



Universidad de Chile
Facultad de Medicina
Escuela de Postgrado

**“TAPCells cargadas con líneas celulares de cáncer de próstata como terapia neoadyuvante
en cáncer de próstata órgano-confinado”**

Programa de Doctorado en Ciencias médicas asociado a especialidad (Urología)

Alumno: Alfredo Aliaga De La Fuente

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'DR Osorio'.

Tutor Clínico: Diego Reyes Osorio.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'F Salazar Onfray'.

Tutor Básico: Flavio Salazar Onfray.

Índice	Página
• Abreviaturas	3
• Resumen	4
• Introducción y epidemiología cáncer de próstata	6
• Mortalidad por cáncer de próstata	7
• Presentación clínica y estratificación de riesgo y tratamiento	7
• Rol de resonancia nuclear magnética en cáncer de próstata	9
• Recidiva bioquímica en cáncer de próstata	11
• Neoadyuvancia cáncer de próstata	12
• Sistema inmune y cáncer	13
• Inmunología cáncer de próstata	15
• Células dendríticas y su rol como inmunoterapia antitumoral	17
• TAPCells: Células presentadoras de antígeno generadas ex vivo para uso en inmunoterapia contra el cáncer	18
• Inmunoadyuvantes	20
• TAPCells en el tratamiento de cáncer de próstata	21
• Propuesta de investigación	23
• Metodología	24
• Resultados	30
• Discusión	34
• Conclusiones	42
• Figuras y tablas	43
• Anexo	52
• Bibliografía	55

Abreviaturas

ADC: coeficiente de difusión aparente

APE: antígeno prostático específico

CCH: Concholepas concholepas hemocianina

CTCAE: Common Terminology Criteria for Adverse V 5.0

DC: células dendríticas

DRE: examen digital rectal

DWI: Diffusion weighted standart

EORTC QLQ-C30: European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Core Questionnaire

iDCs: células dendríticas inmaduras

ISUP: International Society of Urological Pathology

LT: linfocitos T

MDSC: células supresoras mieloides derivadas

mpRNM: resonancia multiparamétrica de próstata

NK: natural killers

PAP: fosfatasa ácida prostática

PBMC: células mononucleares de sangre periférica

PCCL: lisado celular cáncer próstata

PSM: prostático específico de membrana

RB: recidiva bioquímica

TAAs: antígenos asociados a tumores

TDA: terapia deprivación androgênica

Tils: linfocitos infiltrantes de tumor

Resumen

Introducción: El cáncer de próstata es el tumor más frecuentemente diagnosticado en hombres en el mundo y constituye la segunda causa de muerte por cáncer en Chile y en países desarrollados. Entre un 27-56% de los pacientes tratados con intención curativa pueden presentar recurrencia bioquímica de la enfermedad. Actualmente no se han descrito terapias neoadyuvantes que determinen una mejoría en sobrevida global ni de recidiva bioquímica (RB), por lo que el manejo sigue siendo en base a tratamientos adyuvantes, de rescate o paliativos. La inmunoterapia contra el cáncer basada en células dendríticas DCs ha demostrado ser un tratamiento seguro, sin efectos adversos significativos, capaz de generar una respuesta inmune celular antitumoral específica. La inmunoterapia basada en TAPCells cargadas con lisado tumoral de cáncer de próstata, ha demostrado ser segura en pacientes con cáncer de próstata castración resistente. En este contexto hemos planteado que TAPCells puede ser una terapia neoadyuvante segura y eficaz en pacientes con cáncer de próstata órgano confinado de alto riesgo, sometidos a prostatectomía radical.

Materiales y métodos: Se ha diseñado un estudio clínico Fase I-II utilizando TAPCells cargadas con lisado tumoral de próstata, como terapia neoadyuvante en pacientes con cáncer de próstata órgano-confinado, con riesgo intermedio o alto de recurrencia, previo a prostatectomía radical, con el fin de evaluar la factibilidad, tolerabilidad, seguridad, el resultado clínico, imagenológico, oncológico y la respuesta inmune antitumoral inducida por TAPCells a nivel local y sistémico.

Resultados: Durante el periodo de estudio se reclutaron 7 pacientes. El 100 % completó el protocolo de neoadyuvancia con TAPCELLS, solo se reportaron efectos adversos leves G1 Y G2 de acuerdo al Common Terminology Criteria for Adverse (CTCAE) v5.0. Durante la inmunización, la terapia no afectó la calidad de vida de los pacientes. En términos globales no se evidenció progresión clínica, imagenológica ni de laboratorio en los pacientes sometidos

a terapia neoadyuvante. Los 7 pacientes se realizaron una prostatectomía radical y linfadenectomía pelviana cuyos resultados perioperatorios fueron similares a lo descrito en la literatura. 6 pacientes mostraron una respuesta inmune sistémica positiva medida como test DTH + a PCCL al término de la terapia. y se observó un incremento en la superficie tumoral infiltrada por linfocitos CD8+ a nivel histológico.

Discusión y conclusión: En este estudio se evidencia que TAPcells cargadas con lisado tumoral de próstata parecen ser una terapia segura, bien tolerada, sin efectos adversos significativos, capaz de desencadenar una respuesta inmune sistémica en pacientes con cáncer de próstata órgano confinado, sin progresión clínica de la enfermedad durante la neoadyuvancia.

Introducción y epidemiología del cáncer de próstata

El cáncer de próstata es un problema de salud pública significativo a lo largo del mundo, ya que representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad por cáncer. Es el tumor visceral más frecuentemente diagnosticado en hombres en el mundo y la segunda causa de muerte por cáncer en Chile y en algunos países desarrollados^{1,2}. En Estados Unidos, el cáncer de próstata representa el segundo cáncer más frecuentemente diagnosticado, superado sólo por los cánceres de piel no melanoma y la segunda causa de muerte por cáncer en hombres, superado por el cáncer de pulmón³. A nivel mundial se estima una incidencia 1.100.000 casos al año con 307.000 muertes atribuidas al cáncer de próstata¹. En Chile se estima una prevalencia de 22.500 casos, con una incidencia de 27,9 casos por 100.000 habitantes, estimando además un incremento de un 3,2 % anual en la incidencia en los últimos 10 años⁴.

El diagnóstico de cáncer de próstata ha ido aumentando en el mundo desde la inclusión y expansión del uso del antígeno prostático específico (APE) como método de tamizaje. Desde la introducción de este examen, la incidencia de cáncer de próstata alcanzó su máximo alrededor de 1992, declinó entre 1992 y 1995 y luego siguió ascendiendo alrededor de un 1% por año hasta la actualidad⁵. Las razones de este incremento en la incidencia no son bien conocidas, causas genéticas y medio ambientales han sido implicadas, sin embargo en el año 2008 el United States Preventative Services Task Force (USPSTF) manifestó su recomendación en contra del tamizaje en pacientes mayores de 75 años dándole un nivel de recomendación D⁶. Luego en 2012 el USPSTF hizo una recomendación en contra del tamizaje global⁶, esto fue basado en que el beneficio de diagnosticar el cáncer de próstata tempranamente puede no superar los riesgos del tratamiento, especialmente considerando que en su comportamiento clínico, el cáncer de próstata varía desde un tumor microscópico, bien diferenciado, que puede nunca ser clínicamente significativo, hasta un tumor de alto grado que causa metástasis, morbilidad y muerte⁷⁻⁹. Debido a estos cambios en las recomendaciones, recientemente se ha reportado una disminución de la incidencia en Estados Unidos de alrededor de un 5,9% desde el 2009⁵, mostrando además un incremento en el diagnóstico de cáncer de próstata en etapas avanzadas^{10,11}. Este aumento puede ser

explicado por una disminución en el tamizaje o bien por una mejoría de los métodos de etapificación utilizados⁵.

Mortalidad por cáncer de próstata

En términos de mortalidad por cáncer de próstata, no se observan grandes variaciones a nivel mundial, ya que el efecto del tamizaje con APE tiene un gran efecto en términos de incidencia pero no de mortalidad¹². Globalmente el cáncer de próstata representa la quinta causa de muerte por cáncer en hombres, representando un 6,6 % del total de las muertes, sin embargo, se observa un número mayor de muertes en los países menos desarrollados en comparación con los desarrollados (165.000 y 142.000 respectivamente). Además se observan mayores índices de mortalidad en población negra y muy baja en población asiática, encontrándose la población americana y de Oceanía en una situación intermedia^{12,13}. A nivel local las cifras de mortalidad muestran que el cáncer de próstata representa la segunda causa de muerte por cáncer en hombres, con 2.270 muertes por año y una tasa de 25,2 por cada 100.000 habitantes aproximadamente^{12,14}. Sin embargo en términos de mortalidad se estima una disminución de aproximadamente un 0,8% en los últimos 10 años⁴.

Presentación clínica y estratificación de riesgo:

El cáncer de próstata en etapas temprana suele ser asintomático. Actualmente, alrededor de un 80% de los pacientes diagnosticados con cáncer de próstata, se realizaron una biopsia por presentar un APE alterado, sin embargo el tacto rectal aún mantiene un rol al detectar anomalías que determinan que alrededor de un 20% de los pacientes se realicen una biopsia de próstata independiente del valor de APE¹⁵. En países desarrollados, el cáncer de próstata suele ser diagnosticado en etapas tempranas debido al amplio uso del tamizaje con APE, sin embargo con la creciente disminución del tamizaje, los tumores órgano confinados han comenzado a ser más infrecuentes aumentando la incidencia de tumores más invasivos¹⁶. Recientemente se ha reportado un incremento en el diagnóstico de cáncer de próstata metastásico^{5,10,17}. De forma interesante recientemente se ha descrito que desde la

recomendación del USPSTF, han disminuido el número de biopsias realizadas, la incidencia de cáncer de próstata y el número de pacientes que reciben tratamiento local definitivo¹⁸. Actualmente según la base de datos Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) en Estados Unidos, de los hombres diagnosticados con cáncer de próstata, un 80% se presenta con enfermedad localizada, 12% presenta enfermedad regional y un 4% presenta enfermedad diseminada¹⁹. Sin embargo datos nacionales del Instituto Nacional del Cáncer, muestran que hasta un 24,7 % de los pacientes debutan con enfermedad diseminada²⁰. Actualmente para un hombre americano el riesgo de desarrollar cáncer de próstata a lo largo de su vida es de un 16 %, pero el riesgo de morir por cáncer de próstata es sólo de un 2,9%²¹.

Cuando el cáncer se diagnostica en etapas tempranas, es decir, en su estado órgano confinado, la posibilidad de curación es elevada, ya sea con cirugía o radioterapia²², pese a esto existe una gran heterogeneidad en la evolución y progresión de distintos subtipos de cáncer de próstata, por lo que actualmente es necesario no sólo identificar a los pacientes con enfermedad localizada, sino que es preciso utilizar herramientas que nos permitan estratificar la agresividad de los tumores de próstata, para así ofrecer alternativas terapéuticas a aquellos pacientes que se beneficien del tratamiento^{1-3,19,23}.

El manejo inicial de un paciente con cáncer de próstata actualmente debe incorporar la consideración de la historia natural de la enfermedad, su riesgo de progresión y diseminación, así como el potencial de desarrollar una enfermedad mortal¹¹.

La evaluación inicial debe incluir una etapificación clínica a través de un examen digital rectal (DRE), un APE, el *score* de Gleason en la biopsia inicial, el número y la extensión del compromiso tumoral en los cores de la biopsia y en casos seleccionados esto puede ser complementado con características moleculares del tumor, estudios imagenológicos como tomografía computada, resonancia magnética o cintigrama óseo, que permiten evaluar la diseminación locorregional y a distancia del cáncer, dependiendo de la etapificación clínica inicial^{24,25}.

Se han desarrollado múltiples nomogramas que, utilizando el estadio clínico, APE y el *score* de Gleason, clasifican a los pacientes según su riesgo de falla de tratamiento habitualmente medido como recidiva bioquímica (RB)^{26,27}.

La clasificación más utilizada es la de D'Amico, que consiste en estratificar a los pacientes en 3 grupos de acuerdo a los parámetros previamente mencionados: bajo riesgo, riesgo intermedio y alto riesgo de recurrencia (Figura 1)²⁷. Según la clasificación de D'Amico, la probabilidad de recurrencia bioquímica a 5 años en el grupo de bajo riesgo es de un 5,5-10%; un 22-23,4% para riesgo intermedio y un 32-45,4% para el grupo de alto riesgo^{26,28}. Esta clasificación también orienta a que tratamiento ofrecer a cada paciente, con el objetivo de disminuir la probabilidad de recurrencia post terapia con intención curativa^{24,25}. Actualmente de los pacientes que debutan con enfermedad órgano confinada, un 38,6 % corresponde a riesgo bajo; 37,8 % intermedio y 23,6 alto riesgo⁸. Considerando que más de un 50% de los pacientes tienen un riesgo significativo de falla al tratamiento, es que se han intentado múltiples estrategias para disminuir este riesgo²⁹.

Rol de resonancia nuclear magnética en cáncer de próstata

La resonancia multiparamétrica de próstata (mpRNM) fue introducida a la práctica médica en 1982 utilizando un resonador 0,08 Tesla³⁰. Desde esa fecha a la actualidad ha demostrado ser una valiosa herramienta de diagnóstico en la evaluación de pacientes con cáncer de próstata. La excelente resolución y la alta relación señal/ruido proporcionadas por la mpRNM, proporcionan una mejor comprensión de la histopatología subyacente de la próstata³¹. Hay tres secuencias de imágenes individuales que deben obtenerse durante un examen de mpRNM, éstos incluyen: imágenes ponderadas por difusión (DWI) con el coeficiente de difusión aparente (ADC), imágenes potenciadas en T2 (T2W) e imágenes dinámicas mejoradas con contraste endovenoso (DCE)^{32,33}. Dado el creciente uso de la mpRNM se desarrolló un sistema de informe estandarizado llamado PI-RADS. Éste es utilizado para caracterizar y evaluar todos los nódulos prostáticos intraglandulares. Este puntaje clasifica cada lesión en una escala de 1 a 5, siendo 1 muy probablemente benigno y

5 una alta sospecha de malignidad³⁴. Para la detección de cáncer con puntaje de Gleason ≥ 7 , la mpRNM evaluada según PI-RADS v2.0 demuestra una sensibilidad de 0,85 (IC del 95%: 0,78-0,91) y una especificidad de 0,71 (IC del 95%: 0,60-0,80.)³⁵, además en lesiones PI-RADS 1 y 2 se ha reportado un valor predictivo negativo de hasta un 90% para cáncer clínicamente significativo^{36,37}. Así, en la actualidad, la mpRNM se ha posicionado como una herramienta útil en el estudio de pacientes con APE persistentemente elevado y biopsia de próstata negativa³⁴, localización anatómica de la lesión tumoral³², biopsias dirigidas de próstata³⁸ y etapificación local del tumor. Esto ha facilitado la distinción de pacientes con tumores órgano confinados (\leq pT2c) de pacientes con extensión extraprostática (\geq pT3a), como también etapificación a nivel de compromiso linfonodal^{39,40}. Además ha permitido el seguimiento de pacientes en vigilancia activa y en el monitoreo de terapias locales en cáncer de próstata³¹. Se sabe que el valor del ADC se correlaciona inversamente con la densidad celular de un tejido evaluado⁴¹. Así se han utilizado aumentos en el valor del ADC como un predictor de respuesta citotóxica en distintas neoplasias⁴¹⁻⁴³. En esta línea, se ha descrito recientemente, que una mejoría en el ADC en respuesta a inmunoterapias utilizadas como neoadyuvancia en cáncer de próstata de alto riesgo, se correlaciona con una respuesta inmune antitumoral caracterizada por mayor infiltración de linfocitos T CD8⁺³⁸. Esto ha posicionado a la mpRNM como una nueva herramienta de monitorización de respuesta clínica. Sin embargo en la actualidad existen dos problemáticas respecto al seguimiento de pacientes con cáncer de próstata utilizando mpRNM: uno es la falta de consenso en la definición de progresión radiológica, ya que las lesiones habitualmente no cumplen los criterios de respuesta de los tumores sólidos ("*RECIST criteria*") y que recientemente se ha descrito que los pacientes sometidos a inmunoterapias presentan discordancia entre la respuesta clínica y la respuesta radiológica medida por RECIST^{44,45}, por lo que aún se requieren mayores estudios que permitan describir adecuadamente la evolución y respuesta clínica de las lesiones medibles en la mpRNM y su correlato anatomopatológico.

Recidiva bioquímica en cáncer de próstata

La recidiva bioquímica (RB) consiste en un progresivo aumento del APE en el seguimiento posterior de un paciente sometido a un tratamiento con intención curativa, tanto con cirugía como radioterapia^{9,24}. Dependiendo de la terapia inicial utilizada se define operacionalmente para pacientes sometidos a prostatectomía radical, como dos mediciones de APE mayores de 0,2 ng/ml⁴⁶. En pacientes sometidos a radioterapia se utilizan los criterios de Phoenix como un incremento en el APE de 2ng/ml sobre el nadir alcanzado⁴⁶. Ésta puede ocurrir por la presencia de tejido prostático maligno o benigno, local o a distancia⁴⁷, por lo tanto una RB no necesariamente predice el desarrollo de metástasis o muerte⁴⁷. En muchos casos la historia natural de la enfermedad es muy prolongada, por lo que la decisión de realizar una terapia de rescate no radica simplemente en el hecho de presentar una RB^{9,24,47}. Se sabe que aproximadamente un 50% de las RB se presentan en los primeros 2 años posteriores a la prostatectomía radical^{47,48}. De aquellos pacientes que presentan RB post prostatectomía radical, entre un 23-35% presentarán progresión clínica y sólo alrededor de un 16% morirá por cáncer de próstata^{7,47}. Sin embargo, ante una RB después de una prostatectomía radical, la radioterapia de rescate asociada a la terapia de deprivación androgénica (TDA) representan un tratamiento curativo logrando que un 80% de los pacientes a 5 años se encuentren libre de progresión⁴⁹, mostrando en este contexto resultados comparables a la radioterapia adyuvante en términos de progresión y supervivencia global⁵⁰. Lamentablemente, estos pacientes también presentan un significativo deterioro de su continencia urinaria y de su potencia sexual⁵¹, además de incrementar los costos de manejo en hasta \$US 6023 por paciente⁵². Ante este escenario se genera un problema fundamental, la gran mayoría de los pacientes que presenten una RB serán sobretratados, con los efectos secundarios y costos que generan las terapias adyuvantes. Por esta razón, la búsqueda de terapias neoadyuvantes seguras y con beneficio clínico oncológico que permitan disminuir la necesidad de tratamientos de rescate son un blanco terapéutico en desarrollo.

Neoadyuvancia en cáncer de próstata

A la fecha no existe consenso respecto al óptimo manejo de los pacientes con cáncer de próstata de alto riesgo, donde la prostatectomía radical y la radioterapia pueden ser alternativas equivalentes en términos de control local de la enfermedad⁵³. No obstante, estos pacientes presentan un alto riesgo de progresión a enfermedad metastásica⁵⁴, por lo tanto es razonable emplear terapias más agresivas, que puedan atacar el componente sistémico de la enfermedad. En este contexto, se han probado múltiples fármacos como terapia neoadyuvante en combinación con la prostatectomía radical o radioterapia^{53,55-63}. Múltiples estudios fase III se han realizado evaluando el posible rol de la TDA previo a la prostatectomía radical. En ellos se ha demostrado que la neoadyuvancia con TDA disminuye los márgenes quirúrgicos, compromiso extracapsular y compromiso linfonodal posterior a la prostatectomía radical; sin embargo, ninguno de estos estudios ha mostrado una mejoría significativa en relación a sobrevida libre de recidiva bioquímica o sobrevida global^{53,56,58,59}. Dos meta-análisis de estudios aleatorizados utilizando TDA neoadyuvante y prostatectomía radical comparados con sólo prostatectomía radical, demostraron los mismos resultados en relación al control local del tumor (extensión extraprostática, márgenes quirúrgicos positivos y compromiso linfonodal). Sin embargo, no se demostró efecto benéfico en relación a sobrevida libre de RB y sobrevida global^{58,59}. Múltiples razones explican estos resultados: falta de potencia estadística, corto seguimiento, la inclusión de pacientes de distintos riesgos (ya que la mayoría de los estudios fueron realizados previo a la introducción de los criterios de D'Amico) y la duración del tratamiento neoadyuvante que pudo no haber sido la adecuada⁵³.

