histologic patterns of high Gleason score 8 to 10 adenocarcinoma of the prostate in needle biopsy tissue. **Am J Surg Pathol**, v. 36, n. 6, p. 900-7, Jun. 2012. ISSN 0147-5185. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22367295/>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

GROSS, M. W.; KARBACH, U.; GROEBE, K.; FRANKO, A. J.; MUELLER-KLIESER, W. Calibration of misonidazole labeling by simultaneous measurement of oxygen tension and labeling density in multicellular spheroids. **Int J Cancer**, v. 61, n. 4, p.

567-73, May. 16, 1995. ISSN 0020-7136 (Print) 0020-7136. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7759162/>>. Acesso em: 22 jan. 2024.

HILL, R. P.; MARIE-EGYPTIENNE, D. T.; HEDLEY, D. W. Cancer stem cells, hypoxia and metastasis. **Semin Radiat Oncol**, v. 19, n. 2, p. 106-11, Apr. 2009. ISSN 1053-4296. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19249648/>>. Acesso em: 22 dez. 2024.

HOROS. **Horos v 3.3.2**. 2024. Disponível em: <<https://horosproject.org>>. Acesso em: 16 jan. 2024.

HOSKIN, P. J.; CARNELL, D. M.; TAYLOR, N. J.; SMITH, R. E.; STIRLING, J. J.; DALEY, F. M.; SAUNDERS, M. I.; BENTZEN, S. M.; COLLINS, D. J.; D'ARCY, J. A.; PADHANI, A. P. Hypoxia in prostate cancer: correlation of BOLD-MRI with pimonidazole immunohistochemistry-initial observations. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 68, n. 4, p. 1065-71, Jul. 15, 2007. ISSN 0360-3016 (Print) 0360-3016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17637389/>>. Acesso em: 16 jan. 2024.

HOSKIN, P. J. Hypoxia dose painting in prostate and cervix cancer. **Acta Oncol**, v. 54, n. 9, p. 1259-62, 2015. ISSN 0284-186x. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26148050/>>. Acesso em: 25 jan. 2024.

HSIEH, C. H.; LEE, C. H.; LIANG, J. A.; YU, C. Y.; SHYU, W. C. Cycling hypoxia increases U87 glioma cell radioresistance via ROS induced higher and long-term HIF-1 signal transduction activity. **Oncol Rep**, v. 24, n. 6, p. 1629-36, Dec. 2010. ISSN 1021-335x. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21042761/>>. Acesso em: 25 jan. 2024.

HUMPHREY, P. A. Histopathology of Prostate Cancer. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 7, n. 10, Oct. 3, 2017. ISSN 2157-1422. DOI: 10.1101/cshperspect.a030411. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28389514/>>. Acesso em: 22 out. 2023.

JANSSEN, H. L.; HAUSTERMANS, K. M.; BALM, A. J.; BEGG, A. C. Hypoxia in head and neck cancer: how much, how important? **Head Neck**, v. 27, n. 7, p. 622-38, Jul. 2005. ISSN 1043-3074 (Print) 1043-3074. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15952198/>>. Acesso em: 22 dez. 2024.

JOHANSSON, J.-E.; ANDRÉN, O.; ANDERSSON, S. O.; DICKMAN, P. W.; HOLMBERG, L.; MAGNUSON, A.; ADAMI, H. O. Natural History of Early, Localized Prostate Cancer. **JAMA**, v. 291, n. 22, p. 2713-2719, 2004. ISSN 0098-7484. Disponível em: <<https://doi.org/10.1001/jama.291.22.2713>>. Acesso em: 2/13/2020.

KATO, Y.; YASHIRO, M.; FUYUHIRO, Y.; KASHIWAGI, S.; MATSUOKA, J.; HIRAKAWA, T.; NODA, S.; AOMATSU, N.; HASEGAWA, T.; MATSUZAKI, T.; SAWADA, T.; OHIRA, M.; HIRAKAWA, K. Effects of acute and chronic hypoxia on

the radiosensitivity of gastric and esophageal cancer cells. **Anticancer Res**, v. 31, n. 10, p. 3369-75, Oct. 2011. ISSN 0250-7005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21965748/>>. Acesso em: 15 out. 2023.

