

Análise imunoistoquímica da expressão dos marcadores ALCAM e ALDH1 em pacientes com adenocarcinoma colorretal e associação com desfechos clinicopatológicos

Immunohistochemical analysis of the expression of ALCAM and ALDH1 markers in patients with colorectal adenocarcinoma and association with clinicopathological outcomes

Cecilia Neves de Vasconcelos¹, Rodrigo K. Krebs¹, Samuel Rabello², Jose Eduardo Ferreira Manso³, Rafael Dib Possiedi⁴, Carmen Australia Paredes Marcondes Ribas^{1,5}

RESUMO

Introdução: O câncer colorretal apresenta alta mortalidade global, requerendo que investigações sejam realizadas para melhor compreender esta enfermidade. Marcadores tumorais têm surgido como sinalizadores de diagnóstico, manejo e prognóstico das neoplasias. Novos marcadores são estudados neste cenário.

Objetivo: Verificar se há correlação da expressão por imunoistoquímica das proteínas ALCAM e ALDH1 em tecido com adenocarcinoma colorretal com as características epidemiológicas, clinicopatológicas, seu impacto na progressão de doença, e no óbito.

Método: Revisão narrativa com base em publicações selecionadas a partir de pesquisa em plataformas virtuais. Inicialmente foi realizada busca por descritores DeCS relativos ao tema, sendo escolhidos: "câncer colorretal, ALCAM e ALDH1" com busca AND ou OR, primeiramente pelo título e resumo e, depois, por leitura na íntegra dos selecionados.

Resultado: Foram incluídos 52 artigos.

Conclusão: A expressão por imunoistoquímica dos marcadores ALCAM e ALDH1 não apresentou associação com a progressão de doença e ao evento óbito, também não foi possível observar relação de correspondência com os marcadores avaliados

PALAVRAS-CHAVE: Câncer colorretal. ALCAM. ALDH1.

ABSTRACT

Introduction: Colorectal cancer has high global mortality, requiring investigations to be carried out to better understand this disease. Tumor markers have emerged as indicators of diagnosis, management and prognosis of neoplasms. New markers are studied in this scenario.

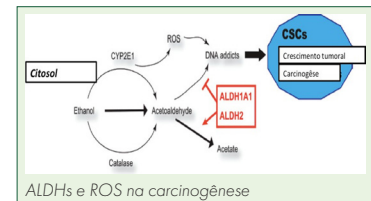
Objective: To verify whether there is a correlation between the immunohistochemical expression of ALCAM and ALDH1 proteins in tissue with colorectal adenocarcinoma with the epidemiological and clinicopathological characteristics, their impact on disease progression, and death.

Method: Narrative review based on publications selected from research on virtual platforms. Initially, a search was carried out for MESH descriptors related to the topic, being chosen: "colorectal cancer, ALCAM and ALDH1" with AND or OR search, first by title and abstract and, then, by reading in full those selected.

Result: 52 articles were included.

Conclusion: The immunohistochemical expression of the ALCAM and ALDH1 markers did not show any association with disease progression and death, nor was it possible to observe a correspondence relationship with the markers evaluated

KEYWORDS: Colorectal cancer. ALCAM. ALDH1.



Mensagem Central

Marcadores tumorais têm surgido como sinalizadores de diagnóstico, manejo e prognóstico das neoplasias. Novos marcadores são estudados neste cenário verificando se há correlação da expressão por imunoistoquímica com a evolução da doença. Assim, revisar o papel das proteínas ALCAM e ALDH1 no adenocarcinoma colorretal nas suas características epidemiológicas, clinicopatológicas, impactante na progressão de doença e no óbito. É pertinente para melhor abalzar o atendimento médico nesse câncer

Perspectiva

Uma das estratégias para compreensão do câncer colorretal está associada aos marcadores tumorais, que são moléculas identificadas em um ou vários tipos de tecidos, capazes de indicar a presença de determinada neoplasia. A existência marcadores tumorais permite diagnóstico mais precoce, bem como, em algumas situações, serve como forma de rastreamento populacional. Atualmente, seu uso não é restrito ao diagnóstico, mas também para estabelecer prognóstico, seguimento, avaliação da resposta terapêutica ou, ainda, a detecção de recidiva. Antígeno carcinoembrionário é o mais usado nesse contexto porém, apesar de a elevação sérica dele sugerir positividade da doença, não é capaz de confirmar o diagnóstico ou a presença de metástase.

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é a terceira causa mais comum de morte por câncer no mundo (mortalidade 8,9%).¹ Os pilares de seu tratamento constituem-se de procedimento cirúrgico, quimioterapia e radioterapia. Embora a cirurgia possa ser potencialmente curativa, menos de 25% dos casos são operáveis com taxas de recorrência de até 70%. Tumores inoperáveis, recidivas ou tumores metastáticos são tratados por quimioterapia paliativa, apesar do prognóstico permanecer reservado.