Desde la introducción del docetaxel como tratamiento para pacientes con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, se ha probado este agente como terapia neoadyuvante. Algunos estudios Fase I-II han mostrado que docetaxel combinado con TDA es factible de utilizar, es bien tolerado y que otorga buenos resultados en términos de disminución del APE y control local del tumor^{57,60,61,64}. No obstante, mayores conclusiones respecto a sobrevida global y sobrevida libre de RB no pueden hacerse ya que todos estos estudios son Fase I-II. Actualmente existe un estudio fase III que completó su periodo de reclutamiento y del cual se esperan pronto resultados⁶².

En los últimos años, nuevos agentes se han introducido para el manejo de pacientes con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración: Abiraterona, Enzalutamida y Sipuleucel los que han mostrado mejorar la sobrevida cáncer específica y global en pacientes con cáncer de próstata castración resistente, en combinación con TDA^{29,65-67}. Más recientemente estos agentes se han utilizado como terapia neoadyuvante en estudios Fase I y II^{63,68}. Se ha reportado un estudio Fase III que evidencia una mejoría en la potencia de la TDA más abiraterona en términos de disminución local de andrógenos, pero no fue evaluada la sobrevida global ni la RB⁶³, por lo que la información actual aún no es concluyente. De todas formas, los estudios con terapia neoadyuvante proveen una gran oportunidad de mejorar el conocimiento sobre la biología tumoral en pacientes de alto riesgo. En estos estudios el tumor puede ser evaluado antes y después del tratamiento y distintas comparaciones pueden ser realizadas para evaluar el efecto de los fármacos y los mecanismos de resistencia a ellos, por lo que más estudios de neoadyuvancia debieran aumentar significativamente el conocimiento del campo.

Sistema inmune y cáncer

En la actualidad se considera al cirujano William Coley como el padre de la inmunoterapia del cáncer, esto después de notar que un paciente diagnosticado con un sarcoma de partes blandas presentaba una remisión del tumor posterior a una infección estreptocócica, lo que lo llevó a desarrollar posteriormente un preparado llamado la toxina de Coley, con el cual trató a más de 900 pacientes, logrando tasas de curación de alrededor del 10%⁶⁹. Estos avances no fueron suficientemente considerados por la comunidad científica de la época, por lo que no fue hasta los años 60 en que dos científicos, Burneth y Thomas, plantearían teorías respecto a la inmunovigilancia, basado en las observaciones de rechazo de tumores singénicos en ratones⁷⁰. Sin embargo en 1909 y de manera rudimentaria, Ehrlich había sugerido que los cánceres ocurrirían con una frecuencia abrumadora de no ser por el sistema inmune⁷¹. En los siguientes años la evidencia fue controversial respecto a la inmunovigilancia, por lo que la participación del sistema inmune en el control antitumoral permaneció como un hecho discutible⁷¹. No sería hasta los años 80, con el descubrimiento

de antígenos asociados a tumores (TAAs) utilizando linfocitos infiltrantes de tumores, como sensores de respuesta⁷² y la demostración que los tumores malignos eran inestables genéticamente, lo que producía que expresaran hasta 11.000 mutaciones genéticas por tumor⁷³ generando múltiples TAAs, que se reveló la importancia del sistema inmune, y, específicamente, de los linfocitos T en la respuesta antitumoral⁷¹. Actualmente está claramente demostrada la participación del sistema inmune en la prevención de la formación de tumores⁷⁴ y se considera la capacidad de los tumores de evadir el sistema inmune, como un sello del cáncer⁷⁵. Por esta razón, durante las últimas décadas se han utilizado diversas alternativas de manipulación del sistema inmune como terapias en diversos cánceres: se han empleado citoquinas como IFN- α e IL-2; vacunas utilizando antígenos tumorales, lisados tumorales, células presentadoras de antígenos, transferencia adoptiva de linfocitos T y uso de anticuerpos monoclonales⁷⁶. En los últimos años estas nuevas terapias han logrado resultados oncológicos clínicamente significativos, por lo que han sido aprobadas para su comercialización y aplicación en la práctica clínica^{77,78}

Entre los enfoques más prometedores para activar la inmunidad antitumoral se encuentra el uso de inhibidores de check point. Los check point inmunitarios se refieren a una gran cantidad de vías inhibitorias incorporadas al sistema inmunitario que son cruciales para mantener la tolerancia inmune y modular la duración y amplitud de las respuestas inmunitarias fisiológicas en los tejidos periféricos, con el fin de minimizar el daño colateral en el tejido⁷⁹. Actualmente está claro que los tumores coaptan ciertas vías del punto de control inmunitario, como un mecanismo importante de resistencia inmune, particularmente contra las células T, que son específicas para los antígenos tumorales. Debido a que muchos de los puntos de control inmunitarios son iniciados por las interacciones ligando-receptor, pueden ser bloqueados fácilmente por anticuerpos o modulados por formas recombinantes de ligandos o receptores, por lo que se han diseñado distintas estrategias para inhibir esta inhibición de las células T. Ipilimumab, anticuerpo monoclonal completamente humanizado, anti CTLA-4, demostró mejoría en la supervivencia global de pacientes con melanoma metastásico⁸⁰, esto provocó que fuese el primer inhibidor de check point aprobado por la FDA para su uso clínico en 2010⁷⁹. Desde esa fecha en

adelante, distintos estudios han mostrado la utilidad en otros tipos de cáncer como cáncer de próstata y urotelio⁸¹. Otra vía inmune de relevancia clínica actualmente esta representada por PD-1, en contraste con CTLA-4, que regula la activación de las células T, el papel principal de la PD-1 es limitar la actividad de las células T en los tejidos periféricos en el momento de una respuesta inflamatoria a la infección y limitar la autoinmunidad.. Actualmente hay dos anticuerpos dirigidos a PD-1 que han demostrado una eficacia terapéutica significativa en los ensayos clínicos: Nivolumab se considera un tratamiento estándar para el tratamiento del melanoma avanzado, cáncer de pulmón y carcinoma de células renales; Pembrolizumab ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento del melanoma avanzado y cáncer de pulmón^{79,81}. Tan relevante ha sido el aporte a la oncología de los inhibidores de checkpoint, que recientemente se ha galardonado a James P. Allison y Tasuku Honjo con el premio nobel de medicina por el descubrimiento de terapias oncológicas mediante la inhibición de la respuesta inmune inhibitoria de los tumores.

Inmunología cáncer de próstata

Tradicionalmente y casi como un dogma científico, se ha caracterizado a la próstata como un sitio de privilegio inmune⁸². Sobre la base de esta creencia, el cáncer de próstata se consideró inadecuado para inmunoterapias por mucho tiempo. Sin embargo la evidencia emergente de modelos preclínicos y estudios clínicos ha demostrado consistentemente la presencia de mediadores de inmunidad innata y adaptativa en el microambiente tumoral del cáncer de próstata⁸³. Se ha observado células Natural killers (NK) intratumorales y macrófagos, además de células T CD4 + y CD8 + que reconocen antígenos específicos del cáncer de próstata tanto a nivel intratumoral como en sitios inmunes periféricos^{82,84-86}. Además, la detección de autoanticuerpos específicos de próstata en pacientes con cáncer de próstata ha fortalecido el argumento de la inmunogenicidad del cáncer de próstata. Más aún en esta línea se ha observado un aumento del número de células T reguladoras CD4 +, CD25 + y CD8 + Foxp3 + en la glándula prostática y en sangre periférica de pacientes con cáncer de próstata, lo que sugiere un papel importante de la inmunosupresión activa de la inmunidad antitumoral^{87,88}. En esta línea, se ha observado que pacientes con una alta densidad de

linfocitos CD8+ intratumorales sometidos a prostatectomía radical, tienen mejor supervivencia a 5 años versus aquellos con baja densidad de infiltración linfocitaria. Es así como en la actualidad se considera al cáncer de próstata como un tumor inmunogénico⁸⁹. En la actualidad se ha tendido a subclasificar a los distintos tumores como calientes cuando estos evidencian un microambiente con gran número de infiltración de linfocitos T, elevada expresión del ligando de muerte programado-1 (PD-L1) y alta carga de neoantígenos. Se describen característicamente en esta categoría los cánceres de células claras renales, melanoma y cáncer de vejiga^{89,90}. El cáncer de próstata, por el contrario, es denominado como un tumor frío, ya que tiene una baja infiltración de células T, bajos niveles de expresión de PD-L1 y una baja carga de neoantígenos^{89,91-93}. De forma interesante, recientemente se ha descrito que el uso de sipuleucel-T (Provenge), que consiste en células presentadoras de antígeno cargadas con una proteína de fusión que incluye a la fosfatasa ácida prostática (PAP) y GM-CSF, administrado como terapia neoadyuvante a pacientes con cáncer de próstata, es capaz de aumentar en más de 3 veces la infiltración intraprostática de linfocitos CD3+, CD4+ FOXP3- y CD8+, asociado a una respuesta inmunológica sistémica. En esta línea se ha descrito un modelo evolutivo de la infiltración inmunológica a nivel tumoral en la evolución del cáncer de próstata, en la cual en etapas órgano confinadas sensibles a la castración, se observan bajos niveles de linfocitos infiltrantes de tumor (Tils) y baja expresión de PDL-1, mientras que en etapas metastásicas resistentes a la castración, se describen niveles elevados de Tils y alta expresión de PDL-1⁹⁴. De forma concordante con este modelo, se ha visto recientemente que pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración tratados con Sipuleucel-T, tenían una significativa mayor supervivencia cuando tenían APE más bajo, es decir, en etapas más tempranas de la enfermedad⁹⁵. Se ha descrito que en la tanto local como sistémica del cáncer de próstata, los niveles de células supresoras mieloides derivadas (MDSC), interleuquina 6, 8 y 10 aumentan progresivamente⁹⁶, lo que demuestra que en la medida que la enfermedad progresa no sólo se presenta una respuesta inmune escasa sino que ésta es también anérgica^{83,94}. En conjunto, estos datos podrían explicar la escasa efectividad que han tenido distintas aproximaciones inmunoterapéuticas en etapas tardías de la enfermedad, como el uso de inhibidores de checkpoint y vacunas⁸⁹. Esto permite plantear

que el escenario donde las inmunoterapias en cáncer próstata serían más útiles en etapas tempranas de la enfermedad, en las que hay un menor volumen tumoral, menor número de células inmunosupresoras y en la cual se podría transformar el cáncer de próstata en un tumor caliente desencadenando una respuesta inmune eficaz.

Células dendríticas y su rol como inmunoterapia antitumoral

Las células dendríticas (DC) son las principales células presentadoras de antígeno, jugando un rol central en la respuesta inmune adaptativa y en la tolerancia inmune⁹⁷. Se ubican principalmente en tejidos periféricos, donde capturan antígenos, migran a los linfonodos regionales y presentan dichos antígenos a linfocitos T (LT) CD4⁺ y CD8⁺⁹⁸, activando de manera específica a LT⁹⁹, por lo que las DC son consideradas el pivote de la respuesta inmune adaptativa.

Las DC se originan a partir de células progenitoras de la médula ósea, aunque también ha sido descrita su diferenciación a partir de monocitos de sangre periférica⁹⁸. En tejidos periféricos las DC presentan características que las definen como inmaduras (iDCs), que incluyen una gran capacidad fagocítica, lo que les otorga la función principal de capturar antígenos, así como la expresión de receptores de quimioquinas como CCR1, CCR5 y CCR6, que determinan el "homing" de iDC hacia tejidos periféricos¹⁰⁰. Al detectar la presencia de un patógeno o una célula anormal, las DC capturan antígenos e inician un proceso de maduración y activación: desarrollan prolongaciones citoplasmáticas, disminuyen su capacidad fagocítica, pierden marcadores de iDCs y expresan nuevos marcadores, principalmente moléculas que participan en la sinapsis inmunológica, como las moléculas coestimuladoras CD40, CD80 y CD86 y el marcador de activación CD83^{101,102}; aumenta la expresión moléculas de MHC clase I y II¹⁰³ y CCR7, receptor de las CCL19 y CCL21 las cuales son responsables de la migración hacia órganos linfoides secundarios¹⁰³. Al mismo tiempo, durante su maduración, las DC procesan y presentan los antígenos adquiridos en complejos MHC clase I y II a LT CD4⁺ y LT CD8^{+97,103}. Sin embargo, se ha descrito que en pacientes con cáncer las DC presentan cierto grado de disfunción, lo que favorece la progresión del tumor¹⁰⁴. De hecho DC aisladas de pacientes con cáncer de mama, no muestran marcadores

de maduración¹⁰⁴ por lo que aparentemente algunos factores derivados del tumor estarían suprimiendo activamente la función de las DC¹⁰⁴. Se ha identificado por ejemplo, que los tumores producen altos niveles de IL-10, lo que inhibe la maduración de DC y su capacidad de secretar IL-12¹⁰⁵. La IL-6 que también es producida por células tumorales y otros tipos de células presentes en el microambiente tumoral, lo que también tiene efectos inmunosupresores en las DC produciendo una disminución de la expresión de MHC II¹⁰⁵. En esta línea, niveles séricos elevados de IL-6 se han asociado a un peor pronóstico oncológico en distintos tipos de cáncer¹⁰⁵.

Debido a su capacidad de generar una respuesta inmune adaptativa, activando LT CD8⁺ y originando LT citotóxicos específicos, el uso de inmunoterapia antitumoral basada en DC es una de las estrategias para el tratamiento del cáncer más estudiadas. La capacidad de generar DC *ex vivo* y cargarlas con antígenos tumorales ha demostrado ser un tratamiento seguro y capaz de generar una respuesta inmune en una variada gama de tumores, como melanoma, cáncer renal y linfoma¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. En cáncer próstata, Sipuleucel-T, ha mostrado aumentar la sobrevida en pacientes con cáncer próstata metastásico resistente a la castración, confirmando a la inmunoterapia antitumoral como un potencial tratamiento efectivo, convirtiéndose en la primera inmunoterapia celular aprobada para uso clínico²⁹.

TAPCells: Células presentadoras de antígenos generadas *ex-vivo* para uso en inmunoterapia contra el cáncer

Las DC corresponden a menos del 1% de las células mononucleares presentes en la circulación sanguínea, por lo que su obtención a partir de sangre periférica es compleja¹⁰⁹. Sin embargo, ha sido descrita la capacidad de generar, *ex vivo*, grandes cantidades de DC a partir de monocitos obtenidos de sangre periférica¹¹⁰. En el Laboratorio de Inmunología Antitumoral del Instituto de Ciencias Biomédicas, de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, se ha desarrollado un protocolo de corta duración para la generación *ex vivo* de DC, utilizando un lisado celular de melanoma llamado TRIMEL. Estas DC de diferenciación rápida, denominadas TAPCells, son fenotípica y funcionalmente similares a

DC, pueden ser cargadas con lisados celulares de diferentes tumores y generar respuestas inmunológicas *in vitro* e *in vivo*¹¹¹. Una de las principales formas de evaluar la respuesta sistémica a inmunoterapias es mediante el test DTH ¹¹². Una respuesta DTH + está mediada por la activación antígeno específica de las células memoria T CD4+ en contra de un antígeno que induce la producción de citoquinas Th1 como IFN- γ , el reclutamiento de células T CD8+ y otras citoquinas inflamatorias¹¹³. Pese a que algunos reportes sugieren que la prueba DTH no es un método apropiado para monitorizar la respuesta inmune, por la dificultad en su estandarización y por su positividad frente a compuestos no antigénicos, otros estudios han mostrado que los test DTH son métodos costo efectivos y reproducibles en predecir beneficios clínicos. Se ha demostrado que en el sitio de inoculación del ensayo DTH se aíslan células T antígeno específicas y esta especificidad esta dada por el antígeno utilizado en el ensayo. Hasta un 45% de las células CD8+ eran antígeno específicas, producían citoquinas y demostraban actividad citotóxica hacia células blanco que presentaban el antígeno específico. La presencia de células T específicas es predictiva del resultado clínico¹¹². En esta línea en dos estudios Fase II realizados en Laboratorio de Inmunología Antitumoral, utilizando DC cargadas con el lisado tumoral de melanoma TRIMEL, se ha demostrado que un 60% de respuesta inmune contra TRIMEL, medido por DTH⁺, en pacientes portadores de melanoma maligno etapa IV, así como un 85% de reacción de DTH⁺ en un pequeño grupo de pacientes etapa III^{111,114}. La presencia de esta respuesta inmune positiva se correlaciona con un aumento en la sobrevida general, comparado con los pacientes DTH⁻ y con la sobrevida histórica de los pacientes con melanoma avanzado. Así mismo, se demostró que los pacientes con respuesta DTH⁺ presentan una disminución de la proporción de linfocitos Tr3 y Treg de sangre periférica al completar la inmunoterapia, a diferencia de los pacientes no respondedores (DTH⁻), en quienes ambas subpoblaciones aumentan, sugiriendo el impacto de los linfocitos T reguladores en la respuesta inmune antitumoral generada por la inmunoterapia con DC¹¹⁴. Además recientemente se ha descrito que el uso de TRIMELVax en un modelo murino de melanoma aumenta la infiltración intratumoral de linfocitos CD3+, CD4 y CD8, provocando además una disminución en el tamaño tumoral y una mejoría en la sobrevida¹¹⁵. Esto ha permitido plantear que la inmunización basada en TAPCELLS es capaz

de desencadenar una respuesta inmunológica medible a nivel intratumoral y no solo a nivel sistémico como previamente se había reportado, posicionando esta estrategia terapéutica como una forma interesante de convertir tumores fríos en tumores calientes.

La inmunoterapia antitumoral utilizando DCs está basada en la existencia de moléculas blanco tumor-específicas o tejido-específicas, conocidas como TAAs, las cuales pueden ser procesadas por las DC y ser presentadas a linfocitos T citotóxicos, generando una respuesta inmune específica¹¹⁶. En cáncer de próstata han sido descritos múltiples TAAs, tanto antígenos tejido-específicos y oncoproteínas, lo que indica que el cáncer de próstata es un tumor inmunogénico. El APE fue identificado como una proteína de secreción prostática^{117,118}, es un TAA tejido específico o antígeno de diferenciación utilizado actualmente como método de diagnóstico precoz y seguimiento^{24,25}. La expresión del APE se observa en todas las etapas de la enfermedad.

La fosfatasa ácida prostática (PAP) es también una proteína de secreción tejido específica que se encuentra sobreexpresada en células neoplásicas prostáticas en todas las etapas de la enfermedad¹¹⁹. Utilizando péptidos derivados de APE y PAP, se ha logrado generar, *in vitro*, linfocitos T citotóxicos específicos para ambos antígenos^{120,121}.

Otros antígenos de diferenciación descritos en cáncer de próstata son el antígeno prostático específico de membrana (PSMA), el antígeno de células progenitoras prostáticas (PSCA), prostateína y Trp-p8, las que son proteínas expresadas en la membrana de células epiteliales prostáticas normales y tumorales¹²²⁻¹²⁴.