KICKINGEREDER, P.; SAHAM, F.; WIESTLER, B.; ROETHKE, M.; HEILAND, S.; SCHLEMMER, H. P.; WICK, W.; VON DEIMLING, A.; BENDSZUS, M.; RADBRUCH, A. Evaluation of microvascular permeability with dynamic contrast-enhanced MRI for the differentiation of primary CNS lymphoma and glioblastoma: radiologic-pathologic correlation. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 35, n. 8, p. 1503-8, Aug. 2014. ISSN 0195-6108 (Print) 0195-6108. Disponível em: <<https://www.ajnr.org/content/35/8/1503>>. Acesso em: 15 nov. 2023.

KIMBRO, K. S.; SIMONS, J. W. Hypoxia-inducible factor-1 in human breast and prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*, v. 13, n. 3, p. 739-49, Sep. 2006. ISSN 1351-0088 (Print) 1351-0088. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16954428/>>. Acesso em: 20 dez. 2023.

KIZAKA-KONDOH, S.; KONSE-NAGASAWA, H. Significance of nitroimidazole compounds and hypoxia-inducible factor-1 for imaging tumor hypoxia. **Cancer Sci**, v. 100, n. 8, p. 1366-73, Aug. 2009. ISSN 1347-9032. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19459851/>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

KUBAN, D. A.; LEVY, L. B.; CHEUNG, M. R.; LEE, A. K.; CHOI, S.; FRANK, S.; POLLACK, A. Long-term failure patterns and survival in a randomized dose-escalation trial for prostate cancer. Who dies of disease? **International journal of radiation oncology, biology, physics**, United States, v. 79, n. 5, p. 1310-1317, 2011. ISSN 1879-355X. Disponível em: <[https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20493642](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20493642/)>. Acesso em: 15 jan. 2024.

KUNDER, S.; VHATTERJEE, A.; MANNA, S.; MAHIMKAR, M.; PATIL, A.; RANGARAJAN, V.; BUDRUKKAR, A.; GHOSH-LASKAR, S.; AGARWAL, J. P.; GUPTA, T. Correlation between imaging and tissue biomarkers of hypoxia in squamous cell cancer of the head and neck. **World J Nucl Med**, v. 20, n. 3, p. 228-236, Jul-Sep. 2021. ISSN 1450-1147 (Print) 1450-1147. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8488888/>>. Acesso em: 02 dez. 2023.

LE, Q. T.; COURTER, D. Clinical biomarkers for hypoxia targeting. **Cancer Metastasis Rev**, v. 27, n. 3, p. 351-62, Sep. 2008. ISSN 0167-7659 (Print) 0167-7659. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835406/>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

MILOSEVIC, M.; WARDE, P.; MÉNARD, C.; CHUNG, P.; TOI, A.; ISHKANIAN, A.; MCLEAN, M.; PINTILIE, M.; SYKES, J.; GOSPODAROWICZ, M.; CATTON, C.; HILL, R. P.; BRISTOW, R. Tumor hypoxia predicts biochemical failure following radiotherapy for clinically localized prostate cancer. **Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research**, United States, v.



18, n. 7, p. 2108-2114, 2012. ISSN 1078-0432. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22465832>>. Acesso em: 10 nov. 2023.

MIYAZAWA, K.; TANAKA, T.; NAKAI, D.; MORITA, N.; SUZUKI, K.  
Immunohistochemical expression of four different stem cell markers in prostate cancer: High expression of NANOG in conjunction with hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression is involved in prostate epithelial malignancy. **Oncol Lett**, v. 8, n. 3, p. 985-992, Sep. 2014. ISSN 1792-1074 (Print) 1792-1074. Disponível em:  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4114613/>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

MOTTET, N.; VAN DEN BERGH, R.; BRIERS, E.; VAN DEN BROECK, T.; CUMBERBATCH, M. G.; SANTIS, M.; FANTI, S.; FOSSATI, N.; GANDAGLIA, G.; GILLESSEN, S.; GRIVAS, N.; GRUMMET, J.; HERRY, A. M.; VAN DER KWAST, T.; LAM, T. B.; LARDAS, M.; LIEW, M.; MASON, M. D.; MORIS, L.; OPREA-LAGER, D. E.; VAN DER POEL, H. G.; ROUVIÈRE, O.; SCHOOTS, I. G.; TILKI, D.; WIEGEL, T.; WILLEMSE, P. P. M.; CORNFORD, P. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer—2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. **European Urology**, v. 79, n. 2, p. 243-262, 2021/02/01/. 2021. ISSN 0302-2838. Disponível em:  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283820307697>>. Acesso em: 15 nov. 2023.