Determinar a fase de progresso (estadio), a extensão e a gravidade de um tumor no momento do diagnóstico é essencial para que se estabeleça a estratégia do tratamento e para estimar a evolução da doença. As classificações utilizadas para definir esse estágio são: grau de diferenciação celular, estadios clínico e patológico (TNM, Astler-Coller, Dukes), acometimento de linfonodos e presença de metástase à distância.²

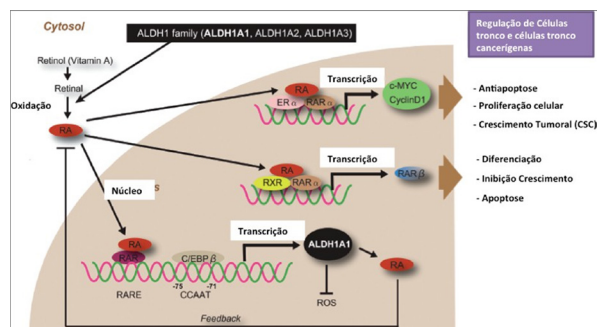
O câncer colorretal restrito à parede do intestino (estágios I e II) é potencialmente curável devido à detecção e tratamento precoces. Apresenta sobrevida em 5 anos entre 70-90%; no entanto, a maioria dos países não possui programa de rastreamento que permita sua detecção precoce.³ Em contraste, a sobrevida média de 5 anos em estágio regional (estágio III) e distante (metastático e estágio IV) é de aproximadamente 50-70% e 10-14%, respectivamente.³ Estas taxas são atribuídas principalmente ao rompimento da parede intestinal pelo tumor e sua disseminação linfática para órgãos à distância, através da corrente sanguínea. A incidência de CCR aumenta após os 50 anos de idade, com 90% dos casos estando dentro desta faixa etária.³

O marcador ALCAM (molécula de adesão do leucócito ativado - Activated leucocyte cell adhesion molecule) - ou CD166, está presente em vários tecidos e possui diversas funções como mediar a adesão celular. É fisiologicamente expressado em leucócitos ativados, células neurais e epiteliais, além de progenitoras hematopoiéticas. Funciona como um ligante do CD6 e pode mediar interações homofílicas (ALCAM-ALCAM).² Ele conserva a adesão celular proteica em processos fisiológicos como intrvasão leucocitária pela barreira hematoencefálica, migração de monócitos através da junção endotelial, angiogênese, formação capilar, proteção contra apoptose em neoplasia de mamas e ativação de Célula T por células tumorais e antígenos apresentados.

Já as aldeidodesidrogenases (ALDHs) fazem um grupo de enzimas compostas por nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato-positivo, que catalisa a oxidação de aldeído endógenos e exógenos tendo como produto, seus correspondentes ácidos carboxílicos. Esta detoxificação pode proteger as células-tronco do estresse oxidativo, além de modular a proliferação celular, atuando na regulação das células-tronco saudáveis, bem como das cancerígenas. Este mecanismo de regulação das células-tronco é realizado por reações bioquímicas intracelulares. Inicia-se com a oxidação do retinol pela família do ALDH 1 e transforma-o em ácido

retinóico (RA), ainda no citoplasma celular. Este participa de 3 vias no metabolismo dentro do núcleo. A primeira, é o RA juntamente com os receptores de estrogênio e do próprio RA, capazes de gerar o c-MYC e ciclina D1. Ambos produtos estimulam a proliferação celular, inibem a apoptose e favorecem o crescimento tumoral celular. A segunda, leva à formação do beta RAR (receptor do RA beta), que estimula mecanismos de proteção celular como apoptose, diferenciação e inibição do crescimento. A terceira, termina com a formação de mais RA, favorecendo a perpetuação desta cadeia.

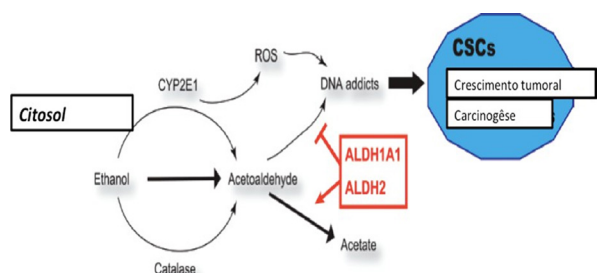
A Figura 1 ilustra a regulação e função do ALDH1 em células-tronco normais e cancerígenas. Vários ALDHs metabolizam RA, regulando assim a autorrenovação, diferenciação e resistência tumoral de células-tronco e células-tronco cancerosas. O retinol absorvido pelas células é oxidado à retinal. O retinal é oxidado para RA pelas enzimas ALDH1, que se liga a dímeros de RARα e RxRs para induzir a expressão de seus genes alvo a jusante, excluindo RARβ. Em células de expressão ERα, RA pode ligar-se aos dímeros de RAR e ERα, bem como induzir a expressão de c-MYC e ciclina D1. RA (ácido retinóico); RAR (receptor do ácido retinóico); RXR (receptores x retinóide); ER (receptor de estrogênio); ROS (espécies reativas de oxigênio)