Inmunoadyuvantes.

Un obstáculo importante para una inmunoterapia exitosa es romper la tolerancia a los antígenos tumorales. La inducción de respuestas antitumorales de células T por inmunoterapias basadas en DC se basa en la capacidad de las formulaciones de vacunas para activar e inducir DC maduras¹²⁵. Los adyuvantes son agentes que mejoran la magnitud, calidad y/o duración de la respuesta inmune inducida por la administración conjunta de antígenos. Además pueden reducir la dosis necesaria de antígenos y/o la frecuencia de

inmunizaciones necesarias para lograr la inmunidad protectora¹²⁶. Los adyuvantes pueden promover la inmunidad de varias formas que incluyen: (1) estabilizar o atrapar el antígeno, aumentando la duración de la estimulación inmunológica; (2) promover una respuesta inflamatoria en el sitio de deposición de antígeno, atrayendo de ese modo macrófagos activados y DC para mejorar la absorción y presentación del antígeno; (3) presentar señales coestimuladoras a las células T,B y DC para mejorar la inducción de la inmunidad específica al antígeno¹²⁷.

Las hemocianinas, grandes glicoproteínas respiratorias que se encuentran en ciertos moluscos, tienen una amplia gama de efectos biomédicos beneficiosos debido a su potente actividad adyuvante Th1¹²⁸. La hemocianina derivada del gasterópodo *Concholepas concholepas* (Concholepas concholepas hemocianina (CCH)) ha sido probada in vivo, mostrando su capacidad para activar la inmunidad innata, induciendo un perfil de citoquinas Th1 y provocando fuertes efectos antitumorales en un modelo de cáncer de vejiga murino¹²⁹. En pacientes con cáncer de próstata castración resistente, se demostró que CCH fue seguro y capaz de inducir respuestas de células T de memoria, medida in vivo mediante una prueba de DTH, demostrando el potencial de CCH como agente inmunoterapéutico e inmunoadyuvante¹²⁵

TAPCells en el tratamiento del Cáncer de Próstata Resistente a la Castración

Considerando que es posible cargar TAPCells con distintos antígenos, en nuestro centro se diseñó un sistema en el cual utilizando 3 líneas celulares establecidas de cáncer de próstata (PC3, DU-145 Y Lncap) como fuente de antígenos, se preparó un lisado tumoral denominado "Prostate cancer cell lysate" (PCCL)¹²⁵. Este lisado tumoral permite exponer a las DC a una mezcla variada de antígenos que pueden ser encontrados en cáncer de próstata como: APE, PAP, Prosteína, PSMA y mas de otros 20 antígenos^{130,131}. Utilizando este modelo de TAPCells cargadas con lisado tumoral de próstata, se realizó un tratamiento para pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración¹²⁵. En este estudio se demostró la seguridad de la terapia, ya que los pacientes reclutados en este estudio mostraron escasos eventos adversos

atribuibles a la terapia, en su mayoría toxicidad grado 2 o menor, demostrando la seguridad del tratamiento con TAPCells.. Además se demostró que son capaces de generar una respuesta inmune específica *in vivo* contra lisado tumoral de próstata en el 64% de los pacientes tratados, evaluado a través de DTH⁺. Adicionalmente, se observó una respuesta bioquímica significativa, evaluada como descenso del APE en 6 de 14 pacientes que completaron el protocolo clínico. De manera similar, los pacientes respondedores inmunológicos (DTH⁺) presentaron mejoría en el tiempo de duplicación del APE, factor pronóstico asociado a la evolución de la enfermedad. Por último, se observó que la terapia con TAPCells induce la expansión de linfocitos T de memoria productores de IFN- γ , sin afectar las poblaciones linfocitarias regulatorias en sangre de los pacientes tratados.

En suma, estos resultados demuestran que el tratamiento con TAPCells en cáncer de próstata resistente a la castración, constituye una terapia segura, no asociada a eventos adversos o disminución de la calidad de vida de los pacientes, capaz de generar una respuesta inmune en la mayoría de ellos, y efectos clínicos positivos en un subgrupo de pacientes, con disminución o estabilización de los niveles de APE sérico. Por estas razones, nace la interrogante de si TAPCells pudiese tener un rol como terapia neoadyuvante en el manejo de pacientes con cáncer de próstata órgano-confinado. La adición de esta inmunoterapia a la terapia convencional es atractiva por diferentes razones teóricas: se realiza un tratamiento local y a distancia de la enfermedad con la posible inducción de memoria inmunológica, lo que podría prevenir recurrencias tardías; se cuenta con un tiempo relativamente prolongado hasta la recurrencia de la enfermedad, lo que podría ser suficiente para desencadenar la respuesta inmunológica. Al realizar adicionalmente a la terapia sistémica, una terapia de control local a través de la prostatectomía radical, se tratan muchos de los factores locales que limitan per sé la capacidad del sistema inmune de montar una respuesta inmune antitumoral (Tregs, citocinas, MDSC), entre otros¹³².

Propuesta de investigación

La inmunoterapia basada en TAPCells ha mostrado ser una terapia segura, y bien tolerada, capaz de generar respuesta inmune contra tumor en pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración, asociada a respuestas bioquímicas evaluadas mediante disminución del APE posterior a la terapia. En este contexto se plantea la siguiente hipótesis:

Hipótesis

La inmunización neoadyuvante con TAPCells cargadas con lisado tumoral de próstata en pacientes con cáncer de próstata de riesgo intermedio y alto de recurrencia sometidos a prostatectomía radical, es una terapia efectiva y segura, capaz de generar una respuesta inmunológica, imagenológica, anatomopatológica y clínica

Objetivo General

Determinar la factibilidad, tolerabilidad y seguridad de la inmunización neoadyuvante con TAPCELLs cargadas con lisado tumoral de próstata, en pacientes con cáncer de próstata órgano confinado de riesgo intermedio o alto, la capacidad de estimular una respuesta inmune específica a nivel sistémico, el efecto sobre la infiltración linfocitaria tumoral, el volumen tumoral, el antígeno prostático específico y el desarrollo de RB.

Objetivos Específicos

1. Establecer la seguridad y tolerabilidad de la terapia neoadyuvante con TAPCells en pacientes con cáncer de próstata de riesgo intermedio o alto, sometidos a prostatectomía radical y linfadenectomía pelviana.
2. Describir el número y grado de complicaciones perioperatorias de la prostatectomía radical más linfadenectomía ampliada, luego de la terapia neoadyuvante con TAPCells.

3. Determinar la capacidad de TAPCells de inducir una respuesta inmune específica a nivel sistémico medida como test DTH + contra PCCL y a nivel local, medido como Infiltración Linfocitaria CD4 + Y CD8+.

4.- Evaluar variables de respuesta clínica y anatomopatológicas en muestras de pacientes sometidos a terapia neoadyuvante con TAPCells, prostatectomía radical y linfadenectomía pélvica extendida.

5- Medir el tiempo libre de tratamiento de los pacientes sometidos a inmunización neoadyuvante y tiempo libre de RB.

6.- Determinar la capacidad de la mpRNM de identificar la seguridad y respuesta inmunológica local desencadenada por la terapia neoadyuvante con TAPCELLS.

4. METODOLOGÍA

Diseño del Estudio

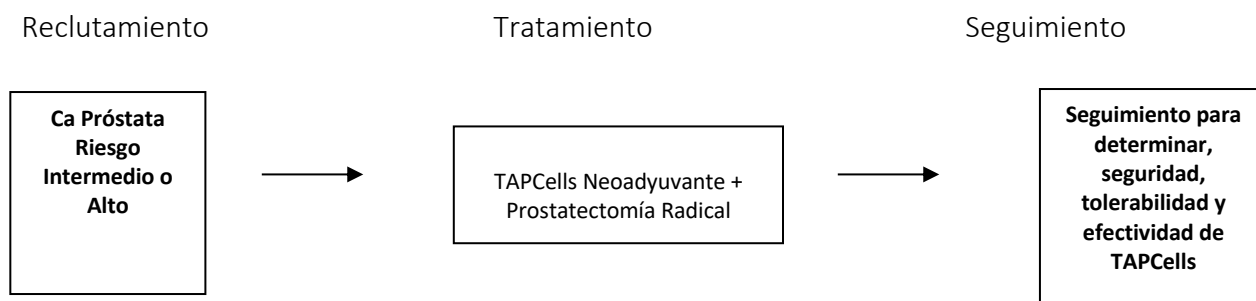
Se diseñó un estudio Fase I-II de brazo único, para determinar la seguridad de la inmunización neoadyuvante con TAPCells cargadas con lisado tumoral de próstata, y su eficacia en generar una respuesta inmune antitumoral, así como una respuesta bioquímica y clínica, en pacientes con diagnóstico de cáncer de próstata órgano-confinado de riesgo intermedio o alto según D'Amico, candidatos a prostatectomía radical.

Se reclutarán 20 pacientes con diagnóstico de cáncer de próstata órgano-confinado, riesgo intermedio o alto según D'Amico, candidatos a prostatectomía radical. Los pacientes serán reclutados en 2 instituciones: Complejo Hospitalario San José e Instituto Nacional del Cáncer. Todos los pacientes firmaron un documento de consentimiento informado previo a la participación en el estudio.

El estudio cuenta con la aprobación del Comité de Bioética del Servicio de Salud Metropolitano Norte y los pacientes contaron con un seguro médico complementario que

cubre los gastos asociados a cualquier complicación que pudiesen presentar producto de la intervención.

El estudio contó con 3 fases: reclutamiento, tratamiento y seguimiento.



Fase de Reclutamiento

Se inició confirmando la elegibilidad del paciente para participar en el estudio y firma del documento de consentimiento informado.

Fase de Tratamiento

Se inició con el tratamiento. A todos los pacientes se les administraron 20 millones de TAPCells autólogas los días 1, 8, 22 y 36 del protocolo, por vía subcutánea, junto con 150 µg CCH, como inmunoayudante, en un volumen total de 600 µl. Exámenes de laboratorio y muestras para análisis inmunológico basal se realizaron 48 horas antes del inicio del tratamiento. Pevio al inicio del tratamiento, todos los pacientes se realizaron una mpRNM. En cada visita se evaluaron efectos adversos de la terapia.

En el día 80 del protocolo, los pacientes fueron sometidos a un test cutáneo de DTH contra lisado tumoral. Se inocularon: 150 µL de lisado tumoral de próstata (4 µg/µL), CCH 150 µL (1mg/ml) y 150µL de solución fisiológica (como control negativo) intradérmicamente en distintos sitios del antebrazo del paciente. La reacción inflamatoria generada fue evaluada 48 horas post inoculación. Además se tomaron muestras de sangre venosa para exámenes de laboratorio y análisis inmunológicos previos al test de DTH. Posterior al test, los pacientes se realizaron una mpRNM de seguimiento.

Se definió como variación significativa de laboratorio a nivel individual, un cambio de 25% del APE respecto al valor basal medido al término de la neoadyuvancia, siguiendo la recomendación del Prostate Cancer Working Group¹³³

Todos los pacientes fueron sometidos a prostatectomía radical con linfadenectomía pelviana extendida²⁵ entre los días 85 y 90 del protocolo.

Fase de seguimiento

La fase de seguimiento se inició desde el egreso postoperatorio. Todos los pacientes fueron controlados a los 14 días postoperatorios para retiro de sonda uretrovesical y control postoperatorio inmediato. Posteriormente, los pacientes fueron controlados a los 30 días postoperatorios con APE y análisis histopatológico de las piezas operatorias.

Entre 45 y 60 días postoperatorios los pacientes fueron evaluados por el comité oncológico del Servicio Metropolitano Norte.

Desde el control de los 30 días postoperatorios, los pacientes fueron controlados con APE, cuestionarios de calidad de vida y evaluación de efectos adversos cada 3 meses durante 2 años.

Líneas celulares y generación de lisados tumorales

Se utilizaron líneas celulares de cáncer de próstata DU-145, PC-3 y LnCap obtenidas a partir de lesiones metastásicas. Las líneas Mel1, Mel2 y Mel3 fueron establecidas en el Laboratorio de Inmunología Antitumoral de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, a partir de lesiones metastásicas de melanoma maligno. Todas las líneas fueron cultivadas en medio RPMI 1640 (Gibco) suplementado con 10% de Suero Fetal Bovino (Gibco), 1% de L-glutamina (Gibco) y 1% de Penicilina-Estreptomicina (Gibco).

Para la generación de lisado tumoral de próstata, las células de cada una de las líneas de cáncer de próstata descritas fueron recolectadas y resuspendidas en medio AIM-V (Gibco) en igual proporción; luego fueron sometidas a shock térmico, incubándolas por una hora a 42°C y luego dos horas a 37°C. Posteriormente fueron lisadas mediante congelación en nitrógeno líquido y descongelación a 37°C por tres veces. Finalmente, el lisado generado fue

irradiado a 60 Gy, para ser almacenado a -80°C. El lisado tumoral de melanoma TRIMEL se produce de la misma manera, utilizando las líneas celulares de melanoma.

Producción de TAPCells autólogas cargadas con lisado tumoral de próstata para tratamiento

Células mononucleares de sangre periférica (PBMC) fueron obtenidas de cada paciente mediante leucoféresis en el Banco de Sangre del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, y fueron separadas por medio de gradiente de densidad utilizando Ficoll- Hypaque (Axis-Shield). Las PBMC fueron cultivadas en medio AIM-V (Gibco) durante 2 horas. Las células no adherentes fueron eliminadas y se agregó medio AIM-V suplementado con rhIL-4 (500 U/ml) (US Biological) y rhGM-CSF (800 U/ml) (Shering Plough) por 22 horas, y luego fueron cultivadas por 24 horas con lisado tumoral de próstata (PCCL) (80ug/ml), TRIMEL (20 ug/ml) y rhTNF- α (20 U/ml) (US Biological). Finalmente, las células fueron cosechadas, criopreservadas en solución de congelación formada por 90% de suero autólogo y 10% de DMSO y almacenadas en nitrógeno líquido a -196°C.

Toxicidad, Tolerabilidad y complicaciones quirúrgicas

La toxicidad fue evaluada a través de una anamnesis por sistemas y exámenes de laboratorio generales en cada inmunización y al momento del test de DTH, así como en cada control postoperatorio, categorizándose según el NCI CTCAE v.5.0. Los exámenes controlados fueron hemograma, perfil bioquímico, perfil hepático, electrolitos plasmáticos y orina completa.

La calidad de vida fue evaluada en cada inmunización y en el test de DTH, así como en cada control postoperatorio, utilizando el cuestionario autoaplicado European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Core Questionnaire (EORTC QLQ-C30), traducido al español y validado en Chile. Los puntajes de todas las escalas fueron obtenidos de acuerdo a las instrucciones de la EORTC¹³⁴.

Las complicaciones quirúrgicas fueron evaluadas utilizando la escala de Clavien Dindo validada en urología según las recomendaciones de la Sociedad Europea de Urología¹³⁵.

Procesamiento y análisis de las muestras de anatomía patológica

Tanto la pieza de la prostatectomía radical como los linfonodos resecaados en la cirugía fueron procesados en Laboratorio CyS, según estándares recomendados²⁴. Se realizaron dos reportes de biopsia, por dos patólogos independientes, y de manera enmascarada, sin conocer antecedentes clínicos ni histopatológicos previos.

También ambos patólogos, de manera independiente y enmascarada, revisaron las muestras de biopsias diagnósticas preoperatorias obtenidas por punción y realizaron un reporte de estas muestras.

Además del reporte anatomopatológico estándar de acuerdo a la *“International Society of Urological Pathology”* (ISUP), se describió la presencia de *“upgrading”* o *“downgrading”* de la biopsia definitiva en relación a la biopsia preoperatoria, definiendo esto como un incremento o descenso en el grado ISUP de la lesión tumoral índice.

Análisis de respuesta inmune tumoral:

Se realizó un análisis de infiltración inmunológica intratumoral a partir de muestras histopatológicas del tumor fijado en formalina y parafina de biopsias preoperatorias como de biopsias definitivas. En caso de tumores multifocales se analizó la lesión índice de acuerdo a la recomendación de la ISUP¹³⁶, definida como la lesión con el ISUP score mas alto. En caso de presentar dos lesiones con el mismo ISUP *score*, se definió como lesión índice la de mayor tamaño. Las muestras fueron seleccionadas y marcadas por un patólogo experto luego fueron desparafinadas en una batería decreciente de etanol hasta agua destilada.

Se realizó la recuperación de antígenos en buffer TRIS EDTA (pH 8,0) a 95 grados Celsius durante 36 min. La unión a proteínas inespecíficas fue bloqueada con suero equino del kit ABC VectorLabs por 20 minutos. Las placas fueron incubadas con anticuerpo de acuerdo a la recomendación del fabricante: Anti CD4 (Clone SP 35); Anti CD8 (clon SP57) y luego se realizó contratinción con hematoxilina. Las fotografías fueron obtenidas mediante el Microscopio de laboratorio Lacym. La cuantificación de la infiltración linfocitaria fue determinada utilizando el software Image J a través del Threshold Method¹³⁷.

Test Cutáneo DTH:

Los pacientes fueron sometidos el día 80 del protocolo, a un test cutáneo de DTH contra lisado tumoral. 150 μ L de lisado tumoral de próstata (4 μ g/ μ L), CCH 150 μ L (1mg/ml) y 150 μ L de solución fisiológica (como control negativo) fueron inoculados intradérmicamente en distintos sitios de un antebrazo del paciente. La reacción inflamatoria generada por las distintas inoculaciones fue evaluada 48 horas más tarde. Se definió como test DTH positivo un aumento de volumen indurado y eritema mayor a 5 mm en el sitio de inoculación, en comparación al control negativo (solución fisiológica)^{114,125}.

Evaluación de respuesta clínica:

Se definió a pacientes respondedores aquellos que presentaron un test DTH +, además se realizaron mediciones seriadas de APE antes del inicio de la inmunización, al término de la inmunización y previo a la prostatectomía radical con linfadenectomía pelviana.

mpRNM

Los pacientes se realizaron una mpRNM antes de iniciada la inmunización y otra una semana antes de la prostatectomía radical. Ambos exámenes fueron evaluados por un radiólogo entrenado en mpRNM, que emitió un informe de acuerdo a las recomendaciones del American College of Radiology, utilizando el sistema PIRADS version 2¹³⁵. Se evaluó dirigidamente cambios en el volumen tumoral de la lesión índice, definida como la lesión con el PIRADS más alto. En el caso de 2 o más lesiones con igual PIRADS, se consideró como lesión índice la que presentó extensión extraprostática. Si ninguna lesión la presenta, se definió lesión índice la de mayor tamaño. Además se evaluaron cambios en ADC y se emitió un informe complementario de acuerdo a las definiciones de imRECIST⁴⁴ para evaluar respuesta imagenologica a la terapia neoadyuvante.