MOVASAS, B.; CHAPMAN, J. D.; HANLON, A. L.; HORWITZ, E. M.; PINOVER, W. H.; GREENBERG, R. E.; STOBBE, C.; HANKS, G. E. Hypoxia in human prostate carcinoma: an Eppendorf PO<sub>2</sub> study. **Am J Clin Oncol**, v. 24, n. 5, p. 458-61, Oct. 2001. ISSN 0277-3732 (Print) 0277-3732. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11586096/>>. Acesso em: 23 out. 2023.

MUGLIA, V. F.; REIS, R. B.; ROCHA, T. O.; SILVA, A. R.; NOWOROLSKI, S.; WESTPHALEN, A. C. Hypoenhancing prostate cancers on dynamic contrast-enhanced MRI are associated with poor outcomes in high-risk patients: results of a hypothesis generating study. **Abdominal Radiology**, v. 44, n. 2, p. 723-731, 2019/02/01. 2019. ISSN 2366-0058. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00261-018-1771-1>>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MUZ, B.; PUENTE, P. L.; AZAB, F.; AZAB, A. K. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. **Hypoxia (Auckl)**, v. 3, p. 83-92, 2015. ISSN 2324-1128 (Print) 2324-1128. Disponível em:  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5045092/>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

NACIONAL CANCER INSTITUTE. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. **SEER stat fact sheets: prostate cancer statistics at a glance**. 2015. Disponível em: <<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

O'CONNOR, J. P. B.; ROBINSON, S. P.; WATERTON, J. C. Imaging tumour hypoxia with oxygen-enhanced MRI and BOLD MRI. **Br J Radiol**, v. 92, n. 1095, p. 20180642, Mar. 2019. ISSN 0007-1285 (Print) 0007-1285. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30272998/>>. Acesso em: 10 fev. 2024.

OGBONNAYA, C. N.; ALSAEDI, B. S. O.; ALHUSSAINI, A. J.; HISLOP, R.; PRATT, N.; NABI, G. Radiogenomics Reveals Correlation between Quantitative Texture Radiomic Features of Biparametric MRI and Hypoxia-Related Gene Expression in Men with Localised Prostate Cancer. **J Clin Med**, v. 12, n. 7, Mar. 30, 2023. ISSN 2077-0383 (Print) 2077-0383. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37048688/>>. Acesso em: 30 out. 2023.

OTO, A.; YANG, C.; KAYHAN, A.; TRETIAKOVA, M.; ANTIC, T.; SCHIMIDTANNWALD, C.; EGGNER, S.; KARZMAR, G.; STADLER, W. Diffusion-weighted and dynamic contrast-enhanced MRI of prostate cancer: correlation of quantitative MR parameters with Gleason score and tumor angiogenesis. **AJR - American journal of roentgenology**, United States, v. 197, n. 6, p. 1382-1390, 2011. ISSN 1546-3141. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22109293>>. Disponível em: 05 nov. 2023.

PADHANI, A. R.; GAPINSKI, C. J.; MACVICAR, D. A.; PARKER, G. J.; SUCKLING, J.; REVELL, P. B.; LEACH, M. O.; DEARNALEY, D. P.; HUSBAND, J. E. Dynamic contrast enhanced MRI of prostate cancer: correlation with morphology and tumour stage, histological grade and PSA. **Clinical radiology**, England, v. 55, n. 2, p. 99-109, 2000. ISSN 0009-9260. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10657154>>. Disponível em: 12 dez. 2023.

PROESTAT. **Consultoria estatística e pesquisa de mercado**. 2023. Disponível em: <https://www.proestat.com.br/>. Acesso em: 15 dez. 2023.

RAGNUM, H. B.; VLATKOVIC, L.; LIE, A. K.; AXCRONA, K.; JULIN, C. H.; FRIKSTAD, K. M.; HOLE, K. H.; SELERSTAD, T.; LYNG, H. The tumour hypoxia marker pimonidazole reflects a transcriptional programme associated with aggressive prostate cancer. **British journal of cancer**, v. 112, n. 2, p. 382-390, 2015. ISSN 1532-1827 0007-0920. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4453458/>>. Acesso em: 22 dez. 2023.