Fonte: Tomito⁴

FIGURA 1 – Regulação e função da ALDH1

Outro exemplo da ação da família do ALDH1 ocorre no acetaldeído, tendo como produtos: o acetato e o DNA "viciado" - este último relacionado ao crescimento tumoral e à carcinogênese. As ALDHs reduzem ROS e aldeídos reativos, promovendo assim o crescimento do tumor e iniciando a carcinogênese em CSCs. A Figura 2 ilustra as ALDHs e ROS na carcinogênese. ALDHs reduzem ROS e aldeídos reativos, promovendo assim o crescimento do tumor e iniciando a carcinogênese em CSCs, ROS, espécies reativas de oxigênio.



Fonte: Tomito⁴

Dados norte-americanos mostram sobrevida de 5 anos de 88,1% e 12,6%, para os estádios I e IV da doença, respectivamente. Estratégias diagnósticas e terapêuticas são necessárias, o que exige maior compreensão dos mecanismos moleculares do CCR e utilização de biomarcadores com a finalidade de melhorar o prognóstico através da detecção precoce destes tumores.

O objetivo desta revisão foi verificar a correlação da expressão imunoistoquímica das proteínas ALCAM e ALDH1 no adenocarcinoma colorretal com as características epidemiológicas e clinicopatológicas, verificar o seu impacto na progressão de doença e óbito e, ainda, se existe expressão aumentada nos tecidos com adenocarcinoma colônico quando comparados ao tecido sadio que motive o aumento da agressividade tumoral.

MÉTODOS

A revisão bibliográfica foi feita através da leitura e análise a partir de pesquisa em editoras e plataformas virtuais (SciELO, Biblioteca Virtual em Saúde, Google Scholar, Pubmed e Scopus). Iniciou-se pela busca baseada em descritores utilizando-se os seguintes termos: "câncer colorretal, marcadores, ALCAM, ALDH1" e seus equivalentes em inglês "colorectal cancer, biomarkers, ALCAM, ALDH1" com busca AND ou OR, considerando o título e/ou resumo e após a leitura dos textos. Foram incluídos 52 artigos.

DISCUSSÃO

Segundo dados da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer, através do Observatório de Câncer Global, o CCR ocupou o 2º lugar nas causas de morte por câncer no Brasil (2018). Ainda pela mesma fonte, ele é o 4º em número de novos diagnósticos no mundo, com 19,7% de incidência. No Brasil, sua incidência é a de 19,5 novos casos a cada 100.000 habitantes. A prevalência é de 48,2 por 100 mil habitantes e a mortalidade de 8,8%.

Uma das estratégias para compreensão desta enfermidade está associada aos marcadores tumorais, que são moléculas identificadas em 1 ou vários tipos de tecidos, capazes de indicar a presença de determinada neoplasia. A existência de 1 marcador tumoral permite diagnóstico mais precoce, bem como, em algumas situações, serve como forma de rastreamento populacional.⁵ Atualmente, seu uso não é restrito ao diagnóstico, mas também para estabelecer prognóstico, seguimento, avaliação da resposta terapêutica ou, ainda, a detecção de recidiva. Antígeno carcinoembrionário é o mais usado no CCR; porém, apesar de a elevação sérica dele sugerir positividade da doença, não é capaz de confirmar o diagnóstico ou a presença de metástase.

Os marcadores relativos ao presente trabalho foram divididos em 2 tópicos principais. Cada tópico ocupou-se em fazer revisão de estudos que contribuíssem para embasamento do conhecimento, não apenas teórico, mas também, para contrapor com os resultados encontrados.

ALCAM

A molécula de adesão celular do leucócito ativado, conhecida pela sua sigla em inglês ALCAM (activated leukocyte cell adhesion molecule), faz parte de pequeno subgrupo de glicoproteínas transmembrana expressas nas imunoglobulinas. Também conhecida, em sua nomenclatura sistematizada, por CD166, essas proteínas são estruturalmente caracterizadas pela presença de 5 domínios extracelulares, seguidos por 1 porção transmembrana e em seguida 1 pequena porção intracelular.