Análisis estadístico

Para determinar la normalidad de los resultados, se utilizaron las pruebas de Skewness/Kurtosis, Shapiro-Wilk y Shapiro-Francia. En los resultados con distribución

normal, se utilizó la prueba t pareada. En muestras no normales se aplicó el test del signo de Wilcoxon pareado. Para análisis del cuestionario EORTC QLQ-C30 se utilizó la prueba de ANOVA no paramétrico. Para determinar la supervivencia libre de progresión se utilizó el método de Kaplan-Meier y test de log-rank. En todos los casos se consideró significancia estadística un error alfa menor de 5% (valor de p inferior a 0,05). Se utilizó para estos análisis el programa GraphPad Prism 7.0 y Jamovi 2.2.4

Resultados:

Pacientes:

Se reclutaron 7 pacientes con diagnóstico de cáncer de próstata órgano-confinado, riesgo intermedio o alto según D'Amico, candidatos a prostatectomía radical entre abril de 2019 y septiembre 2019. Todos ellos cumplieron con los criterios de inclusión predefinidos y firmaron un consentimiento informado previo a la inclusión en el protocolo de investigación. La tabla 1 resume las características demográficas y clínicas de los pacientes al momento de ingresar al estudio. Un 85,7 % (n=6) de los pacientes reclutados fueron de alto riesgo según D'Amico, mientras que sólo un 14,3% (n=1) fue de riesgo intermedio no favorable. La mediana de antígeno de los pacientes al momento del diagnóstico fue de 19,85 ng/ml (6,24 - 50,47 ng/ml). Todos los pacientes se realizaron estudios de etapificación con cintigrama óseo y tomografía computada de abdomen y pelvis con contraste, los que no mostraron evidencia de diseminación a distancia. La totalidad de los pacientes completaron las 4 dosis de inmunización neoadyuvante indicadas.

Durante la inmunización se evaluó con exámenes de laboratorio la función renal, hepática y hematológica sin presentar variaciones significativas durante la terapia. Luego de completada la terapia neoadyuvante, todos los pacientes se realizaron una prostatectomía radical y linfadenectomía pelviana a cielo abierto. La mediana de APE previo a la cirugía fue de 20 ng/ml (7,51-42,8 ng/ml), la que no difiere estadísticamente del APE pre quirúrgico (p= 0,375)(figura 2a). Sin embargo, en relación a la variación individual del APE, se observa que 3 pacientes presentaron variaciones mayores a 25% durante la neoadyuvancia, dos con

incrementos y uno con una disminución (figura 2b). Ningún paciente demostró progresión clínica en relación al examen digital rectal ni a cambios de riesgo de D'Amico una vez terminada la inmunización neoadyuvante.

Durante la fase de seguimiento, 3 pacientes presentaron una RB, la mediana de tiempo a la RB fue de 12 meses. Cada paciente con RB fue re-etapificado y tratado según las recomendaciones del comité oncológico local. En los 3 casos, la re-etapificación no mostró evidencia de diseminación a distancia, por lo que se decidió realizar tratamiento de salvataje con terapia de deprivación androgénica y radioterapia. Además, considerando el alto riesgo de progresión, en un paciente se decidió realizar tratamiento adyuvante con radioterapia y terapia de deprivación androgénica inmediatamente posterior a la cirugía, aún cuando éste no presentaba RB. Así la mediana de supervivencia libre de re-tratamiento fue de 12 meses para la cohorte (figura 3).

Toxicidad, Tolerabilidad y complicaciones quirúrgicas

En términos de toxicidad a la inmunización con TAPLCELLS, se reportaron 5 eventos adversos en 4 pacientes. De éstos, 4 correspondieron a prurito en el sitio de inoculación y 1 a dolor en el sitio de punción. Todos estos efectos adversos fueron autolimitados con duración menor a 24 horas y no requirieron ninguna intervención farmacológica adicional, por lo que fueron clasificados como toxicidad grado I y II de acuerdo a CTCAE. La tabla 2 resume los efectos adversos identificados.

En relación a calidad de vida, la terapia fue bien tolerada presentando una mediana de 91,7% de estatus de salud global al inicio del tratamiento según el cuestionario EORTC-QLC30, el que no se alteró significativamente durante la inmunización neoadyuvante, con una mediana al final del tratamiento de 91,7%. Sin embargo, se observó un deterioro de la salud global significativo posterior a la prostatectomía radical de 19,5 % en promedio ($p < 0,0003$), el que se recupera alrededor al año posterior al tratamiento quirúrgico llegando a niveles basales. La figura 4 muestra la evolución global de salud y por dominio funcional y la figura 5 resume el dominio sintomático de cada esfera analizada en el cuestionario durante el período de estudio.

Del punto de vista quirúrgico, la mediana de tiempo operatorio fue de 180 min (140 - 190), la mediana de sangrado fue de 900 cc (600 - 1200cc). Se reportaron 4 complicaciones Clavien DINDO nivel 2 correspondientes a 4 pacientes (57,14%): tres requirieron transfusión de glóbulos rojos en el perioperatorio y una crisis hipertensiva manejada con ajuste farmacológico de su terapia habitual. La mediana de días de hospitalización fue de 3,5 días (rango 3 - 5). Además de forma subjetiva se preguntó al equipo quirúrgico, si en base a su experiencia previa, notaron alguna diferencia en la dificultad técnica de la cirugía, refiriendo en el 100% de los casos que estaba dentro del estándar técnico habitual la tabla 3 resume estos hallazgos.

Respuesta inmune Test DTH

En relación a la respuesta inmune medida como test DTH+, 6 pacientes (85,6 %) resultaron con un test positivo a PCCL, al término de la inmunización neoadyuvante, mientras que sólo 1 paciente (13,4%) resultó negativo. Además 4 pacientes presentaron test DTH + a CCH y el 100% presentó test DTH – al control con suero fisiológico. La figura 6 muestra test DTH de 2 pacientes.

mpMRI

Previo al inicio de la inmunización, todos los pacientes se realizaron una mpMRI. La tabla 4 resume las características imagenológicas principales de las lesiones durante el período de estudio. El 100% de los paciente tuvo al menos 1 lesión clínicamente significativa, definida como aquellas PIRADS v2 4-5; 5 pacientes (71,4%) tenían al menos 2 lesiones clínicamente significativas en la mpMRI inicial.

En cuanto al compromiso local, 5 pacientes (71,4%) mostraron lesiones sospechosas de presentar compromiso extracapsular, ningún paciente evidenciaba linfonodos sospechosos de acuerdo a criterio de tamaño. Una vez completado el protocolo de inmunización, los pacientes se realizaron una mpMRI de control en la que no se observó progresión clínica de ninguna de las lesiones identificadas mediante mpMR, medidas en relación a tamaño,

compromiso local o PIRADS v2. En esta línea, todas las lesiones cumplieron criterios de estabilidad de acuerdo a RECIST e iRECIST. No se identificaron variaciones significativas en el mapa ADC de las lesiones índice estudiadas. Tampoco se evidenció la aparición de adenopatías locorregionales en ninguno de los pacientes. La figura 7 muestra una mpMRI basal y posterior a inmunización neoadyuvante.

Anatomía patológica.

En relación a la biopsia previa se observó que dos pacientes (28,5%) presentaron downgrading de sus ISUP score y 2 pacientes (28,5%) presentaron upgrading de sus ISUP score. No se observaron pacientes con respuesta patológica completa pT0 posterior a la neoadyuvancia. 3 pacientes presentaron compromiso extracapsular en la patología definitiva y 2 pacientes (28,58%) presentaron margen quirúrgico positivo. El promedio de linfonodos resecaados por paciente fue de 31,3 (16-70), de éstos 3 pacientes (42,8%) mostraron compromiso linfonodal por adenocarcinoma de próstata, un paciente presentó 4 linfonodos positivos, un paciente 3 linfonodos positivos y uno 1 linfonodo positivo. La tabla 5 resume las características patológicas de los pacientes estudiados.

Infiltración Linfocitaria.

En relación a la infiltración linfocitaria, se observó que la inmunización neoadyuvante fue capaz de incrementar la infiltración por linfocitos CD8 +, al comparar el área tumoral infiltrada en la biopsia por punción (realizada previa a la inmunización neoadyuvante) versus el área tumoral infiltrada en la biopsia definitiva. No se observaron cambios en los niveles de infiltración de linfocitos CD4+ con la inmunización neoadyuvante a nivel intratumoral. Las figuras 8 y 9 resumen los hallazgos descritos.

Discusión:

El cáncer de próstata de alto riesgo y riesgo intermedio no favorable, requiere un manejo terapéutico multimodal, dado el alto riesgo de RB, que puede llegar entre un 30-50% de los pacientes a 10 años. Estos pacientes tienen un mayor riesgo de requerir tratamientos adicionales de segunda y tercera línea que incrementan los costos y aumentan la morbilidad de los pacientes⁵². Por tanto, se hace necesario el estudio de terapias que puedan tener un efecto local previo a la cirugía definitiva, con el fin de optimizar y facilitar el tratamiento local y que adicionalmente puedan tratar el componente sistémico de la enfermedad dado por micrometástasis, que no siempre son diagnosticadas con métodos convencionales, pudiendo ser responsable de una causa de recurrencia precoz y tardía de la enfermedad^{138,139}. Teóricamente, la neoadyuvancia puede reducir el tamaño tumoral así como tratar las micrometástasis, disminuyendo el riesgo de recidiva. Además ofrece una ventana de observación in vivo para evaluar el efecto de la terapia a nivel tumoral.

Lamentablemente a la fecha no existe una terapia sistémica neoadyuvante con beneficios probados previo a la prostatectomía radical⁵³. Si bien con la aprobación de sipuleucel-T por parte de la FDA en el año 2010, existió un gran optimismo inicial en el tratamiento mediante inmunoterapia del cáncer de próstata, esto no se ha materializado a la fecha en terapias con eficacia probada. Actualmente están en curso sólo 4 estudios, evaluando distintas inmunoterapias como manejo de cáncer de próstata en relación a terapia neoadyuvante¹⁴⁰.

En nuestros resultados de este estudio fase I-II, hemos observado en primera medida que la terapia neoadyuvante con TAPCELLS es un tratamiento seguro y bien tolerado, con efectos adversos leves, de corta duración, que no requieren intervenciones adicionales y que no impactan la calidad de vida de los pacientes. Esto es concordante con los hallazgos previamente descritos para TAPCELLS en el tratamiento con melanoma así como para el tratamiento de pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración^{114,125}. Esto además es concordante con otros estudios que han evaluado otras inmunoterapias. Fong et al¹⁴¹ previamente ha reportado en pacientes con cáncer de próstata órganoconfinado que sipuleucel-T neoadyuvante produce sólo leve a moderados efectos adversos y que estos

tienden a ser autolimitados. Mismos hallazgos han sido descritos para otras modalidades de inmunoterapia en cáncer de próstata^{81,140}.

Una limitación importante en nuestro estudio fue la dificultad en el reclutamiento de pacientes ya que sólo alcanzamos 7 de un total de 20 pacientes proyectados; este fenómeno no es nuevo y diversos estudios clínicos han debido cerrar por un bajo reclutamiento de pacientes. Un estudio de docetaxel neoadyuvante en cáncer de próstata multicéntrico, liderado por el instituto nacional del cáncer canadiense, tuvo que cerrar por lograr reclutar 48 de 530 pacientes estimados¹⁴². El ensayo NCT02494713, fue un estudio abierto de un solo brazo en hombres con cáncer de próstata no metastásico y localmente avanzado elegibles para prostatectomía radical. Los pacientes debían recibir cuatro inyecciones de degarelix y dos ciclos de quimioterapia de 8 semanas con doxorubicina y ketoconazol. Desafortunadamente, el estudio se terminó después de reclutar solo 4 pacientes en 2 años. De manera similar, el ensayo NCT01531205, un estudio de un solo brazo que evaluó el cabazitaxel neoadyuvante y un agonista LHRH también fue suspendido luego de reclutar solo 2 pacientes durante 16 meses¹⁴³. Esta dificultad inherente a la realización de todo estudio clínico, sobretodo en etapas en que existen tratamientos de probada efectividad, se vio impactada severamente con el estallido social y la pandemia de COVID-19 que afectaron nuestro país, alterando el normal funcionamiento de los centros participantes e impidiendo reclutar mas pacientes para nuestro estudio. Es por esto que la ventana de reclutamiento en nuestro estudio fue relativamente corta en comparación a experiencias internacionales en que, por ejemplo, Sasaki et al reclutaron 21 pacientes para un estudio de neoadyuvancia con docetaxel y terapia de deprivación androgénica en un lapso de 5 años¹⁴⁴.

Si bien consideramos que la falta de reclutamiento en nuestro estudio no nos permite hacer conclusiones significativas respecto a la efectividad clínica, si podemos concluir que la terapia es factible, segura y bien tolerada, lo que es concordante con otros estudios publicados inicialmente en neoadyuvancia y que han permitido diseñar estudios fase III para evaluar la efectividad. En esta línea Vuky y colaboradores publicaron sus hallazgos de un estudio fase II de docetaxel asociado con GVAX, como terapia neoadyuvante previo a la prostatectomía radical en que se reclutaron 6 pacientes y sólo 5 completaron el protocolo de estudio,

mostrando la seguridad y tolerabilidad de la aproximación terapéutica¹⁴⁵. En esta línea de seguridad es destacable que un 100% de nuestra cohorte completó el tratamiento, sin presentar efectos adversos severos y sin reportar complicaciones significativamente distintas a las habitualmente descritas para una prostatectomía radical con linfadenectomía ampliada. Esto resulta muy interesante ya que en estudios que han utilizado docetaxel como terapia neoadyuvante hasta un 13 % de los pacientes presenta efectos adversos severos previo a la prostatectomía radical y un 25% requirieron disminución de la dosis administrada¹⁴⁵.

Un aspecto fundamental al evaluar tratamientos neoadyuvantes, es que durante el tratamiento los pacientes no presenten progresión clínica de la enfermedad y puedan perder su ventana de tratamiento con intención curativa. En nuestra cohorte observamos en términos globales estabilidad del APE, estabilidad clínica en relación a DRE y estabilidad imagenológica en cuanto al tamaño tumoral y compromiso locorregional. Si bien estos hallazgos nos permiten hablar que durante el periodo de estudio los pacientes no presentaron progresión clínica ni imagenológica, es importante destacar que tampoco evidenciamos regresión clínica, de laboratorio o imagenológica significativas. Esto contrasta con otras modalidades de tratamiento neoadyuvante. Consistentemente en estudios con terapia de deprivación androgénica neoadyuvante, se ha descrito una disminución significativa del APE y del tamaño prostático^{142,143}. Sin embargo esto no ha logrado correlacionarse con una disminución en el riesgo de RB, supervivencia global o supervivencia cáncer específica⁵⁹. Similares hallazgos se describen en múltiples estudios que utilizaron docetaxel asociado con distintas terapias de deprivación androgénica como terapia neoadyuvante previo a la cirugía^{143,144}. Esto se explica por la naturaleza citotóxica de estas terapias y su efecto tanto en tejido prostático normal como tumoral, a diferencia de distintas inmunoterapias en que se describen patrones de respuesta atípicos como: reducción retardada del tamaño del tumor, respuesta mixta o un aumento de la carga tumoral inicial debido a un aumento en el tamaño de la lesión y / o aparición de lesiones tumorales nuevas con una disminución posterior de la carga tumoral, denominada pseudoprogresión¹⁴⁶ y que ha impactado incluso en cambios en los reportes imagenológicos como iRECIST¹⁴⁶. Sin

embargo en nuestra cohorte, tampoco tuvimos evidencia de respuesta imagenológica medible con criterios de iRECIST. Si bien, en términos globales durante la inmunización neoadyuvante no hubo cambios significativos respecto a parámetros clínicos o de laboratorio, llama la atención el incremento individual significativo de APE, definido como incrementos mayores al 25% respecto al basal en dos pacientes durante la terapia neoadyuvante, en que pesar de este incremento no significó un cambio en su score de riesgo medido según D'Amico. Múltiples hipótesis se pueden plantear al respecto: conocida es la variación diaria y mensual intraindividual del APE, pudiendo esta llegar a un 10% mensual en pacientes diagnosticados de cáncer de próstata y 20 % en pacientes no diagnosticados de cáncer ¹⁴⁷, por lo que si bien el APE es una buena herramienta de sospecha clínica de un cáncer de próstata subyacente, su rol como indicador de respuesta a terapias debe ser evaluado juiciosamente en relación a otras variables clínicas y anatomopatológicas. Pacientes con cáncer de próstata en vigilancia activa con PSA entre 10-20 no han demostrado tener peores resultados oncológicos ni patológicos, independiente de la velocidad de progresión del antígeno¹⁴⁷. Bajo esta misma premisa, alzas significativas de APE en pacientes en vigilancia activa, no son por si misma una indicación de que el paciente requiera tratamiento activo²⁵, por lo que creemos que si bien es un dato a tener en consideración, al presentarse de forma aislada y no asociado a otras variables de progresión no podemos sacar reales conclusiones de este hallazgo en nuestra cohorte y debe investigarse en profundidad en estudios futuros con mayor población y grupos control.

Múltiples investigaciones recientes han mostrado el impacto de la mpMRI en la mejoría de la detección de lesiones clínicamente significativas, etapificación de los pacientes con cáncer de próstata y seguimiento de pacientes en vigilancia activa^{32,45,148}. No obstante, por su naturaleza multiparamétrica, la interpretación de los hallazgos es compleja y presenta gran variabilidad interobservador¹⁴⁹. Por esto distintas sociedades de radiología recomiendan para su estandarización el reporte estandarizado basado el PIRADS V2, realizado en centros de alto volumen y con radiólogos expertos para disminuir la variabilidad y mejorar la reproducibilidad de los hallazgos¹⁴⁹. Recientes reportes habían mostrado una correlación en

cambios en el ADC y mayor infiltración linfocitaria intratumoral¹⁵⁰, sin embargo en nuestra serie, si bien, observamos mayor infiltración de linfocitos CD8+ a nivel tumoral, esto no se correlacionó con cambios medibles a nivel de la mpMRI, lo que si bien puede ser explicado por la pequeña pero significativa variación de la infiltración linfocitaria. También pudiese deberse a falta de estandarización y reproducibilidad del método, lo que deberá ser resuelto en futuras investigaciones. Llama la atención que en nuestra serie ningún paciente presentaba sospecha de compromiso linfonodal previo a la cirugía. Sin embargo en los estudios histopatológicos posteriores, se observó que 3 pacientes presentaba compromiso linfonodal. Este hallazgo, si bien es desalentador en términos de la real utilidad de la mpMRI en la evaluación de la respuesta clínica a terapias neoadyuvantes, es concordante con la literatura, en que se describe que la sensibilidad y el valor predictivo negativo de la mpMRI para detección de compromiso linfonodal ronda el 36 y 57% respectivamente¹⁴⁹, por lo que si bien es un estudio útil en la etapificación local, tiene limitaciones en la etapificación a nivel regional que deben ser consideradas a la hora de utilizarla como herramienta de monitorización de respuesta clínica.