RAWLA, P. Epidemiology of Prostate Cancer. **World J Oncol**, v. 10, n. 2, p. 63-89, Apr. 2019. ISSN 1920-4531 (Print) 920-4531. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31068988/>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

REN, J. HUAN, Y.; WANG, H.; CHANG, Y. J.; ZHAO, H. T.; GE, Y. L.; LIU, Y.; YANG, Y. Dynamic contrast-enhanced MRI of benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma: correlation with angiogenesis. **Clinical radiology**, England, v. 63, n. 2, p. 153-159, 2008. ISSN 0009-9260. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18194690/>>. Acesso em: 28 nov. 2023.

ROCKWELL, S.; DOBRUCKI, I. T.; KIM, E. Y.; MARRISON, S. T.; VU, V. T. Hypoxia and radiation therapy: past history, ongoing research, and future promise. **Curr Mol Med**, v. 9, n. 4, p. 442-58, May, 2009. ISSN 1566-5240 (Print) 1566-5240. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19519402/>>. Acesso em: 18 out. 2024.

SAS. **SAS 9.1.3**. Cary, NC: SAS Institute Inc.: Help and Documentation. 2006. p. 2002-2004. Disponível em: <[https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/sasdoc\\_913/base\\_proc\\_8977.pdf](https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/91pdf/sasdoc_913/base_proc_8977.pdf)>. Acesso em: 26 out. 2023.

SEMENZA, G. L. Targeting HIF-1 for cancer therapy. **Nat Rev Cancer**, v. 3, n. 10, p. 721-32, Oct. 2003. ISSN 1474-175X (Print). Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13130303/>>. Acesso em: 12 fev. 2024.

SHAISH, H.; TANEJA, S. S.; ROSENKRANTZ, A. B. Prostate MR Imaging: An Update. **Radiologic clinics of North America**, United States, v. 55, n. 2, p. 303-320, 2017. ISSN 1557-8275. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28126217/>>. Acesso em: 20 dez. 2023.

SMITH, C. V.; BAUER, J. J.; CONNELLY, R. R.; SEAY, T.; KANE, C.; FOLEY, J.; THRASHER, J. B.; KUSUDA, L.; MOUL, J. W. Prostate cancer in men age 50 years or younger: a review of the Department of Defense Center for Prostate Disease Research multicenter prostate cancer database. **The Journal of urology**, United States, v. 164, n. 6, p. 1964-1967, 2000. ISSN 0022-5347. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11061892/>>. Acesso em: 15 jan. 2024.

TAMADA, T.; PRABHU, V.; LI, J.; BABB, J. S.; TANEJA, S. S.; ROSENKRANTZ, A. B. Assessment of prostate cancer aggressiveness using apparent diffusion coefficient values: impact of patient race and age. **Abdom Radiol (NY)**, v. 42, n. 6, p. 1744-1751, Jun. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28161826/>>. Acesso em: 18 jan. 2024.

TEAM, R. A language and environment for statistical computing. **Computing**. **1. 10.1890/0012-9658(2002)083[3097: CFHIWS]2.0.CO;2. 2013**. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/223190053\\_A\\_language\\_and\\_environment\\_for\\_statistical\\_computing](https://www.researchgate.net/publication/223190053_A_language_and_environment_for_statistical_computing)>. Acesso em: 12 dez. 2023.

TOFTS, P. S.; BRIX, G.; BUCKLEY, D. L.; EVELHOCH, E.; KNOPP, M. V.; LARSSON, H. B.; LEE, T. Y.; MAYR, N. A.; PARKER, G. J.; PORT, R. E.; TAYLOR, J.; WEISSKOFF, R. M. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols. **J Magn Reson Imaging**, v. 10, n. 3, p. 223-32, Sep. 1999. ISSN 1053-1807 (Print) 1053-1807. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10508281/>>. Acesso em: 01 dez. 2023.

VAN LEENDERS, G. J. L. H.; VAN DER KWAST, T. H.; GRIGNON, D. J.; EVANS, A. J.; KRISTIANSEN, G.; KWELDAM, C. F.; LITJENS, G.; MCKENNEY, J. K.; MELAMED, J.; MOTTET, N.; PANER, G. P.; SAMARATUNGA, H.; SCHOOTS, I. G.;

SIMKO, J. P.; TSUZUKI, T.; VARMA, M.; WARREN, A. Y.; WHEELER, T. M.; WILLIAMSON, S. R.; ICZKOWSKI, K. A. The 2019 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Grading of Prostatic Carcinoma. **Am J Surg Pathol**, v. 44, n. 8, p. e87-e99, Aug. 2020. ISSN 0147-5185 (Print) 0147-5185. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32459716/>>. Acesso em: 18 jan. 2024.