Por obedecer a padrão específico de distribuição celular e tecidual, os primeiros estudos sobre esse subgrupo (na época representado também por M-CAM e B-CAM) já mostravam fortes evidências da relação entre essas glicoproteínas e o desenvolvimento da arquitetura tecidual, neurogênese, hematopoiese, resposta imune e progressão tumoral.⁶

O gene responsável pela expressão da ALCAM está localizado geneticamente no cromossomo 3, na posição 13 do seu braço longo (3q13).⁷ Essa expressão é concentrada em células proliferativas e hematológicas, mas não é restrita a esses locais.⁸

Em termos funcionais, possui relação direta com a proliferação celular por participar de reações em cadeias, que envolvem desde a organização no citoesqueleto até à adesão propriamente dita entra as células, que pode ocorrer de forma homofílica (ALCAM-ALCAM) ou mesmo heterofílica (interação ALCAM-CD6). O fato de realizar essas 2 formas de adesão mostra menor especificidade no papel dessa molécula, o que permitiria também maior probabilidade de erros nessa cadeia.^{9,10}

Alguns estudos demonstram que a perda de adesão celular homofílica (especialmente por aberrações nas caderinas) está associada tanto com progressão neoplásica quanto ao grau de invasão tecidual pelo tumor.¹¹ Porém, de forma paradoxal, existem evidências da conservação da adesão celular homofílica mediada pela ALCAM em tumores malignos.¹²

As primeiras evidências da correlação entre a ALCAM e câncer foram descritas no fim da década de 1990, mostrando expressão de ALCAM em melanomas mais invasivos e profundos, associados à ausência da expressão em tumores de menor profundidade. Assim, ALCAM pode ser importante marcador para avaliar a progressão do melanoma e, posteriormente, esse conceito foi estendido para outros tipos de cânceres.¹⁰

Outro achado importante, foi a identificação de expressão da ALCAM em lesões precursoras, como displasias, reforçando a relação com invasão tumoral e metástases. Em carcinomas de células escamosas orais, foi identificado a superexpressão da ALCAM já em estágios pré-neoplásicos, sendo mantida durante a progressão da doença. No entanto, a progressão neoplásica mostrou associação com expressão ainda mais significativa e com mudança no padrão de acúmulo da ALCAM, de expressão maior na membrana, para majoritariamente citoplasmática.¹³

Essa mudança de padrão pôde ser percebida em outros tecidos, como no câncer ovariano epitelial, onde a diminuição da expressão da ALCAM na membrana foi

marcador de pior prognóstico.¹⁴

Além dos locais supracitados, é descrito na literatura a associação com outros tipos de cânceres de linhagens diversas. No pancreático, a ALCAM é caracterizada como marcador prognóstico independente para baixa sobrevida e progressão rápida. Em relação aos da bexiga, a associação foi observada apenas com pior prognóstico em tumores de estadiamento avançado, porém fortemente significativa.^{15,16}

Embora a maioria dos estudos utilizem a expressão imunohistoquímica da ALCAM, existem análises genéticas que mostram aumento de RNAm ALCAM tanto em carcinomas de próstata quanto de mama. Em ambos os casos, a expressão da ALCAM também se mostrou inversamente proporcional à agressividade do tumor, ou seja, está expressa nos estágios iniciais e conforme o tumor adquire características invasivas, observa-se redução progressiva.¹⁷

Os mecanismos fisiopatológicos que poderiam explicar essa associação ainda não são totalmente elucidados; porém, algumas teorias são bem estabelecidas. Por ser encontrada especificamente na junção celular de células endoteliais, alguns autores afirmam que a ALCAM tem papel na angiogênese tumoral, podendo inclusive ser alvo de futuros tratamentos. Esse mecanismo mostra que a ALCAM facilita a migração transendotelial de leucócitos ativados, exercendo também controle sobre a diapedese.¹⁸

O primeiro estudo a investigar a associação entre a expressão de ALCAM com câncer colorretal foi de caso-controle utilizando 111 paciente. Nesse estudo, já foi observada a diferença entre a expressão citoplasmática e membranosa da ALCAM. Embora a expressão de ambas as formas tenha se mostrado significativa, apenas a expressão membranosa foi estatisticamente significativa quando comparado com a sobrevida.²

O papel biológico dessas 2 formas de expressão ainda é incerto; porém, Tomita et al.¹⁹ observou a presença da expressão citoplasmática nas linhagens celulares prostáticas que perderam a expressão da α -catenina, concluindo que a expressão membranosa seria condição fisiológica da ALCAM. No entanto, essa afirmação não corrobora com a associação encontrada no câncer colorretal, onde a expressão citoplasmática sim, é encontrada em mucosas normais. Possível explicação para esse fenômeno é que a ALCAM se comporta de forma diferente nos tecidos.^{2,19}

Apesar de outros estudos corroborarem com a hipótese de associação de risco entre ALCAM e CCR, 2 se destacam por encontrar resultados que indicaram associação de proteção em relação à sobrevida. Destacam-se também pelo tamanho da amostra, 1.574 pacientes analisados nos 2 estudos.^{18,20}

A primeira análise sistemática do valor prognóstico do CD166, bem como outros marcadores, foi realizada por Lugli et al.²⁰ com amostra de 1.274 pacientes. Essa análise evidenciou a associação significativa não da expressão aumentada da ALCAM, mas sim da ausência deste marcador com doença mais avançada tanto clínica quanto histologicamente. Observou-se também possível viés de confusão de outros estudos, pois ao realizar

análise univariada, verificou-se correlação significativa entre a perda da expressão membranosa do CD166 e a sobrevida global; porém, na análise multivariada não existiu essa associação. Estes resultados indicam que o impacto desse marcador pode ser secundário à associação com outros critérios prognósticos.