En términos de la realización de la prostatectomía radical, destaca que un 100% de los pacientes se realizó esta cirugía sin incidentes, los tiempos operatorios y complicaciones perioperatorias de nuestra cohorte fueron similares a lo registrado en cohortes históricas de nuestro centro¹⁵¹ y además fueron concordante con la literatura urológica^{27,152} y concordante con experiencias en otros órganos en que cirugías realizadas posterior a tratamientos neoadyuvantes con inmunoterapia no presentan mayor índice de complicaciones que las cirugías estándar¹⁵³. En relación a los resultados quirúrgicos no se observó mayor dificultad técnica al momento de realizar la cirugía; esto es apoyado por los resultados patológicos que son concordantes con la evidencia internacional para cáncer de próstata de alto riesgo, en las que recientemente se ha descrito en un metaanálisis de 42 estudios, en que se evidencian tasas de margen quirúrgico positivo entre un 18-42% y compromiso linfonodal entre un 1,9-37,4%¹⁵². En nuestra cohorte 3 pacientes requirieron transfusiones sanguíneas durante el perioperatorio. En la literatura se describe que entre un

3,5-62,5% de los pacientes sometidos a una prostatectomía radical pueden requerir transfusiones de sangre^{154,155}. Si bien se ha descrito que las transfusiones perioperatorias pueden tener un efecto deletéreo en relación a la supervivencia a largo plazo en pacientes con distintos tipos de tumores sólidos, como cáncer gástrico, colon, colangiocarcinoma, entre otros¹⁵⁶, debido a un fenómeno descrito como inmunomodulación relacionada con la transfusión, en el que se observa una depresión transitoria del sistema inmunológico secundaria a la transfusión de hemoderivados¹⁵⁷. Se han descrito también algunos efectos benéficos en ciertos grupos de pacientes como receptores de órganos trasplantados o en algunas enfermedades autoinmunes¹⁵⁷. Sin embargo la evidencia respecto al efecto deletéreo de la transfusión de hemoderivados en cáncer de próstata es poco concluyente. En Corea se ha descrito retrospectivamente que la transfusión de hemoderivados disminuye la supervivencia libre de RB y cáncer específica¹⁵⁸. En el estudio más grande, realizado por Boehm et al, en que se analizaron 11723 pacientes sometidos a prostatectomía radical, se observó que la transfusión de hemoderivados no se relacionó con ningún outcome oncológico relevante¹⁵⁹. Si bien podríamos suponer que el efecto inmunosupresor de la transfusión podría afectar deletéreamente la respuesta a una inmunoterapia, en nuestro protocolo de neoadyuvancia, la estimulación de la respuesta inmune ocurre mucho antes de la transfusión. En esta línea 6 de nuestros pacientes, tienen evidencia sistémica mediante test DTH + contra PCCL por lo que creemos que el efecto inmunosupresor de las transfusiones, si existiese, sería más bien limitado. No obstante, sería interesante ampliar el número de pacientes reclutados para realizar una afirmación consistente al respecto comparando población transfundida versus quienes no requirieron transfusiones.

Todos los pacientes de la cohorte completaron 2 años de seguimiento clínico y oncológico. Durante este seguimiento, 3 pacientes presentaron una RB, de los cuales el 100 % recibió tratamiento de salvataje con radioterapia y terapia de deprivación androgénica, 1 paciente recibió tratamiento adyuvante posterior a la cirugía y 3 pacientes persisten sin evidenciar progresión clínica ni imagenológica. Estos datos son concordantes con la literatura de pacientes de cáncer de próstata de alto riesgo previamente descrita^{53,160} y no se observa un

impacto significativo de la inmunización neoadyuvante con TAPCELLS en términos de mejoría de la sobrevida libre de RB y sobrevida libre de tratamiento, sin embargo al ser una cohorte pequeña creemos que no podemos sacar mayores conclusiones respecto al impacto clínico real de la terapia y esto debe ser reservado para estudio posteriores con un mayor número de pacientes.

En relación a la respuesta inmunológica sistémica, destaca que un porcentaje significativo de los pacientes mostró test DTH + para PCCI (seis de 7 pacientes) , lo que nos permite inferir que TAPCELLS es capaz de desencadenar al menos una respuesta inmune sistémica específica en un porcentaje significativo de los pacientes. Apoyando esta afirmación respecto a la especificidad de la respuesta, en nuestra serie sólo 4 pacientes presentaron un test DTH + para CCH y ninguno para el control. Este nivel de respuesta es levemente mayor al reportado previamente por nuestro grupo en otros escenarios clínicos^{114,125}. Una posible explicación pudiese ser que este tratamiento es administrado en etapas tempranas de la enfermedad en donde la respuesta inmunológica se encuentra mas conservada, lo que es concordante con lo descrito para pacientes con melanoma etapa III tratados con TAPCELLS quienes mostraron 100% de reacción DTH +, por el contrario solo un 68% de los pacientes en etapa IV tuvieron un test DTH+¹¹⁴. Sin embargo, dado el bajo número de pacientes reclutados, esto pudiese corresponder solo a un artefacto estadístico. De forma interesante llama la atención que el único paciente que presentó DTH -, a su vez presentó una progresión significativa de su APE durante la neoadyuvancia, lo que pudiese representar una falta de respuesta inmunológica a la terapia. Esto es concordante con hallazgos previamente reportados, en que el mayor beneficio clínico de pacientes sometidos a terapia con TAPCELLS fue observado en pacientes con melanoma etapa IV, cuyo test DTH fue positivo. Este test positivo, no solo predijo los pacientes que tendrían mayor beneficio clínico en términos de sobrevida, si no que además se correlaciono con una leve pero significativa disminución de linfocitos T reguladores medidos en sangre periférica ¹¹⁴.

A nivel de respuesta inmune local, en nuestra cohorte observamos una pequeña pero significativa mayor infiltración de linfocitos CD8+ intratumorales al comparar la biopsia por punción con la biopsia de la pieza operatoria obtenida posterior a la inmunización neoadyuvante. Este hallazgo resulta muy interesante, ya que se ha asociado que mayores niveles de infiltración tumoral de linfocitos CD8+ son un factor predictivo de mejor sobrevida global y cáncer específica en pacientes con cáncer de próstata de alto riesgo sometidos a prostatectomía radical¹⁶¹. De forma concordante con nuestro estudio, utilizando una aproximación similar utilizando TRIMELVAX, una vacuna genérica contra melanoma en un modelo murino, se demostró que esta es capaz de aumentar la infiltración de linfocitos CD8+ y que esto se correlacionaba con disminución en el tamaño tumoral¹¹⁵ lo que permite inferir que TAPCELLS pudiese ser una estrategia que permita convertir tumores fríos, por su baja infiltración linfocitaria, en tumores calientes. Si bien hemos visto una mayor infiltración de linfocitos CD8+, es importante considerar que existen subpoblaciones linfocitarias que no fueron evaluadas en este estudio. Se ha visto que la población de linfocitos CD8+ intratumorales, puede ser subclasificada según los niveles de expresión de PD-1, evidenciando que altos niveles de expresión de PD-1 se asocia con peores outcome oncológicos y por el contrario bajos niveles de expresión de PD-1 con mejores resultados oncológicos^{115,162}. Estudios previos utilizando Sipuleucel y TRIMELVAX habían reportado aumento en la población de linfocitos CD4 a nivel tumoral, y sipuleucel específicamente de linfocitos CD4+ FOXP3-, esto no fue observado en nuestra cohorte, sin embargo en nuestra aproximación, no evaluamos subpoblaciones de linfocitos CD4+ donde si pudiesen haber sido detectados cambios. Si bien nuestros hallazgos iniciales pueden ser interesantes, estos datos deben ser validados en futuras investigaciones en las cuales no solo se determine la infiltración linfocitaria a nivel general, sino que también a nivel de subpoblaciones linfocitarias.

Conclusiones

Basado en nuestros hallazgos podemos concluir que TAPCELLS es una terapia segura y bien tolerada, en pacientes con cáncer de próstata órgano confinado, sin impacto significativo en la calidad de vida de los pacientes, que permite realizar la prostatectomía radical y linfadenectomía extendida sin mayores complicaciones, capaz de estimular una respuesta inmune específica a nivel sistémico, y una probable respuesta inmunológica a nivel intratumoral. Dado el pequeño tamaño muestral estos hallazgos deben ser confirmados en estudios futuros con mayor tamaño muestral e incluyendo un grupo control.

Figuras

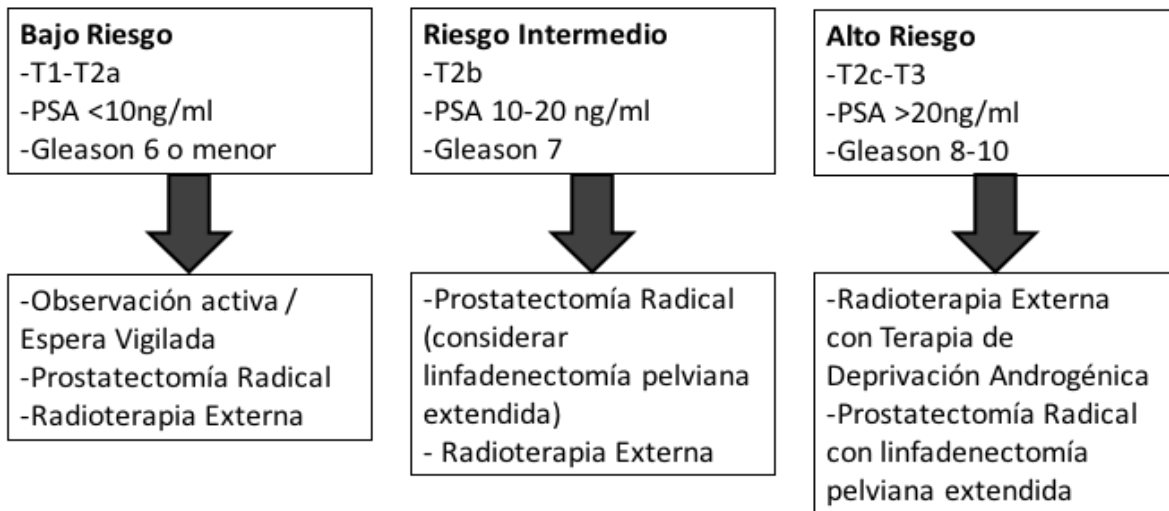


Figura 1. Recomendaciones de modalidades de tratamiento en cáncer de próstata órgano-confinado según riesgo de recurrencia de acuerdo a criterios de D'Amico. Adaptada de Guías NCCN para el tratamiento de CaP¹¹

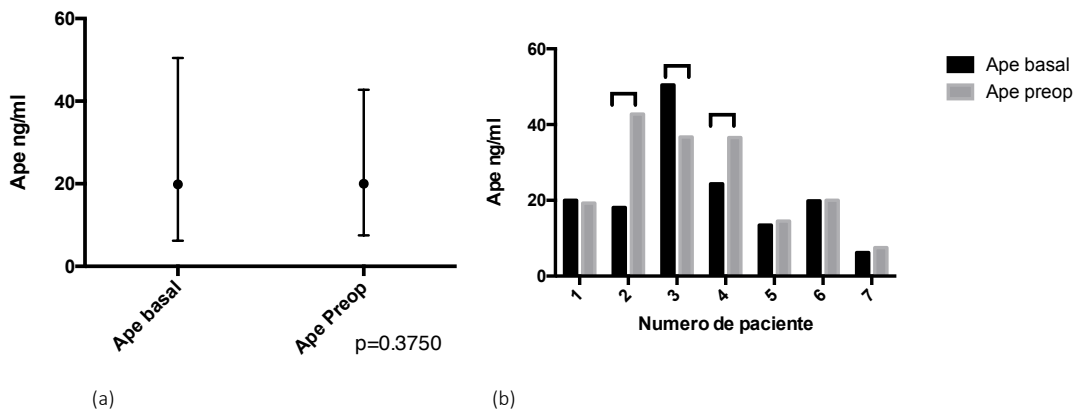


Figura 2(a) mediana de Ape basal y preoperatoria del grupo de estudio, no se observaron diferencias significativas en términos globales en el grupo de estudio entre el ape basal y el

ape preoperatorio, posterior a la inmunización neoadyuvante con TAPCELLS. wilcoxon rank test $p=0,3750$

2(b) Ape basal vs preoperatorio a nivel individual. 3 pacientes presentaron cambios significativos en su Ape, durante la inmunización neoadyuvante, los pacientes 2 y 4 presentaron progresión bioquímica y el paciente 3 presentó una disminución significativa. Los pacientes 1, 5, 6 y 7 presentaron estabilidad bioquímica.

▣ : variaciones mayores a 25% respecto al basal.

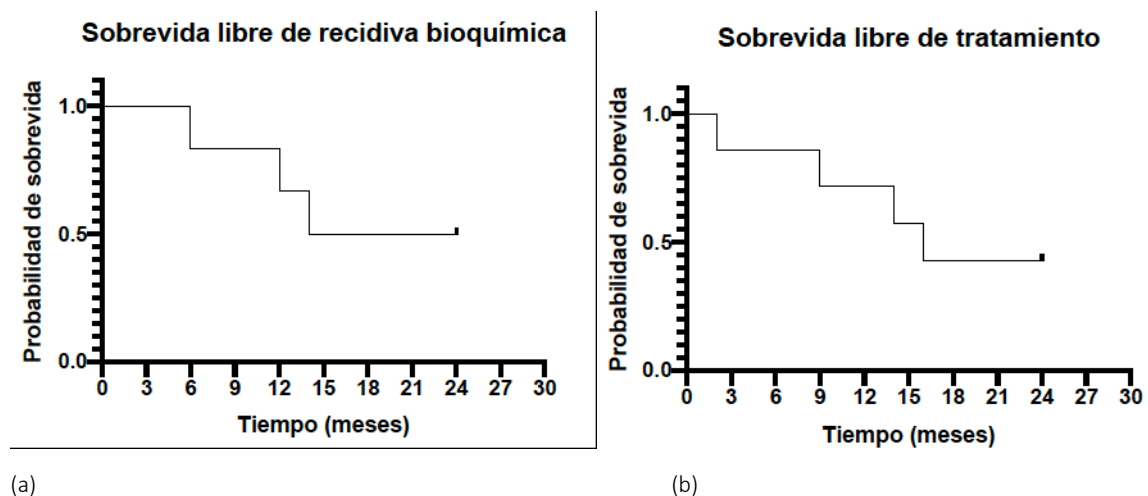


Figura 3.- a.- Sobrevida libre de recidiva bioquímica de pacientes que completaron el protocolo de investigación, los pacientes que presentaron RBQ (3) fueron sometidos a re-etapificación y posteriormente radioterapia de salvataje + terapia de deprivación androgénica.

b.- Sobrevida libre de tratamiento de pacientes que completaron el protocolo de investigación. Un paciente recibió radioterapia adyuvante y 3 pacientes radioterapia de salvataje, en ambos casos asociado a terapia de deprivación androgénica por 2 años.

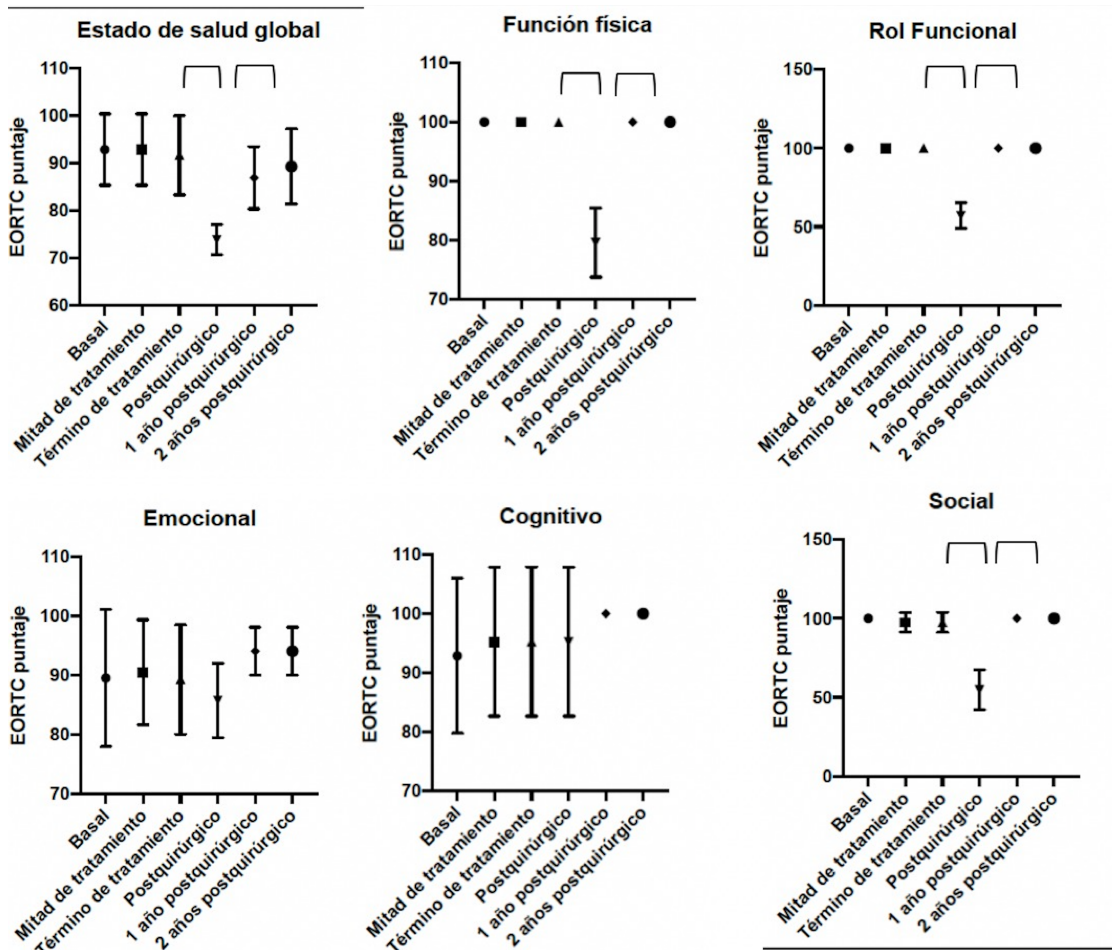


Figura 4.- Escalas de funcionalidad según EORTC QLQ-C30 durante periodo de investigación. Durante la inmunización neoadyuvante no se observa impacto en el estado de salud global, ni en los roles funcionales, posterior a la prostatectomía radical se observa una disminución significativa en términos de salud global, función física, rol funcional y social, este deterioro se recupera al año de la intervención quirúrgica

⌈ : p value < 0.05. One way anova para variables con distribución normal, Friedman test para variables con distribución no normal.

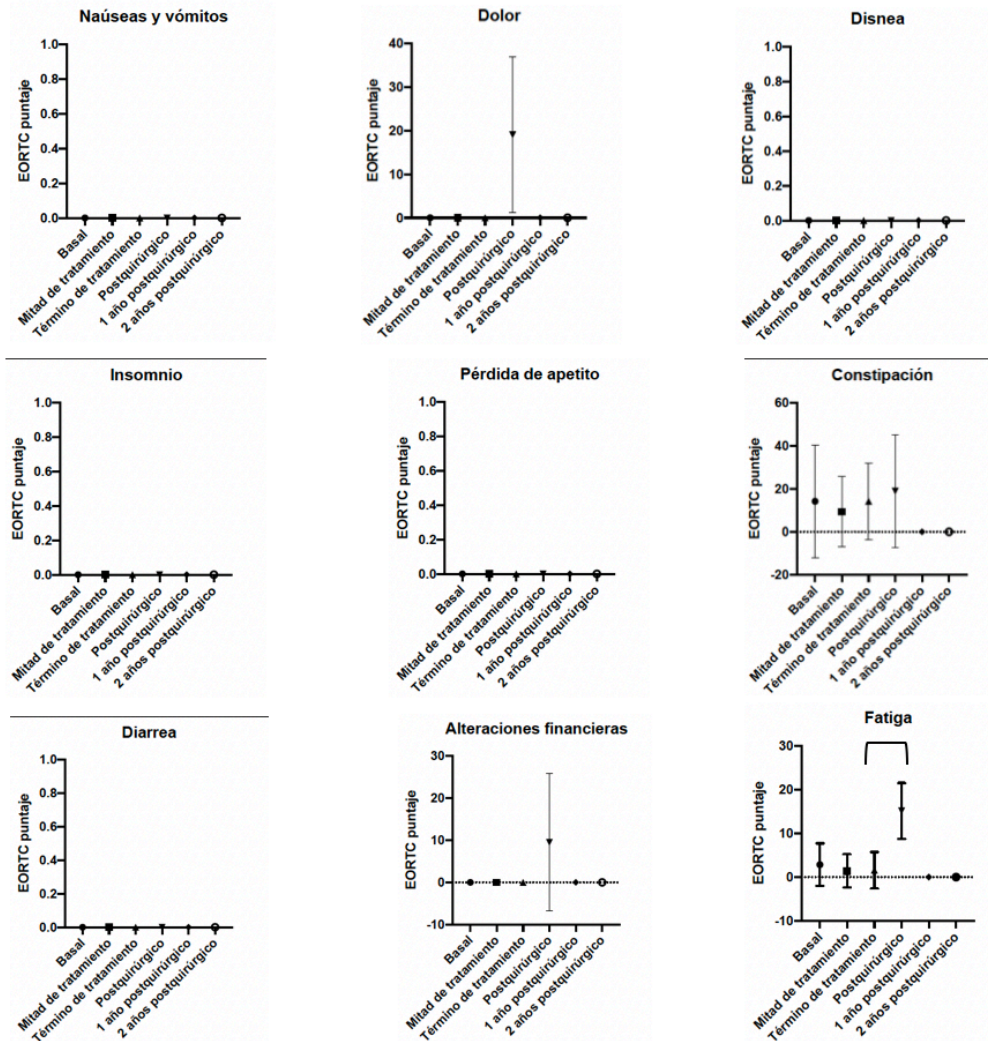


Figura 5.- Escala sintomática según EORTC QLQ-C30 durante periodo de investigación.