VERGIS, R.; CORBISHLEY, C. M.; NORMAN, A. R.; BARTLETT, J.; JHAVAR, S.; BORRE, M.; HEEBOLL, S.; HORWICH, A.; HUDDART, R.; KHOO, V.; EELES, R.; COOPER, C.; SYDES, M.; DEARNALEY, D.; PARKER, C. Intrinsic markers of tumour hypoxia and angiogenesis in localised prostate cancer and outcome of radical treatment: a retrospective analysis of two randomised radiotherapy trials and one surgical cohort study. **Lancet Oncol**, v. 9, n. 4, p. 342-51, Apr. 2008. ISSN 1470-2045. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18343725/>>. Acesso em: 12 fev. 2024.

VERMA, S.; TURKBEY, B.; MURADYAN, N.; RAJESH, A.; CORNUD, F.; HAIDER, M. A.; CHOYKE, P. L.; HARISINGHANI, M. Overview of Dynamic Contrast-Enhanced MRI in Prostate Cancer Diagnosis and Management. **American Journal of Roentgenology**, v. 198, n. 6, p. 1277-1288, 2012. Disponível em: <<https://www.ajronline.org/doi/abs/10.2214/AJR.12.8510>>. Acesso em: 05 jan. 2024.

VOS, E. K.; LITJENS, G. J. S.; KOBUS, T.; HAMBROCK, T.; KAA, C. A. H.; BARENTSZ, J. O.; HUISMAN, H. J.; SCHEENEN, T. W. J. Assessment of prostate cancer aggressiveness using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging at 3 T. **Eur Urol**, v. 64, n. 3, p. 448-55, Sep. 2013. ISSN 0302-2838. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23751135/>>. Acesso em: 15 out. 2023.

WALLER, J.; ONDERDONK, B.; FLOOD, A.; SWARTZ, H.; SHAH, J.; SHAH, A.; AYDOGAN, B.; HALPERN, H.; HASAN, Y. The clinical utility of imaging methods used to measure hypoxia in cervical cancer. **Br J Radiol**, v. 93, n. 1111, p. 20190640, Jul. 2020. ISSN 0007-1285 (Print) 0007-1285. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7336054/>>. Acesso em: 12 jan. 2024.

WANG, L.; LU, B.; HE, M.; WANG, Y.; WANG, Z.; DU, L. Prostate Cancer Incidence and Mortality: Global Status and Temporal Trends in 89 Countries From 2000 to 2019. **Front Public Health**, v. 10, p. 811044, 2022. ISSN 2296-2565. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35252092/>>. Acesso em: 30 jan. 2024.

WIKIMEDIA COMMONS. Gleasonscore. **File: Gleasonscore. JPG**. 2024. Disponível em: <[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gleasonscore\\_pl.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gleasonscore_pl.jpg)>. Acesso em: 02 fev. 2024.

ZHONG, H.; MARZO, A. M.; LAUGHNER, E.; LIM, M.; HILTON, D. Z.; ZAGZAG, D.; BUECHLER, P.; ISAACS, W. B.; SEMENZA, G. L.; SIMONS, J. W. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha in common human cancers and their metastases.

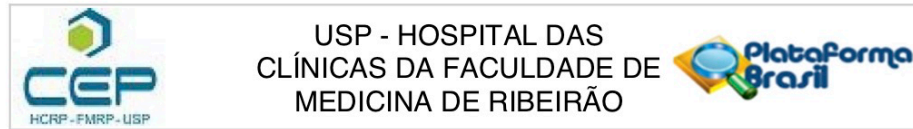
**Cancer Res**, v. 59, n. 22, p. 5830-5, Nov. 15, 1999. ISSN 0008-5472 (Print) 0008-5472. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10582706/>>. Acesso em: 22 nov. 2023.

ZOU, G. A modified poisson regression approach to prospective studies with binary data. **Am J Epidemiol**, v. 159, n. 7, p. 702-6, Apr. 1, 2004. ISSN 0002-9262 (Print) 0002-9262. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15033648/>>. Acesso em: 10 jan. 2024.



## APÊNDICES

### Apêndice 01 – Parecer Consubstanciado – CEP – HC-FMRP-USP



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Ressonância Magnética (RM) para detecção de hipóxia tumoral em neoplasia de próstata e sua correlação com desfecho clínico.