Outro estudo significativo, com amostra de 300 pacientes com câncer colorretal primário, também mostrou a predominância da expressão membranosa do CD166. Além disso, foi encontrada correlação significativa entre a redução de sua expressão em metástases, ao serem comparados com tumores primários. No entanto, a positividade da ALCAM não teve correspondência significativa com o aparecimento de metástases à distância ou comprometimento linfonodal.¹⁸

Conforme citado anteriormente, é importante destacar que os componentes clínicos analisados exercem grande influência sobre os resultados, especialmente em análises univariadas. Estudos mostram que não existe correlação significativa diretamente entre a expressão da ALCAM (tanto a superexpressão quanto ausência) e dados clinicoepidemiológicos, como idade, gênero e estadiamento. Porém, nota-se relação inversamente proporcional em relação ao estadiamento citológico, ou seja, quando maior a expressão de ALCAM, menor é o grau em relação à diferenciação celular (em escala que 1 representa células bem diferenciadas e, conforme aumenta, o nível de diferenciação diminui).^{18,21}

Em relação à sobrevida global, em concordância com a análise univariada realizada por Lugli et al.²⁰, pôde-se observar em outros estudos diminuição significativa da sobrevida em pacientes com ausência da expressão da ALCAM.^{18,20,22}

Após diversos estudos mostrando resultados controversos em relação à utilidade da ALCAM para prognóstico no câncer colorretal, a única metanálise até hoje publicada indica que a alta expressão de CD166 está ligada com pior prognóstico, sendo fator preditivo de sobrevida nessa doença. Vale ressaltar 2 pontos nesse estudo; o primeiro, de que foi utilizado análise multivariada no estudo de Lugli et al.²⁰ ao invés de univariada (está sendo significativamente negativa, com a outra não tendo significância) bem como o fator de correção do peso dos trabalhos analisados, que equiparou, com diferença de 0,5 pontos percentuais, amostra de 1.274 contra 110 pacientes.^{20,21,22}

Um dos vieses citados por Zhang et al.²² em relação aos estudos anteriores é a heterogeneidade dos métodos de pesquisa da expressão de CD166. Conforme já citado podem existir diferenças em relação ao papel dessas formas distintas na gênese tumoral. Em metanálise percebe-se resultados diferentes onde a expressão membranosa estava associada com pior prognóstico e, em outros, os significados não foram significativos. Os estudos que analisaram tanto a expressão membranosa quanto a citoplasmática refletiram em pior prognóstico.^{2,21,23}

Logo, em relação à associação entre ALCAM e prognóstico no câncer colorretal ainda não é hipótese aceita totalmente, e com estudos contraditórios. Embora a única metanálise sobre o tema mostre associação

significativa, é importante destacar que havia limitações e o valor encontrado estava mais próximo de associação fraca do que forte.²²

É importante que novos estudos possam esclarecer o papel do CD166 no câncer colorretal para que se abram novos caminhos diagnósticos e terapêuticos. O estudo da detecção da ALCAM por meio de exames de imagem já é estudado há aproximadamente uma década, quando Schliemann et al. mostrou que a detecção da ALCAM é um alvo acessível para ser utilizado em exames de imunoPET-scan. Outros estudos também mostraram que é possível identificar por imagens a expressão da ALCAM, especialmente por meio do isolamento de novos sítios específicos de conjugação.^{24,25}

ALDH

ALDH, sigla para *aldehyde dehidrogenase*, representa grupo de enzimas dependentes da nicotinamida-adenina dinucleotídeo fosfato (NAD[P]⁺) responsáveis por catalisar reações de oxidação de aldeídos em geral, substância bastante presente no ambiente e também produzida por alguns processos metabólicos endógenos.⁴ Os aldeídos endógenos são aqueles gerados pelo metabolismo de aminoácidos, álcool, lipídeos e vitaminas. Já os exógenos estão presentes em vários produtos. Alguns são responsáveis pelos sabores e odores em alimentos, e outros produtos de combustão, presentes em fumaça de cigarro e resíduo de combustão automotivo. Além desses sítios, 1 das fontes mais importantes é através do metabolismo de drogas citotóxicas e agentes xenobióticos.