Durante la inmunización neoadyuvante no se observa impacto sintomático en los pacientes, posterior a la prostatectomía radical Solo se observan repercusiones en términos de dolor y fatiga posteriores a la cirugía.

□ : p value < 0.05. One way anova para variables con distribución normal, Friedman test para variables con distribución no normal.

PCCL
CCH
CTRL

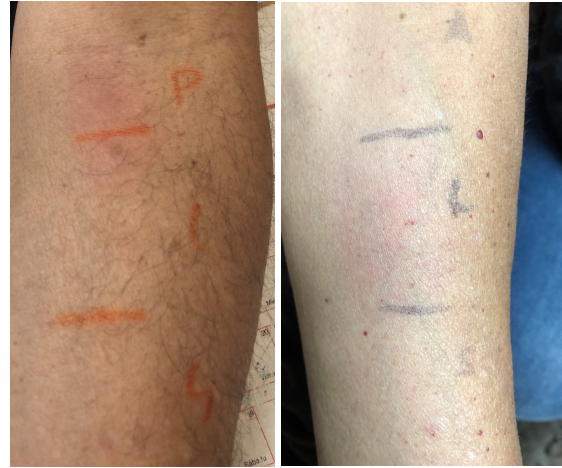


Fig 6.- Ejemplo de paciente con Test DTH + Y Test DTH -. En la figura de la izquierda se observa una zona de induración mayor a 5 mm en el sitio de inoculación de PCCL, cumpliendo criterios de DTH +. En la figura de la derecha se observa una zona indurada menor a 5 mm, correspondiendo a DTH -.

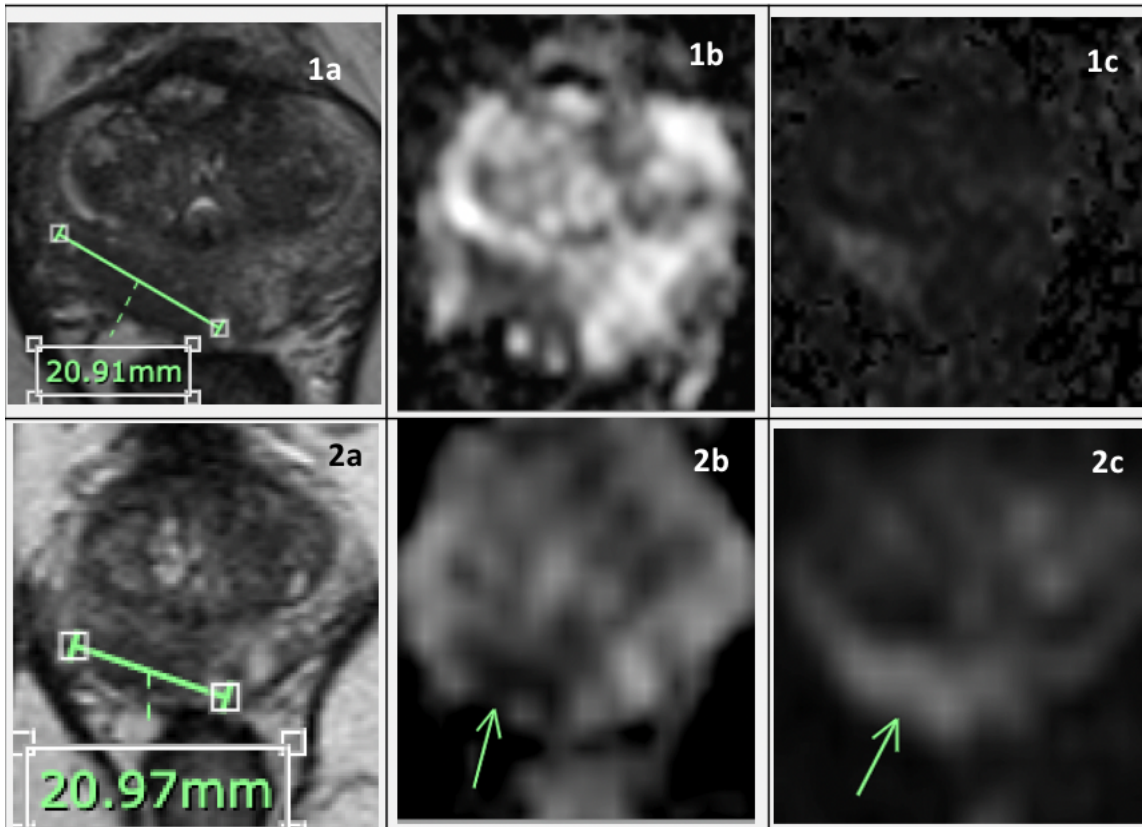


Figura 7.- En la figura se muestran imágenes seleccionadas de mpRNM. Las imágenes 1 son preintervención y las 2 post intervención. Las letras a, b, representan secuencia T2, ADC y DWI respectivamente. Se indica la lesión índice de acuerdo a PIRADS V2. De acuerdo a criterios RECIST se observa estabilidad imagenológica en la lesión índice.

Características demográficas	
Características	Nº pacientes (%)
Pacientes enrolados	7 (100)
Edad (años)	
Mediana	65 (59 – 71)
Peso (kgs)	
Mediana	67 (60-85)
ECOG PS = 0	7 (100)
ISUP	
2	1 (14,3)
3	2 (28,6)
4	4 (57,1)
Tacto rectal	
T1c	4 (57,1)
T2b	2 (28,6)
T2c	1 (14,3)
Compromiso regional	
NO	7 (100)
Metástasis	
MO	7 (100)
APE diagnóstico (ng/mL)	
Mediana	19,85 (6,24 - 50,47)
Riesgo D`Amico	
Bajo	0 (0)
Intermedio	1 (14,3)
Alto	6 (85,7)

Tabla 1.- Resumen de características demográficas, clínicas y patológicas basales de los pacientes reclutados en el estudio clínico. Se reclutaron 6 pacientes de riesgo alto según D'Amico y 1 paciente de riesgo intermedio no favorable, todos con enfermedad localizada.

Eventos adversos durante tratamiento	
Evento	Nº
Prurito en zona punción (G1)	4
Dolor en zona punción (G2)	1

Tabla 2.- Efectos adversos ocurridos desde la primera leucoforesis. Todos los efectos adversos fueron catalogados como toxicidad grado 1 y 2 de acuerdo a CTCAE

Tiempo intraoperatorio	180 min (140-190 min)
Sangrado estimado	900 cc (600-1200 cc)
Complicaciones Clavien Dindo	
Nivel 2	Transfusión glóbulos rojos (3)
	Crisis hipertensiva (1)

Tabla 3.- Características quirúrgicas y complicaciones perioperatorias, de los pacientes estudiados, solo se presentaron complicaciones Clavien Dindo nivel 2.

	Lesión 1 ^{ria} basal	Lesión 2 ^{ia} basal	Lesión 1 ^{ria} seguimiento	Lesión 2 ^{ria} seguimiento
Tamaño (mm)	21 (10 – 52)	12 (6 – 22)	21 (10 – 52)	12 (6 – 22)
PIRADS	5 (4 – 5)	4 (3 – 5)	5 (4 – 5)	4 (3 – 5)
T				
T2a	2 (28,6%)	4 (57,1%)	2 (28,6%)	4 (57,1%)
T3	5 (71,4%)	3 (42,9%)	5 (71,4%)	3 (42,9%)
ADC (x 10 ³ mm ² s ⁻¹)				
Promedio	1,25 (0,464 - 1,91)	1,33 (0,667 – 1,66)	1,17 (1,1 – 1,92)	1,27 (0,935 – 1,56)

Máximo	1,47 (0,54 – 2,08)	1,49 (0,785 – 1,71)	1,35 (1,28 – 2,05)	1,37 (0,974 – 1,69)
Mínimo	1,2 (0,774 – 1,71)	1,16 (0,547 – 1,61)	1,07 (0,808 – 1,76)	1,14 (0,81 – 1,42)

Tabla 4.- Características imagenológicas de la mpMRI al diagnóstico y luego de completada la inmunización neoadyuvante previo a intervención quirúrgica. En términos globales se observó estabilidad en tamaño de la lesión índex y secundaria, PIRADS y cT en las lesiones estudiadas tampoco se observaron variaciones significativas en el coeficiente ADC.

Anatomía patológica de pieza operatoria	
Características	Nº pacientes (%)
ISUP postoperatorio	
1	1 (14,3)
2	1 (14,3)
3	1 (14,3)
4	2 (28,6)
5	2 (28,6)
Upgrading	2 (28,6)
Downgrading	2 (28,6)
Compromiso linfonodal	
N0	4 (57,1)
N1	3 (42,9)
Margen quirúrgico	
Positivo	2 (28,6)
Negativo	5 (71,4)

Tabla 5: Características patológicas de pieza operatoria posterior a neoadyuvancia. 6 pacientes presentaron adenocarcinoma de próstata clínicamente significativo definido como

ISUP ≥ 2 , 2 pacientes presentaron upgrading y 2 pacientes presentaron downgrading. 3 pacientes presentaron compromiso linfonodal en la biopsia definitiva.

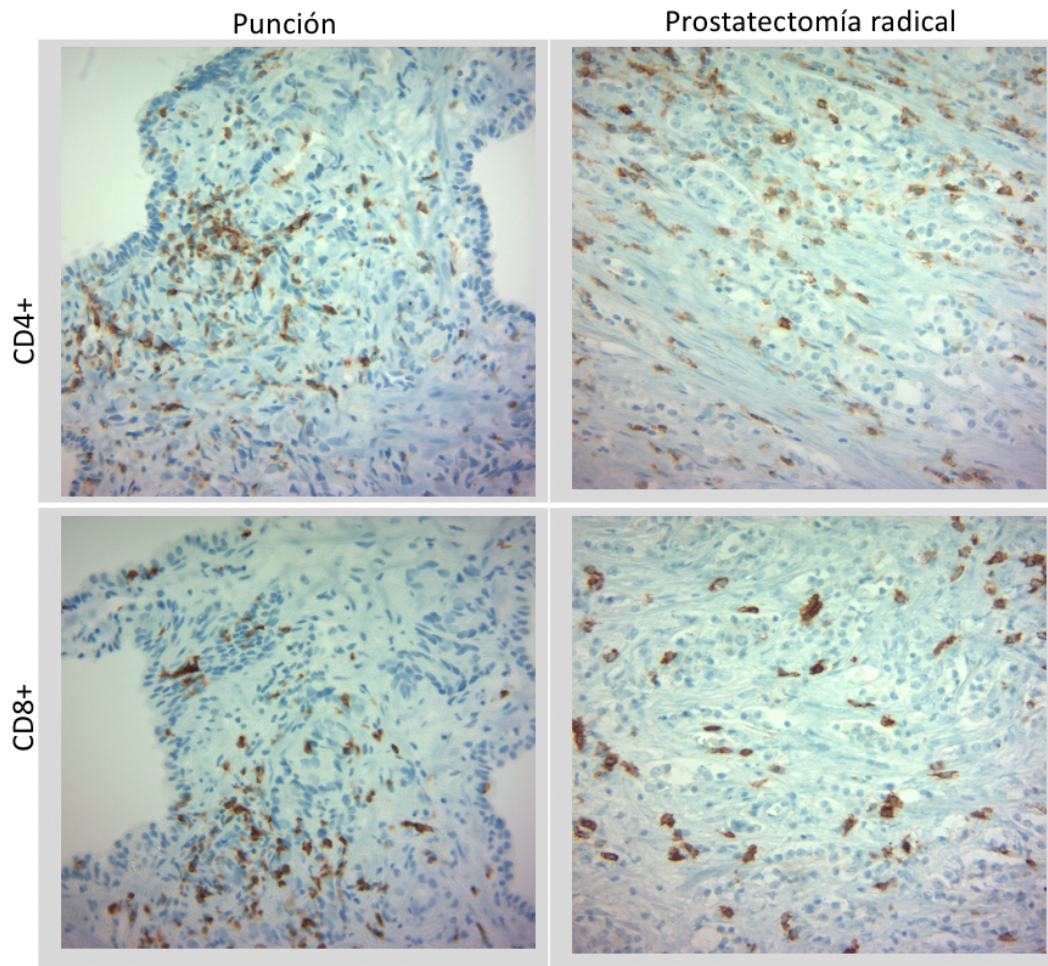


Figura.- 8 Representación digital microscópica de inmunohistoquímica de muestras obtenidas por (a) punción previo a la inmunización neoadyuvante y (b) biopsia definitiva posterior a la inmunización neoadyuvante con TAPCells y prostatectomía radical en que se observan linfocitos infiltrantes de tumor CD4+ Y CD8+. Microscopia 20x.

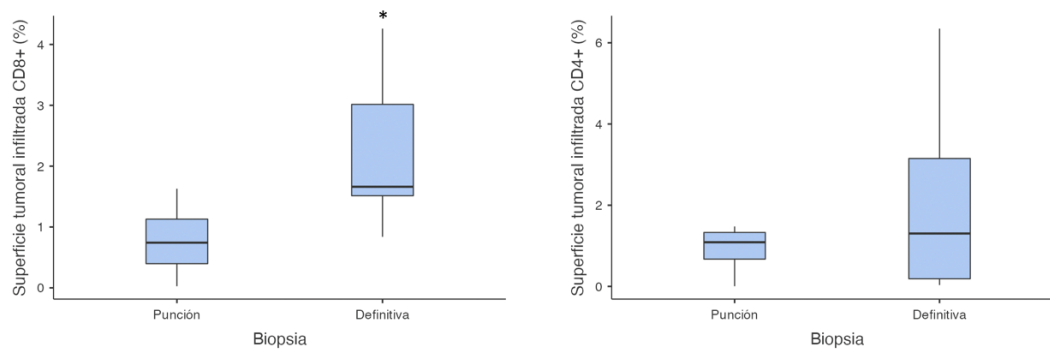


Figura 9.- Porcentaje de superficie tumoral infiltrada con linfocitos CD8+ (a) y CD4+ (b) en muestra obtenida a través de biopsia por punción y prostatectomía radical. Se observa un incremento significativo de la infiltración de linfocitos CD8+ en la muestra de prostatectomía radical posterior a la inmunización neoadyuvante con TAPCELLS.

* Representa diferencia significativa entre ambos grupos $p < 0.05$ U Mann Whitney

Anexo 1. Elegibilidad de los Pacientes

Criterios de Inclusión

1. El paciente debe haber firmado un documento de consentimiento informado aprobado por un IRB/IEC, de acuerdo a las regulaciones y guías institucionales locales. Este consentimiento debe ser firmado previo al inicio de cualquier procedimiento relacionado con el protocolo. Los pacientes deben estar de acuerdo con cumplir el calendario de visitas, calendario de tratamiento, estudios de laboratorio y otros requerimientos del estudio.
2. El paciente debe tener entre 18 y 80 años.
3. Confirmación histológica de adenocarcinoma de próstata.
4. Cáncer de Próstata órgano-confinado, de riesgo intermedio o alto riesgo de recurrencia según clasificación de D'Amico⁸.
5. No haber recibido tratamiento local ni sistémico previo contra CaP.
6. ECOG PS 0 o 1.
7. Expectativa de vida mayor a 10 años.
8. Evaluación por Comité Oncológico que sugiera la PRR como tratamiento adecuado para el paciente.
9. Tomografía Computada de Abdomen y Pelvis sin evidencias de diseminación ni compromiso local de otros órganos dentro de los 30 días previos a la aleatorización.
10. Cintigrafía ósea sin evidencias de diseminación dentro de los 30 días previos a la aleatorización.

Criterios de Exclusión

1. Cualquier otro cáncer del cual el paciente se encuentre libre enfermedad por menos de 10 años, excepto cáncer de piel escamoso o basocelular adecuadamente tratado y curado.
2. Cualquier uso previo de tratamientos locales o sistémicos para cáncer de próstata, incluyendo hormonoterapia, quimioterapia, inmunoterapia celular o humoral.

3. Historia antigua o reciente de alguna enfermedad autoinmune, tales como enfermedad inflamatoria intestinal, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoidea o enfermedades oculares autoinmunes. DM tipo 1, vitíligo o hipotiroidismo secundario a tiroiditis autoinmune previa que requiera sólo tratamiento hormonal puede ser enrolada.
4. Cualquier condición que requiera el uso sistémico de corticoides o inmunosupresores dentro de los 28 días previos al inicio del estudio. Está permitido el uso de corticoides inhalatorios.
5. Insuficiencia suprarrenal, que requiera uso de corticoides, en cualquier dosis.
6. Cualquier test positivo para HIV, HBV o HCV.
7. Antecedente de esplenectomía.
8. Cualquier condición médica conocida que según la interpretación del investigador puede aumentar el riesgo asociado a la participación en el estudio, o inteferir con la administración del tratamiento o seguimiento, o interferir con la interpretación de los resultados de seguridad.
9. Cualquiera de los siguientes resultados de estudios de laboratorio:
 - a) Hematocrito menor de 21% o hemoglobinemias menor de 7 g/dl
 - b) Recuento leucocitario menor de 2.000/mm³
 - c) Neutrófilos < 1.500/mm³
 - d) Plaquetas < 100.000/mm³
 - e) AST o ALT > 3 veces límite normal (> 5 veces si existen metástasis hepáticas).
 - f) Bilirrubinemia total > 1,5 veces límite normal.
 - g) Clearance de creatinina calculado según fórmula de Cockcroft-Gault < 30 ml/min.
10. Incapacidad para realizar el procedimiento de consentimiento informado.
11. Antecedente de trasplante de médula ósea alogénico.

Tratamientos Concomitantes

Tratamientos prohibido o restringidos

Los siguientes medicamentos están prohibidos durante el estudio

- Agentes inmunosupresores (excepto para tratar algún EA relacionado al tratamiento)

- Corticoides sistémicos en dosis mayores de 10 mg diarios de prednisona (o equivalentes)
- Cualquier terapia antineoplásica (quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, inmunoterapia, cirugía u otros medicamentos de investigación)

Terapias Permitidas

Los pacientes pueden utilizar corticoides tópicos, oculares, intraarticulares, intranasales e inhalatorios (con mínima absorción sistémica).

Los medicamentos concomitantes deben ser registrados en la visita inicial y durante la fase de tratamiento. Todos los medicamentos utilizados por los pacientes durante el estudio deben ser registrados.