**Pesquisador:** EDUARDO MIGUEL FEBRONIO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 14152918.6.0000.5440

**Instituição Proponente:** Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.396.213

##### Apresentação do Projeto:

O presente estudo pretende avaliar a capacidade da Ressonância Magnética (RM) como método não invasivo para detecção de hipóxia em neoplasia maligna da próstata, considerando esse fator como um aspecto relacionado a comportamento mais agressivo da neoplasia e conseqüentemente com um prognóstico clínico desfavorável. Será realizado um estudo prospectivo incluindo pacientes do Hospital das Clínicas da FMRP-USP que realizarão RM de próstata com protocolo específico e biópsia prostática para o diagnóstico de neoplasia maligna. Os achados de RM serão correlacionados com a análise histopatológica para avaliar a capacidade do método de imagem na detecção de hipóxia tumoral comprovada histologicamente.

##### Objetivo da Pesquisa:

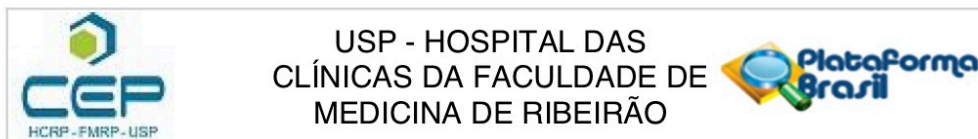
Avaliar a capacidade da ressonância magnética de detectar hipóxia tumoral em neoplasia de próstata, demonstrada por marcadores histológicos e correlacionar com a evolução clínica.

##### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

**Riscos:** Não apresenta riscos adicionais. Os pacientes serão submetidos aos exames de RM e biópsia, assim como ao tratamento invariavelmente.

**Benefícios:** Aumentar a capacidade de detecção de um estudo não invasivo - RM - como preditor de neoplasias de alta agressividade, possibilitando abordagens terapêuticas dirigidas e específicas à condição desses pacientes.

**Endereço:** CAMPUS UNIVERSITÁRIO  
**Bairro:** MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900  
**UF:** SP **Município:** RIBEIRAO PRETO  
**Telefone:** (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 3.396.213

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Consiste em estudo prospectivo onde serão selecionados pacientes com diagnóstico de neoplasia maligna prostática e classificação de risco intermediária ou alta, confirmado pela análise histopatológica, em acompanhamento no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. O intervalo máximo entre a realização do exame histopatológico e a RM será de 30 dias.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Documentos devidamente apresentados.

**Recomendações:**

não se aplica

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa, assim como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido versão 2 - 04/06/2019, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

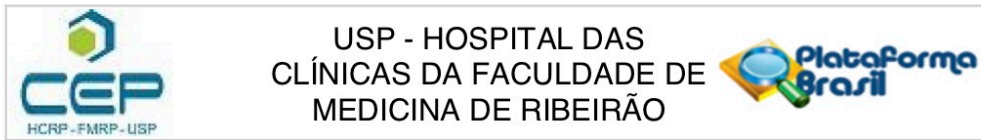
Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1273458.pdf	04/06/2019 10:00:13		Aceito
Outros	cartaCEP.pdf	04/06/2019 09:58:02	EDUARDO MIGUEL FEBRONIO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclecorrigido.pdf	04/06/2019 09:46:03	EDUARDO MIGUEL FEBRONIO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoCompleto.docx	20/05/2019 16:21:00	EDUARDO MIGUEL FEBRONIO	Aceito
Outros	upcaprovado.pdf	17/05/2019 19:57:53	EDUARDO MIGUEL FEBRONIO	Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO  
 Bairro: MONTE ALEGRE CEP: 14.048-900  
 UF: SP Município: RIBEIRAO PRETO  
 Telefone: (16)3602-2228 Fax: (16)3633-1144 E-mail: cep@hcrp.usp.br





Continuação do Parecer: 3.396.213

Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	17/05/2019 19:55:51	EDUARDO MIGUEL FEBRONIO	Aceito
----------------	------------------	------------------------	----------------------------	--------

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIBEIRAO PRETO, 17 de Junho de 2019

---

**Assinado por:**  
**MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** CAMPUS UNIVERSITÁRIO  
**Bairro:** MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900  
**UF:** SP **Município:** RIBEIRAO PRETO  
**Telefone:** (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br