Em todo o universo gênico, mais de 160 DNAs complementares foram isolados e sequenciados, sendo representada nos 3 domínios taxonômicos, o que sugere papel vital no decorrer da história evolutiva. No genoma humano, estudos demonstraram a existência de 19 genes supostamente funcionais e muitos pseudogenes.²⁶ Essas isoenzimas, resultantes da expressão desses genes funcionais, são classificadas de acordo com o substrato, a distribuição intracelular, sua distribuição em órgãos e tecidos e, ainda, sua localização cromossomal. Com isso, a nomenclatura de cada isoenzima depende da combinação de todos esses fatores.⁴

Além de sua função citoprotetora através da eliminação de aldeídos circulantes, o metabolismo de aldeídos traz outra função biológica vital: a síntese de biomoléculas derivadas de aldeídos, como o RA e o folato por exemplo.²⁷ Existem evidências sólidas que mostram papel importante da ALDH na modulação da proliferação, diferenciação e longevidade celular, especialmente ligado à sua função do RA. Algumas isoenzimas ainda apresentam funções que são aparentemente independentes da sua ação enzimática, como absorção de irradiação ultravioleta na córnea e também como proteína de ligação para hormônios e outras moléculas menores.²⁸

Sua ação nos diferentes tecidos foi mais fortalecida com o sequenciamento do genoma humano e identificação de mutações nos genes de ALDH que levam à perda de sua atividade enzimática. Essas mutações foram associadas à várias doenças, como catarata

(ALDH1A1), epilepsia (ALDH7A1), doenças cardíacas (ALDH2), hipersensibilidade ao álcool (ALDH1A1) e outras anormalidades metabólicas.²⁸

ALDH1, subgrupo encontrado primariamente no citoplasma celular de vários tecidos, é formado principalmente pelas isoenzimas ALDH1A1, ALDH1A2, ALDH1A3, que possuem o retinal como principal substrato e o ALDH1B1, que diferentemente das outras, é mais distribuído na mitocôndria e tem como seu substrato mais prevalente o acetaldeído.⁴ De acordo com a nomenclatura original, a família da ALDH era dividida em 3 classes: classe 1, formas encontradas no citoplasma; classe 2, formas mitocondriais; e classe 3, a forma tumoral.²⁹ Porém com o avanço da tecnologia genética e consequente descobrimento de mais isoformas, em 1999 foi adotada classificação em famílias e subfamílias baseadas na semelhança do sequenciamento de aminoácidos, atualizada a cada 2 anos.³⁰ Essa classificação utiliza os pontos de corte de Dayhoff, que proteínas compartilhando $\geq 40\%$ de seu sequenciamento são unidas em família específica, identificada por numeral arábico, enquanto aquelas que compartilham $\geq 60\%$, classificadas na mesma subfamília, identificada por 1 letra.³¹

A família ALDH1 tem sua função relacionada com a síntese de RA e sua subfamília de maior prevalência é a ALDH1A (especialmente ALDH1A1), sendo encontrado em praticamente todas as espécies, enquanto a ALDH1B está presente nos mamíferos, porém não é encontrada em aves e peixes.²⁶ Embora mais recentemente exista tendência ao estudo individualizado de cada subfamília, a associação do ALDH com cânceres engloba toda a família ALDH1.^{4,32}

A relação do ALDH com a carcinogênese é estudada desde o início da década de 90; porém, os mecanismos específicos dos efeitos sobre as células-tronco cancerígenas e normais ainda não foram completamente elucidados. No entanto, existe grande probabilidade dessa ligação estar relacionada com o metabolismo de retinal, que atua ativamente na regulação de células-tronco normais e também cancerosas.⁴

Esse mecanismo de ação passa pelo conceito de células-tronco cancerígenas, onde células com potencial pluripotente, sofrem algum processo em sua autorregulação e iniciam proliferação.³³ A atuação da via sinalizadora retinóide nesse sistema de regulação é explicada pelo metabolismo do retinal, sendo oxidado em RA (em reação catalisada pelo ALDH) e, ao ligar-se aos receptores intracelulares, estimula efeito cascata que pode atuar em 2 vias de transcrição, dependendo se a célula é normal ou cancerígena. Se for normal, faz a transcrição do gene do receptor de RA beta, levando à diferenciação celular, inibição de crescimento e apoptose. Já nas células-tronco cancerígenas, o RA atua na transcrição dos genes c-MYC e ciclinaD1, estimulando a antiapoptose, proliferação celular e crescimento tumoral. Além disso, por mecanismo de feedback, aumento nos níveis de ALDH1 pode resultar no aumento da síntese endógena de RA.⁴

A relação da ALDH com o CCR vem sendo estudada desde o final da primeira década do milênio, sendo

que o foco principal era em evidências que sugeriram que o conceito de células-tronco cancerígenas poderia ser aplicado ao câncer colorretal.³⁴ Após esse conceito ser estabelecido, foram iniciadas pesquisas com os marcadores CD133 e CD44, porém os resultados não foram controversos em relação à especificidade para células-tronco de cólon. Por exemplo, existem estudos que mostram resultados onde células-tronco CD133+ desenvolveram tumor em cobaias; porém, 1 ano depois, outro estudo apresentou resultados onde tanto as subpopulações de células CD133+ quanto CD133- desenvolveram também esse tumor.^{35,36} ALDH já tinha apresentado indícios de ser importante marcador para a identificação e quantificação de células-tronco em tecidos hematopoiéticos e também em câncer de mama, derivando a necessidade de se buscar marcador mais específico para o tumor colorretal.^{37,38}