Bibliografia

1. Stewart BW, Wild CP. World cancer report 2014. *World Heal Organ*. 2014;1-2. doi:9283204298
2. Boyle P, Severi G, Giles GG. The epidemiology of prostate cancer. *Urol Clin North Am*. 2003;30(2):209-217. doi:10.1016/S0094-0143(02)00181-7
3. Fitzmaurice C, Allen C, Barber RM, et al. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study Global Burden. *JAMA Oncol*. 2017;3(4):524-548. doi:10.1001/jamaoncol.2016.5688
4. Sierra MS, Soerjomataram I, Antoni S, et al. Cancer patterns and trends in Central and South America. *Cancer Epidemiol*. 2016;44:S23-S42. doi:10.1016/j.canep.2016.07.013
5. Serban Negoita, MD, DrPH1; Eric J. Feuer, PhD1; Angela Mariotto, PhD1; Kathleen A. Cronin, PhD1; Valentina I. Petkov, MD, MPH1; Sarah K. Hussey, MS 1; Vicki Benard, PhD2; S. Jane Henley M, Robert N. Anderson, PhD3; Stacey Fedewa, PhD4; Recinda L. Sherman, MPH, PhD, CTR5; Betsy A. Kohler, MPH5; Barbara J. Dearmon, BS, CTR6; Andrew J. Lake, BS7; Jiemin Ma, PhD, MHS4; Lisa C. Richardson, MD, MPH2; Ahmedin Jemal, DVM, PhD 4; and Lynne Penberthy M. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, Part II: Recent Changes in Prostate Cancer Trends and Disease Characteristics. *Cancer*. 2018.
6. Moyer V a. Screening for prostate cancer: U.S. preventive services task force recommendation statement. *Ann Intern Med*. 2012;157(2):120-134. doi:10.7326/0003-4819-157-2-201207170-00459
7. Pound CR, Partin AW, Eisenberger MA, Chan DW, Pearson JD, Walsh PC. Natural history of progression after psa elevation following radical prostatectomy. *Jama*. 1999;281(17):1591-1597. doi:10.1001/jama.281.17.1591
8. Abdel-Rahman O. Dissecting the heterogeneity of localized prostate cancer risk groups through integration of percent of positive cores. *Futur Oncol*. 2018;14(15):1469-1476. doi:10.2217/fo-2017-0596
9. Cornford P, Bellmunt J, Bolla M, et al. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part II: Treatment of Relapsing, Metastatic, and Castration-Resistant Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2017;71(4):630-642. doi:10.1016/j.eururo.2016.08.002
10. Dall'Era MA, deVere-White R, Rodriguez D, Cress R. Changing Incidence of Metastatic Prostate Cancer by Race and Age, 1988–2015. *Eur Urol Focus*. 2018:1-8. doi:10.1016/j.euf.2018.04.016
11. Goldstein DP, Horowitz NS, Dizon DS, Vora SR. Official reprint from UpToDate® www.uptodate.com ©2018 UpToDate, Inc. and/or its affiliates. All Rights Reserved. Gestational trophoblastic neoplasia: Epidemiology, clinical features, diagnosis, staging, and risk stratification. 2018.
12. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin

- DM, Forman D, Bray F. GLOBOCAN 2012 v1.1, Cancer Incidence and Mortality Worldwide. *GLOBOCAN 2012 v11, Cancer Incid Mortal Worldw.* 2012:IARC CancerBase No. 11. <http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/worldwide-data>.
13. Pishgar F, Ebrahimi H, Saeedi Moghaddam S, Fitzmaurice C, Amini E. Global, Regional and National Burden of Prostate Cancer, 1990 to 2015: Results from the Global Burden of Disease Study 2015. *J Urol.* 2018;199(5):1224-1232. doi:10.1016/j.juro.2017.10.044
 14. Esteves SC, Miyaoka R, Agarwal A. Sperm retrieval techniques for assisted reproduction. *Int Braz J Urol.* 2011;37(5):570-583. doi:10.1590/S1677-55382011000500002
 15. Bell KJL, Del Mar C, Wright G, Dickinson J, Glasziou P. Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies. *Int J Cancer.* 2015;137(7):1749-1757. doi:10.1002/ijc.29538
 16. Barry MJ, Nelson JB. Patients present with more advanced prostate cancer since the USPSTF screening recommendations. *J Urol.* 2015;194(6):1534-1536. doi:10.1016/j.juro.2015.09.033
 17. Helgstrand JT, Røder MA, Klemann N, et al. Trends in incidence and 5-year mortality in men with newly diagnosed metastatic prostate cancer - a population-based analysis of two national cohorts. *Eur J Cancer.* 2018;(In review):1-8. doi:10.1002/cncr.31384
 18. Kearns J, Holt S, Wright J, Lin D, Lange P, Gore J. Pd43-12 Psa Screening, Prostate Biopsy, and Treatment of Prostate Cancer in the Years Surrounding the Uspstf Recommendation Against Prostate Cancer Screening. *J Urol.* 2017;197(4):e822-e823. doi:10.1016/j.juro.2017.02.1917
 19. Brawley OW. Trends in prostate cancer in the United States. *J Natl Cancer Inst - Monogr.* 2012;(45):152-156. doi:10.1093/jncimonographs/lgs035
 20. Barahona J, Rodriguez C, Martin F RD. Estadío clínico al momento del diagnóstico en cáncer de próstata: instituto nacional del cáncer. *Rev Chil Urol.* 2016;81(4):108.
 21. Ries et al. SEER Cancer Statistics Review 1975-2004 National Cancer Institute. 2005. http://www.seer.cancer.gov/csr/1975_2004/results_merged/sect_23_prostate.pdf.
 22. Han M, Partin AW, Pound CR, Epstein JI, Walsh PC. Long-term biochemical disease-free and cancer-specific survival following anatomic radical retropubic prostatectomy: The 15-year Johns Hopkins experience. *Urol Clin North Am.* 2001;28(3):555-565. doi:10.1016/S0094-0143(05)70163-4
 23. Hankey BF, Feuer EJ, Clegg LX, et al. Cancer Surveillance Series : Interpreting Trends in. *J Natl Cancer Inst.* 1999;91(12):1017-1024. doi:10.1093/jnci/91.12.1017
 24. Sanda MG, Cadeddu JA, Kirkby E, et al. Clinically Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline. Part I: Risk Stratification, Shared Decision Making, and Care Options. *J Urol.* 2018;199(3):683-690. doi:10.1016/j.juro.2017.11.095
 25. Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, et al. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur Urol.* 2017;71(4):618-629. doi:10.1016/j.eururo.2016.08.003
 26. Boorjian SA, Karnes RJ, Rangel LJ, Bergstralh EJ, Blute ML. Mayo Clinic Validation of the D'Amico Risk Group Classification for Predicting Survival Following Radical

- Prostatectomy. *J Urol*. 2008;179(4):1354-1361. doi:10.1016/j.juro.2007.11.061
27. D'Amico A V, Whittington R, Malkowicz S, et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA J Am Med Assoc*. 1998;280(11):969-974. doi:10.1001/jama.280.11.969
 28. Hernandez DJ, Nielsen ME, Han M, Partin AW. Contemporary Evaluation of the D'Amico Risk Classification of Prostate Cancer. *Urology*. 2007;70(5):931-935. doi:10.1016/j.urology.2007.08.055
 29. Rimm EB, Sc D, Chasman DI, et al. New England Journal. *N Engl J Med*. 2012;367(15):1387-1396. doi:10.1056/NEJMoa1203039
 30. Steyn Jh, Smith Fw. Nuclear Magnetic Resonance Imaging of the Prostate. *Br J Urol*. 1982;54(6):726-728. doi:10.1111/j.1464-410X.1982.tb13634.x
 31. Bauer KA, Mandel J. Official reprint from UpToDate® www.uptodate.com ©2018 UpToDate, Inc. and/or its affiliates. All Rights Reserved. Clinical presentation and diagnosis of the nonpregnant adult with suspected deep vein thrombosis of the lower extremity. 2018;c(table 1):1-30.
 32. Fedorov A, Maier SE, Clare MC. Multiparametric MRI of Prostate Cancer: An Update on State-of-the-Art Techniques and Their Performance in Detecting and Localizing Prostate Cancer. 2014;37(5):1035-1054. doi:10.1002/jmri.23860.Multiparametric
 33. Soffia S P. Difusión Por Resonancia Magnética: Bases Y Aplicaciones Oncológicas En Órganos Extracraneanos. *Rev Chil Radiol*. 2009;15(1):17-24. doi:10.4067/S0717-93082009000400004
 34. Barentsz JO, Richenberg J, Clements R, et al. ESUR prostate MR guidelines 2012. *Eur Radiol*. 2012;22(4):746-757. doi:10.1007/s00330-011-2377-y
 35. Zhang L, Tang M, Chen S, Lei X, Zhang X, Huan Y. A meta-analysis of use of Prostate Imaging Reporting and Data System Version 2 (PI-RADS V2) with multiparametric MR imaging for the detection of prostate cancer. *Eur Radiol*. 2017;27(12):5204-5214. doi:10.1007/s00330-017-4843-7
 36. Labra A, Olivares J, Tapia M. Utilidad del Score PI-RADS 2 en la Práctica Clínica ¿ Se Justifica el estudio histológico ? *Rev Chil Radiol*. 2017;23:151-155.
 37. Ahmed HU, El-Shater Bosaily A, Brown LC, et al. Diagnostic accuracy of multiparametric MRI and TRUS biopsy in prostate cancer (PROMIS): a paired validating confirmatory study. *Lancet*. 2017;389(10071):815-822. doi:10.1016/S0140-6736(16)32401-1
 38. Purnell SD, Bloom JB, Valera V, Wood BJ, Turkbey B, Pinto PA. Targeted biopsy: Benefits and limitations. *Curr Opin Urol*. 2018;28(2):219-226. doi:10.1097/MOU.0000000000000481
 39. Somford DM, Hamoen EH, Fütterer JJ, et al. The predictive value of endorectal 3 tesla multiparametric magnetic resonance imaging for extraprostatic extension in patients with low, intermediate and high risk prostate cancer. *J Urol*. 2013;190(5):1728-1734. doi:10.1016/j.juro.2013.05.021
 40. Heesakkers RA, Hövels AM, Jager GJ, et al. MRI with a lymph-node-specific contrast agent as an alternative to CT scan and lymph-node dissection in patients with prostate cancer: a prospective multicohort study. *Lancet Oncol*. 2008;9(9):850-856.

- doi:10.1016/S1470-2045(08)70203-1
41. Zelhof B, Pickles M, Liney G, et al. Correlation of diffusion-weighted magnetic resonance data with cellularity in prostate cancer. *BJU Int.* 2009;103(7):883-888. doi:10.1111/j.1464-410X.2008.08130.x
 42. Liu L, Wu N, Ouyang H, Dai JR, Wang WH. Diffusion-weighted MRI in early assessment of tumour response to radiotherapy in high-risk prostate cancer. *Br J Radiol.* 2014;87(1043). doi:10.1259/bjr.20140359
 43. Itou Y, Nakanishi K, Narumi Y, Nishizawa Y, Tsukuma H. Clinical utility of apparent diffusion coefficient (ADC) values in patients with prostate cancer: Can ADC values contribute to assess the aggressiveness of prostate cancer? *J Magn Reson Imaging.* 2011;33(1):167-172. doi:10.1002/jmri.22317
 44. Stephen Hodi F, Ballinger M, Lyons B, et al. Immune-modified response evaluation criteria in solid tumors (imrecist): Refining guidelines to assess the clinical benefit of cancer immunotherapy. *J Clin Oncol.* 2018;36(9):850-858. doi:10.1200/JCO.2017.75.1644
 45. Barrett T, Haider MA. The emerging role of MRI in prostate cancer active surveillance and ongoing challenges. *Am J Roentgenol.* 2017;208(1):131-139. doi:10.2214/AJR.16.16355
 46. Amling CL, Bergstralh EJ, Blute ML, Slezak JM, Zincke H. Defining prostate specific antigen progression after radical prostatectomy: What is the most appropriate cut point? *J Urol.* 2001;165(4):1146-1151. doi:10.1016/S0022-5347(05)66452-X
 47. Llukani E, Lepor H. Aetiology and management of earlier vs later biochemical recurrence after retropubic radical prostatectomy. *BJU Int.* 2017;120(4):505-510. doi:10.1111/bju.13816
 48. Boorjian SA, Thompson RH, Tollefson MK, et al. Long-term risk of clinical progression after biochemical recurrence following radical prostatectomy: The impact of time from surgery to recurrence. *Eur Urol.* 2011;59(6):893-899. doi:10.1016/j.eururo.2011.02.026
 49. Goenka A, Magsanoc JM, Pei X, et al. Long-term outcomes after high-dose postprostatectomy salvage radiation treatment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;84(1):112-118. doi:10.1016/j.ijrobp.2011.10.077
 50. Briganti A, Wiegel T, Joniau S, et al. Early salvage radiation therapy does not compromise cancer control in patients with pT3N0 prostate cancer after radical prostatectomy: Results of a match-controlled multi-institutional analysis. *Eur Urol.* 2012;62(3):472-487. doi:10.1016/j.eururo.2012.04.056
 51. van Stam MA, Aaronson NK, Pos FJ, et al. The Effect of Salvage Radiotherapy and its Timing on the Health-related Quality of Life of Prostate Cancer Patients. *Eur Urol.* 2016;70(5):751-757. doi:10.1016/j.eururo.2016.03.010
 52. Showalter TN, Foley KA, Jutkowitz E, et al. Costs of early adjuvant radiation therapy after radical prostatectomy: A decision analysis. *Ann Oncol.* 2012;23(3):701-706. doi:10.1093/annonc/mdr281
 53. Bandini M, Fossati N, Gandaglia G, et al. Neoadjuvant and adjuvant treatment in high-risk prostate cancer. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2018;11(4):425-438. doi:10.1080/17512433.2018.1429265

54. Johnston TJ, Shaw GL, Lamb AD, et al. Mortality Among Men with Advanced Prostate Cancer Excluded from the ProtecT Trial. *Eur Urol*. 2017;71(3):381-388. doi:10.1016/j.eururo.2016.09.040
55. Tosco L, Laenen A, Gevaert T, et al. Neoadjuvant degarelix with or without apalutamide followed by radical prostatectomy for intermediate and high-risk prostate cancer: ARNEO, a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *BMC Cancer*. 2018;18(1):1-10. doi:10.1186/s12885-018-4275-z
56. Bandini M, Fossati N, Gandaglia G, et al. Neoadjuvant and adjuvant treatment in high-risk prostate cancer. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2018;11(4). doi:10.1080/17512433.2018.1429265
57. Febbo PG. Neoadjuvant Docetaxel before Radical Prostatectomy in Patients with High-Risk Localized Prostate Cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11(14):5233-5240. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-0299
58. Shelley MD, Kumar S, Wilt T, Staffurth J, Coles B, Mason MD. A systematic review and meta-analysis of randomised trials of neo-adjuvant hormone therapy for localised and locally advanced prostate carcinoma. *Cancer Treat Rev*. 2009;35(1):9-17. doi:10.1016/j.ctrv.2008.08.002
59. Kumar S, Shelley M, Harrison C. Neo-adjuvant and adjuvant hormone therapy for localised and locally advanced prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006;(4):1-69. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD006019.pub2/pdf/standard>.
60. Ross RW, Galsky MD, Febbo P, et al. Phase 2 study of neoadjuvant docetaxel plus bevacizumab in patients with high-risk localized prostate cancer: A Prostate Cancer Clinical Trials Consortium trial. *Cancer*. 2012;118(19):4777-4784. doi:10.1002/cncr.27416
61. Mellado B, Font A, Alcaraz A, et al. Phase II trial of short-term neoadjuvant docetaxel and complete androgen blockade in high-risk prostate cancer. *Br J Cancer*. 2009;101(8):1248-1252. doi:10.1038/sj.bjc.6605320
62. Surgery With or Without Docetaxel and Leuprolide or Goserelin in Treating Patients With High-Risk Localized Prostate Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00430183>. Accessed May 29, 2018.
63. Taplin M-E, Montgomery B, Logothetis CJ, et al. Intense androgen-deprivation therapy with abiraterone acetate plus leuprolide acetate in patients with localized high-risk prostate cancer: results of a randomized phase ii neoadjuvant Study. *J Clin Oncol*. 2014;32(33):3705-3715. doi:10.1200/JCO.2013.53.4578
64. Tumors C, Balis FM. Oncologist. *Clin Sci*. 2008;9(suppl 5):1255-1269. doi:10.1634/theoncologist.2008-0207
65. Fizazi K, Scher HI, Molina A, et al. Abiraterone acetate for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer: Final overall survival analysis of the COU-AA-301 randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2012;13(10):983-992. doi:10.1016/S1470-2045(12)70379-0
66. Beer TM, Armstrong AJ, Rathkopf DE, et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N Engl J Med*. 2014;371(5):424-433.

- doi:10.1056/NEJMoa1405095
67. Hussain M, Fizazi K, Saad F, et al. Enzalutamide in Men with Nonmetastatic, Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(26):2465-2474. doi:10.1056/NEJMoa1800536
 68. Cho E, Mostaghel EA, Russell KJ, et al. localized prostate cancer : safety and effect on tissue androgens. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2016;92(2):236-243. doi:10.1016/j.ijrobp.2015.01.020.External
 69. Hopton Cann SA, Van Netten JP, Van Netten C, Glover DW. Spontaneous regression: A hidden treasure buried in time. *Med Hypotheses*. 2002;58(2):115-119. doi:10.1054/mehy.2001.1469
 70. Burnet FM. Immunological Aspects of Malignant Disease. *Lancet*. 1967;289(7501):1171-1174. doi:10.1016/S0140-6736(67)92837-1
 71. Parish CR. Cancer immunotherapy: The past, the present and the future. *Immunol Cell Biol*. 2003;81(2):106-113. doi:10.1046/j.0818-9641.2003.01151.x
 72. Urban JL, Schreiber H. Tumor antigens. *Annu Rev Immunol*. 1992;10:617-644. doi:10.1146/annurev.iy.10.040192.003153
 73. Stoler DL, Chen N, Basik M, et al. The onset and extent of genomic instability in sporadic colorectal tumor progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(26):15121-15126. doi:10.1073/pnas.96.26.15121
 74. Finn OJ. Immuno-oncology: Understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Ann Oncol*. 2012;23(SUPPL.8):8-11. doi:10.1093/annonc/mds256
 75. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
 76. Kanavos P. The evolving role of immunotherapy in prostate cancer. *Ann Oncol*. 2006;17(Supplement 8):15-23. doi:10.1093/annonc/mdl983
 77. Coppin C, Porzsolt F, Autenrieth M, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer (Review). 2008;(3).
 78. Ljungberg B, Cowan N, Hanbury DC, et al. Guidelines on Renal Cell Carcinoma. *Update*. 2010;58(3):398-406. doi:10.1016/j.eururo.2010.06.032
 79. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):252-264. doi:10.1038/nrc3239
 80. Wolchok JD, Hodi FS, Weber JS, et al. Development of ipilimumab: A novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1291(1):1-13. doi:10.1111/nyas.12180
 81. Carosella ED, Ploussard G, LeMaout J, Desgrandchamps F. A Systematic Review of Immunotherapy in Urologic Cancer: Evolving Roles for Targeting of CTLA-4, PD-1/PD-L1, and HLA-G. *Eur Urol*. 2015;68(2):267-279. doi:10.1016/j.eururo.2015.02.032
 82. Drake CG. Prostate cancer as a model for tumour immunotherapy. 2011;10(8):580-593. doi:10.1038/nri2817.Prostate
 83. Lee P, Gujar and S. Potentiating prostate cancer immunotherapy with oncolytic viruses.pdf. *Nat Rev Urol*. 2018.
 84. Ness N, Andersen S, Valkov A, et al. Infiltration of CD8+ lymphocytes is an

- independent prognostic factor of biochemical failure-free survival in prostate cancer. *Prostate*. 2014;74(14):1452-1461. doi:10.1002/pros.22862
85. Sfanos KS, Bruno TC, Meeker AK, Marzo AM De, William B, Drake CG. Human Prostate-Infiltrating CD8+ T Lymphocytes are Oligoclonal and PD-1+. *Prostate*. 2009;69(15):1694-1703. doi:10.1002/pros.21020.Human
 86. Gajewski TF, Corrales L, Williams J, Horton B, Sivan A, Spranger S. Cancer immunotherapy targets based on understanding the t cell-inflamed versus non-t cell-inflamed tumor microenvironment. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol 1036. ; 2017:19-31. doi:10.1007/978-3-319-67577-0_2
 87. Miller AM, Lundberg K, Ozenci V, et al. CD4+CD25high T Cells Are Enriched in the Tumor and Peripheral Blood of Prostate Cancer Patients. *J Immunol*. 2006;177(10):7398-7405. doi:10.4049/jimmunol.177.10.7398
 88. Kuniwa Y, Miyahara Y, Wang HY, et al. CD8+ Foxp3+ Regulatory T Cells Mediate Immunosuppression in Prostate Cancer. *Clin Cancer Res*. 2007;13(23):6947-6958. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0842
 89. Bilusic M, Madan RA, Gulley JL. Immunotherapy of prostate cancer: Facts and hopes. *Clin Cancer Res*. 2017;23(22):6764-6770. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-0019
 90. Kirpich. The next hurdle in cancer immunotherapy: Overcoming the nonT cell-inflamed tumor microenvironment. *Semin Oncol*. 2016;48(0):923-930. doi:10.1016/j.clinbiochem.2015.06.023.Gut-Liver
 91. Spranger S. Mechanisms of tumor escape in the context of the T-cell-inflamed and the non-T-cell-inflamed tumor microenvironment. *Int Immunol*. 2016;28(8):383-391. doi:10.1093/intimm/dxw014
 92. Ness N, Andersen S, Rakaee Khanehkenari M, et al. The prognostic role of immune checkpoint markers programmed cell death protein 1 (PD-1) and programmed death ligand 1 (PD-L1) in a large, multicenter prostate cancer cohort. *Oncotarget*. 2017;8(16):26789-26801. doi:10.18632/oncotarget.15817
 93. Martin AM, Nirschl TR, Nirschl CJ, et al. Paucity of PD-L1 Expression in Prostate Cancer: Innate and Adaptive Immune Resistance. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2016;18(4):325-332. doi:10.1038/pcan.2015.39.Paucity
 94. Bryant G, Wang L, Mulholland DJ. Overcoming Oncogenic Mediated Tumor Immunity in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1542). doi:10.3390/ijms18071542
 95. Crawford ED, Kibel A, Shore N. Optimal timing for treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer (mcrpc): sequencing and identifying parameters of early progression with sipuleucel-t. *J Urol*. 2013;189(4s). doi:10.1016/j.juro.2013.02.541
 96. Chi N, Tan Z, Ma K, Bao L, Yun Z. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with cancer stages, interleukin-8 and -6 in prostate cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(10):3181-3192.
 97. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(March):245-252. doi:10.1038/32588
 98. Steinman RM. Some interfaces of dendritic cell biology. *Apmis*. 2003;111(7-8):675-

97. doi:apm11107-802 [pii]
99. Peters BM, Mu AM. The Journal of The American Society of Hematology. 1998;92(10):3495-3504.
100. Alvarez D, Vollmann E, Andrian U Von. Mechanisms and Consequences of Dendritic Cell migration. *Immunity*. 2008;29(3). doi:10.1016/j.immuni.2008.08.006.Mechanisms
101. Shin T, Kennedy G, Gorski K, et al. Cooperative B7-1/2 (CD80/CD86) and B7-DC Costimulation of CD4⁺ T Cells Independent of the PD-1 Receptor. *J Exp Med*. 2003;198(1):31-38. doi:10.1084/jem.20030242
102. Lechmann M, Berchtold S, Steinkasserer A, Hauber J. CD83 on dendritic cells: More than just a marker for maturation. *Trends Immunol*. 2002;23(6):273-275. doi:10.1016/S1471-4906(02)02214-7
103. Delamarre L, Holcombe H, Mellman I. Presentation of Exogenous Antigens on Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Molecules Is Differentially Regulated during Dendritic Cell Maturation. *J Exp Med*. 2003;198(1):111-122. doi:10.1084/jem.20021542
104. Bandola-Simon J, Roche PA. Dysfunction of antigen processing and presentation by dendritic cells in cancer. *Mol Immunol*. 2018;(January):0-1. doi:10.1016/j.molimm.2018.03.025
105. Mittal SK, Roche PA. Suppression of antigen presentation by IL-10. *Curr Opin Immunol*. 2015;34:22-27. doi:10.1016/j.coi.2014.12.009
106. Timmerman JM, Czerwinski DK, Davis TA, et al. Idiotype-pulsed dendritic cell vaccination for B-cell lymphoma: clinical and immune responses in 35 patients. *Blood*. 2002;99(5):1517-1526. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11861263>.
107. Su Z, Dannull J, Heiser A, et al. Immunological and Clinical Responses in Metastatic Renal Cancer Patients Vaccinated with Tumor RNA-transfected Dendritic Cells Immunological and Clinical Responses in Metastatic Renal Cancer Patients. 2003:2127-2133.
108. Escobar A, López M, Serrano A, et al. Dendritic cell immunizations alone or combined with low doses of interleukin-2 induce specific immune responses in melanoma patients. *Clin Exp Immunol*. 2005;142(3):555-568. doi:10.1111/j.1365-2249.2005.02948.x
109. Bone L, Daniele N, Cristina M, et al. Monitoring Human Blood Dendritic Cell Numbers in Normal Individuals and in Stem Cell Transplantation. *Blood*. 1999;93(2):728-736. doi:10.1016/j.prp.2011.10.006
110. Thurner B, Röder C, Dieckmann D, et al. Generation of large numbers of fully mature and stable dendritic cells from leukapheresis products for clinical application. *J Immunol Methods*. 1999;223(1):1-15. doi:10.1016/S0022-1759(98)00208-7
111. Aguilera R, Saffie C, Tittarelli A, et al. Heat-shock induction of tumor-derived danger signals mediates rapid monocyte differentiation into clinically effective dendritic cells. *Clin Cancer Res*. 2011;17(8):2474-2483. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2384
112. De Vries IJM, Bernsen MR, Lesterhuis WJ, et al. Immunomonitoring tumor-specific T cells in delayed-type hypersensitivity skin biopsies after dendritic cell vaccination

- correlates with clinical outcome. *J Clin Oncol*. 2005;23(24):5779-5787. doi:10.1200/JCO.2005.06.478
113. Kobayashi K, Kaneda K, Kasama T. Immunopathogenesis of delayed-type hypersensitivity. *Microsc Res Tech*. 2001;53(4):241-245. doi:10.1002/jemt.1090
 114. López MN, Pereda C, Segal G, et al. Prolonged survival of dendritic cell-vaccinated melanoma patients correlates with tumor-specific delayed type IV hypersensitivity response and reduction of tumor growth factor β -expressing T cells. *J Clin Oncol*. 2009;27(6):945-952. doi:10.1200/JCO.2008.18.0794
 115. Gleisner MA, Pereda C, Tittarelli A, et al. A heat-shocked melanoma cell lysate vaccine enhances tumor infiltration by prototypic effector T cells inhibiting tumor growth. *J Immunother Cancer*. 2020;8(2). doi:10.1136/jitc-2020-000999
 116. Stevanovic S. Identification of tumour-associated T-cell epitopes for vaccine development. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(7):1-7. doi:10.1038/nrc841
 117. Lundwall a, Lilja H. Molecular cloning of human prostate specific antigen cDNA. *FEBS Lett*. 1987;214(2):317-322. doi:10.1016/0014-5793(87)80078-9
 118. Shun TL, BELING CG, Beling CG. Isolation and Characterization of Two Specific Antigens of Human Seminal Plasma *. 1973;24(2):134-144. doi:10.1016/S0015-0282(16)39496-1
 119. Lam KW, Li CY, Yam LT, Sun T, Lee G, Ziesmer S. Improved immunohistochemical detection of prostatic acid phosphatase by a monoclonal antibody. *Prostate*. 1989;15(1):13-21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2477829>.
 120. Peshwa M V., Shi JD, Ruegg C, Laus R, Van Schooten WCA. Induction of prostate tumor-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocytes in vitro using antigen-presenting cells pulsed with prostatic acid phosphatase peptide. *Prostate*. 1998;36(2):129-138. doi:10.1002/(SICI)1097-0045(19980701)36:2<129::AID-PROS8>3.0.CO;2-D
 121. Correale P, Nieroda C, Zaremba S, et al. In Vitro Generation of Human Cytotoxic T Lymphocytes Specific for Peptides Derived From Prostate-Specific Antigen. *J Natl Cancer Inst* . 1997;89(4):293-300. doi:10.1093/jnci/89.4.293
 122. Israeli RS, Powell CT, Corr JG, Fair WR, Heston WDW. Expression of the Prostate-specific Membrane Antigen Expression of the Prostate-specific Membrane Antigen. *Cancer Res*. 1994;54:1807-1811.
 123. Reiter RE, Gu Z, Watabe T, et al. Prostate stem cell antigen: a cell surface marker overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(4):1735-1740. doi:10.1073/pnas.95.4.1735
 124. Kalos M, Askaa J, Hylander BL, et al. Prostein expression is highly restricted to normal and malignant prostate tissues. *Prostate*. 2004;60(3):246-256. doi:10.1002/pros.20043
 125. Reyes D, Salazar L, Espinoza E, et al. Tumour cell lysate-loaded dendritic cell vaccine induces biochemical and memory immune response in castration-resistant prostate cancer patients. *Br J Cancer*. 2013;109(6):1488-1497. doi:10.1038/bjc.2013.494
 126. Babiuk S, Babiuk LA. *DNA Vaccines*.; 2008. doi:10.1016/B978-012374410-4.00587-2
 127. Sarkar I, Garg R, van Drunen Littel-van den Hurk S. Selection of adjuvants for vaccines targeting specific pathogens. *Expert Rev Vaccines*. 2019;18(5):505-521. doi:10.1080/14760584.2019.1604231

128. Becker MI, Arancibia S, Salazar F, Del Campo M, De Ioannes A. Mollusk Hemocyanins as Natural Immunostimulants in Biomedical Applications. *Immune Response Act.* 2014. doi:10.5772/57552
129. Moltedo B, Faunes F, Haussmann D, et al. Immunotherapeutic Effect of Concholepas Hemocyanin in the Murine Bladder Cancer Model: Evidence for Conserved Antitumor Properties Among Hemocyanins. *J Urol.* 2006;176(6):2690-2695. doi:10.1016/j.juro.2006.07.136
130. Li Y, Abbas Rizvi SM, Blair JM, et al. Antigenic expression of human metastatic prostate cancer cell lines for in vitro multiple-targeted α -therapy with ²¹³Bi-conjugates. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;60(3):896-908. doi:10.1016/j.ijrobp.2004.04.035
131. Bjorn C, Forsberg O, Bengtsson M, To'tterman TH. Characterization of Human Prostate and Breast Cancer Cell Lines for Experimental T Cell-Based Immunotherapy. *Prostate.* 67:389-395. doi:10.1002/pros
132. Finkelstein SE. radiotherapy. *Immunotherapy.* 2014;4(4):373-382. doi:10.2217/imt.12.24.Serial
133. Scher HI, Morris MJ, Stadler WM, et al. The Prostate Cancer Working Group 3 (PCWG3) consensus for trials in castration-resistant prostate cancer (CRPC). *J Clin Oncol.* 2015;33(15_suppl):5000-5000. doi:10.1200/jco.2015.33.15_suppl.5000
134. Aaronson NK, Ahmedzai S, Bergman B, et al. The European Organisation for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: A quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. *J Natl Cancer Inst.* 1993;85:365-376. doi:10.1093/jnci/85.5.365
135. Mitropoulos D, Artibani W, Biyani CS, Bjerggaard Jensen J, Rouprêt M, Truss M. Validation of the Clavien–Dindo Grading System in Urology by the European Association of Urology Guidelines Ad Hoc Panel. *Eur Urol Focus.* 2018;4(4):608-613. doi:10.1016/j.euf.2017.02.014
136. Van Der Kwast TH, Amin MB, Billis A, et al. International society of urological pathology (ISUP) consensus conference on handling and staging of radical prostatectomy specimens. working group 2: T2 substaging and prostate cancer volume. *Mod Pathol.* 2011;24(1):16-25. doi:10.1038/modpathol.2010.156
137. Väyrynen JP, Vornanen JO, Sajanti S, Böhm JP, Tuomisto A, Mäkinen MJ. An improved image analysis method for cell counting lends credibility to the prognostic significance of T cells in colorectal cancer. *Virchows Arch.* 2012;460(5):455-465. doi:10.1007/s00428-012-1232-0
138. Murray NP. Minimal residual disease in prostate cancer patients after primary treatment: Theoretical considerations, evidence and possible use in clinical management. *Biol Res.* 2018;51(1):1-14. doi:10.1186/s40659-018-0180-9
139. Miyake H, Hara I, Kurahashi T, Inoue T, Eto H, Fujisawa M. Quantitative Detection of Micrometastases in Pelvic Lymph Nodes in Patients with Clinically Localized Prostate Cancer by Real-time Reverse Transcriptase-PCR. *Clin Cancer Res.* 2007;13(4):1192 LP - 1197. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-2706
140. Pignot G, Lorient Y, Kamat AM, Shariat SF, Plimack ER. Effect of Immunotherapy on Local Treatment of Genitourinary Malignancies. *Eur Urol Oncol.* 2019;2(4):355-364.

- doi:10.1016/j.euo.2019.01.002
141. Fong L, Carroll P, Weinberg V, et al. Activated lymphocyte recruitment into the tumor microenvironment following preoperative sipuleucel-T for localized prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(11). doi:10.1093/jnci/dju268
 142. Thoms J, Goda JS, Zlotta AR, et al. Neoadjuvant radiotherapy for locally advanced and high-risk prostate cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2011;8(2):107-113. doi:10.1038/nrclinonc.2010.207
 143. Ashrafi A, Weisley Y MA. Neoadjuvant therapy high risk prostate cancer.pdf. *Indian J Urol.* 2020;36(4):251-261.
 144. Sasaki T, Nishikawa K, Kato M, et al. Neoadjuvant Chemohormonal Therapy before Radical Prostatectomy for Japanese Patients with High-Risk Localized Prostate Cancer. *Med Sci.* 2021;9(2):24. doi:10.3390/medsci9020024
 145. Vuky J, Corman JM, Porter C, Olgac S, Auerbach E, Dahl K. Phase II trial of neoadjuvant docetaxel and CG1940/CG8711 followed by radical prostatectomy in patients with high-risk clinically localized prostate cancer. *Oncologist.* 2013;18(6):687-688. doi:10.1634/theoncologist.2011-0234
 146. Chiou VL, Burotto M. Pseudoprogression and Immune-Related Response in Solid Tumors. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2015;33(31):3541-3543. doi:10.1200/JCO.2015.61.6870
 147. Kim JS, Ryu JG, Kim JW, et al. Prostate-specific antigen fluctuation: What does it mean in diagnosis of prostate cancer? *Int Braz J Urol.* 2015;41(2):258-264. doi:10.1590/S1677-5538.IBJU.2015.02.11
 148. Fulgham PF, Rukstalis DB, Turkbey IB, et al. AUA Standard Operating Procedure for MRI of the Prostate Pat. *J Urol.* 2017. doi:10.1016/j.juro.2017.04.101.DISCLAIMER
 149. Taneja SS. Re: Variability of the Positive Predictive Value of PI-RADS for Prostate MRI across 26 Centers: Experience of the Society of Abdominal Radiology Prostate Cancer Disease-Focused Panel. *J Urol.* 2020;204(6):1380-1381. doi:10.1097/JU.0000000000001283
 150. Madan RA, Turkbey B, Lepone LM, et al. Changes in multiparametric prostate MRI and immune subsets in patients (Pts) receiving neoadjuvant immunotherapy and androgen deprivation therapy (ADT) prior to radiation. *J Clin Oncol.* 2017;35(6_suppl):30-30. doi:10.1200/JCO.2017.35.6_suppl.30
 151. Vilches R, Orellana S, Roman J AA. Experiencia inicial de prostatectomía radical laparoscópica vs curva establecida de prostatectomía radical abierta de un mismo cirujano. *Rev Chil Urol.* 2021;4(1):68.
 152. Delporte G, Henon F, Ploussard G, et al. Radical prostatectomy for locally advanced and high-risk prostate cancer: A systematic review of the literature. *Prog en Urol.* 2018;28(16):875-889. doi:10.1016/j.purol.2018.08.007
 153. Singla N, Elias R, Ghandour RA, et al. Pathologic response and surgical outcomes in patients undergoing nephrectomy following receipt of immune checkpoint inhibitors for renal cell carcinoma. *Urol Oncol.* 2019;37(12):924-931. doi:10.1016/j.urolonc.2019.08.012
 154. Tang K, Jiang K, Chen H, Chen Z, Xu H, Ye Z. Robotic vs. Retropubic radical prostatectomy in prostate cancer: A systematic review and a meta-analysis update.

Oncotarget. 2017;8(19):32237-32257. www.impactjournals.com/oncotarget/. Accessed July 24, 2021.

155. Stav K, Rahimi-Levene N, Lindner A, Siegel YI, Zisman A. Retropubic radical prostatectomy: Associated blood loss and transfusion requirements - A two-decade perspective review. *Isr Med Assoc J*. 2005;7(2):103-106.
156. Petrelli F, Ghidini M, Ghidini A, et al. Red blood cell transfusions and the survival in patients with cancer undergoing curative surgery : a systematic review and meta - analysis. *Surg Today*. 2021;(0123456789). doi:10.1007/s00595-020-02192-3
157. Vamvakas EC, Blajchman MA. Transfusion-related immunomodulation (TRIM): An update. *Blood Rev*. 2007;21(6):327-348. doi:10.1016/j.blre.2007.07.003
158. Kim JK, Kim S, Park J, et al. Perioperative Blood Transfusion as a Significant Predictor of Biochemical Recurrence and Survival after Radical Prostatectomy in Patients with Prostate Cancer. 2016. doi:10.1371/journal.pone.0154918
159. Boehm K, Beyer · B, Tennstedt · P, et al. No impact of blood transfusion on oncological outcome after radical prostatectomy in patients with prostate cancer. *World J Urol*. 2015;33:801-806. doi:10.1007/s00345-014-1351-0
160. Pignot G, Maillet D, Gross E, et al. Systemic treatments for high-risk localized prostate cancer. *Nat Rev Urol*. 2018. doi:10.1038/s41585-018-0017-x
161. Yang Y, Attwood K, Bshara W, et al. High intratumoral CD8+ T-cell infiltration is associated with improved survival in prostate cancer patients undergoing radical prostatectomy. *Prostate*. 2021;81(1):20-28. doi:10.1002/pros.24068
162. Ma J, Zheng B, Goswami S, et al. PD1Hi CD8+ T cells correlate with exhausted signature and poor clinical outcome in hepatocellular carcinoma. *J Immunother Cancer*. 2019;7(1):1-15. doi:10.1186/s40425-019-0814-7