Na primeira publicação sobre a correlação entre ALDH1 e o câncer de cólon, publicada por Huang et al.³⁹ em 2009, foi realizada a comparação direta da expressão de ALDH1A1 com os até então principais marcadores, CD133 e CD44, em células normais do cólon. Foram comparadas amostras de tecido supostamente normal, tecido aparentemente normal em pacientes com polipose adenomatosa familiar (PAF), tecidos com diagnóstico de adenoma e também de adenocarcinomas. Além disso, o estudo realizou implantação de tecido tumoral em cobaias, para avaliar as características oncogênicas. Notou-se que a ALDH1A1 identificava células com características de células-tronco, indicando que é marcador mais seletivo para células diferenciadas e também mais específico que CD44 ou CD133. Foi identificado também que nos casos onde existia positividade para ALDH em conjunto com CD44 ou CD133 positivos, houve tendência à geração mais acelerada de tumores em cobaias. Outro achado importante foi que a quantificação da positividade para ALDH1 na imunistoquímica pode indicar a presença de células-tronco, que por sua vez, são associadas à gênese tumoral.^{39,40} No mesmo ano, a mesma equipe publicou um outro estudo associando a presença do ALDH com a progressão maligna de colite para carcinoma.⁴¹

Embora a maioria dos estudos tratem a família ALDH1 de forma generalizada ou utilizando a ALDH1A1 como representante, existem também linhas de pesquisa com as subfamílias específicas, das quais a ALDH1B1 tem mostrado especificidade para o câncer de colon.^{32,42} Em adenocarcinomas de cólon, houve resultado positivo na imunistoquímica para ALDH1B1 em 97,5% dos casos, bem acima dos 36,6% encontrados para ALDH1A1 na mesma amostra. Além disso, a intensidade da coloração foi significativamente maior na análise das amostras testadas para ALDH1B1. Em relação à expressão da ALDH1B1 no tecido normal de cólon, foi identificado sua presença apenas em pequenas áreas indiferenciadas, próximo às criptas, ou seja, uma área restrita, bem diferente do resultado encontrado em tecidos neoplásicos, onde está presente em toda a área.³²

Após o estabelecimento do ALDH como importante e potencial marcador para o CCR, foram realizados estudos imunistoquímicos em diversas regiões do

mundo.^{43,44} Um dos mais recentes foi realizado no Egito em 2017 que mostrou não significância estatística entre a expressão do ALDH1 (classificada em alta se acima de 20% de positividade para ALDH1 e baixa, se menor) com as amostras de adenoma; porém, ao analisar a expressão do ALDH1 nas amostras de carcinoma, observou-se positividade de 76%, dos quais aproximadamente 70% apresentavam alta expressão. Além disso, observou-se que apenas 6% apresentaram expressão no estroma, o que mostra indícios da presença da subfamília B1.⁴⁵ O mesmo resultado foi observado por Hou et al.⁴⁴ que encontraram expressão positiva do ALDH1 de 76,5% nos tecidos cancerígenos e de 13,3% no cólon normal mostrando diferença estatística entre os 2 grupos. Além disso, a expressão do ALDH1 foi significativamente correlacionada com grau histológico, TNM e metástase linfonodal.⁴⁴ Resultados semelhantes em relação à metástase linfonodal foram encontrados, 32,45 enquanto que em outros não.^{46,47}

Um dos fatores de maior controvérsia é a relação entre a expressão do ALDH com o prognóstico. Em 2015, foi publicada por Chen et al.⁴⁸ revisão sistemática e metanálise que, após a exclusão de 116 publicações por diversas razões, analisou 9 estudos, todos com análise imunistoquímica. Os indicativos prognósticos analisados foram: sobrevida global, sobrevida livre de doença, estadio T, estadio N e diferenciação tumoral. Os resultados mostraram que o ALDH1 é importante preditor de pior desfecho em relação à sobrevida global e tempo livre de doença, bem como é correlacionado com o estadio T e N (tamanho tumoral e invasão linfonodal) e também o grau de diferenciação. Além disso, foi descrita diferença entre populações ocidentais e orientais, relacionando a alta expressão do ALDH1 com pior sobrevida global em regiões orientais e pior sobrevida livre de doença em países ocidentais.⁴⁸ Porém, além dos vieses inerentes ao pequeno tempo de seguimento de doença, visto que o ALDH1 era marcador relativamente recente à época, e também à pequena quantidade de estudos analisados, foi possível observar indicativos de erros na metanálise, como por exemplo a atribuição de 1 estudo realizado na Finlândia, ao Brasil.

Estudos publicados posteriormente revelaram que a associação da expressão do ALDH com o prognóstico deve levar em conta as características específicas dessa expressão, pois a análise generalizada pode conduzir a equívocos e controvérsias.^{43,45} No estudo publicado por Holah et al.⁴⁵, observa-se que a expressão epitelial está associada a pior prognóstico, enquanto a estromal, pelo contrário, associa-se tanto ao bom prognóstico quanto ao tamanho menor do tumor. Essa dissociação, por sua vez, pode ter sua explicação baseada na diferença de expressão entre as subfamílias do ALDH1, como visto anteriormente, nas diferenças entre ALDH1A1 e B1.^{32,45}

Além dos efeitos estimulantes à gênese tumoral, diversos estudos mostraram também mecanismo de resistência a quimioterápicos, mediado pela ALDH.^{4,49} Esse mecanismo tem sua principal hipótese baseada na função metabólica da ALDH, envolvendo o metabolismo do álcool e também de drogas quimioterápicas convencionais, como oxazafosforina, ciclofosfamida

e procarbazina. Atualmente, estão disponíveis aproximadamente 14 diferentes inibidores da ALDH, porém conseguem cobrir apenas 3 das 19 isoenzimas ALDH.⁵⁰ Ainda assim, observam-se resultados positivos. Em estudo realizado com inibição *in vitro* de ALDH em linhagens celulares de carcinomas colorretais utilizando dietilaminobenzaldeído (DEAB) e também com inibição molecular com siRNA (short interference RNA), os resultados mostraram que a inibição pelo DEAB sensibilizou parcialmente a quimioterápicos comuns e a inibição por siRNA levou à sensibilização de algumas linhagens celulares tanto a capecitabina quanto a 5-FU.⁴⁹

Atualmente, as linhas de pesquisa em relação ao ALDH e CCR estão direcionadas ao estudo dos mecanismos relacionados ao RA para melhor entendimento da relação entre a gênese tumoral e a ALDH, às relações do ALDH com o prognóstico, para um melhor aproveitamento desse importante marcador e também ao desenvolvimento de drogas específicas para a inibição da atividade da ALDH.^{51,52}

Perspectivas futuras

Embora os estudos iniciais tenham apontado ALCAM e ALDH1 como potenciais marcadores prognósticos no CCR, ainda existem diversos pontos conflitantes entre os estudos. Estes pontos são: 1) ao se estudar o evento progressão da doença de forma isolada, os casos de metástase pulmonar e os que não foram tratados cirurgicamente apresentaram pior desfecho; 2) com relação ao evento óbito, avaliado de forma também isolada, notam-se desfechos em pacientes com tumores primários de reto, estadió clínico avançado (caracterizado por doença linfonodal e metastática presentes) margens cirúrgicas comprometidas, presença de metástase hepática e tumores com grau histológico pouco diferenciados, todos fatores que contribuem para piores desfechos independentes da positividade dos marcadores analisados; 3) na análise multivariada entre os fatores metástase pulmonar, estadió clínico e marcador ALCAM observou-se significância estatística na presença de metástase pulmonar, o que não ocorreu com ALDH1 e futuro estudo poderá esclarecer este achado. Para a minimização desses pontos é necessário fazer o máximo refinamento na pesquisa dessas substâncias, de forma quantitativa e qualitativa, para que os resultados possam ser conclusivos.^{53,54}

CONCLUSÃO

A expressão por imunistoquímica dos marcadores ALCAM e ALDH1 não apresentou associação com as características epidemiológicas e clinicopatológicas avaliadas. Em relação à progressão de doença e ao evento óbito, também não foi possível observar relação de correspondência com os marcadores avaliados.

Afilição dos autores:

¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;

²Departamento de Medicina, Centro Universitário de Várzea Grande - UNIVAG, Cuiabá, MT, Brasil;

³Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil;

⁴Ross Tilley Burn Centre, Sunnybrook Hospital, University of Toronto, Ontario, Canada;

⁵Colégio Brasileiro de Cirurgia Digestiva, São Paulo, SP, Brasil;

Correspondência:

Cecilia Neves de Vasconcelos
Email: cvasconcelos.krebs@gmail.com

Conflito de interesse: Nenhum

Financiamento: Em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001

Como citar:

de Vasconcelos CN, Krebs RK, Rabello S, Manso JEF, Possiedi RD, Ribas CAPM. Análise imunistoquímica da expressão dos marcadores *alcam* e *aldh1* em pacientes com adenocarcinoma colorretal e associação com desfechos clinicopatológicos. *BioSCIENCE*. 2024;82:e028

Contribuição dos autores

Conceituação: Cecilia Neves de Vasconcelos

Investigação: Carmen Paredes Ribas

Metodologia: Rodrigo K. Krebs

Redação [esboço original]: Todos os autores

Redação [revisão e edição]: Todos os autores

Recebido em: 19/01/2024

Aceito em: 15/05/2024

REFERÊNCIAS

1. GLOBOCAN. Cancer Today Globocan. Disponível em: www.gco.iarc.fr. Acesso em 15 de agosto de 2020.
2. Weichert W, Beier D, Russo L, Dietel M, Kristiansen G. ALCAM/CD166 is overexpressed in colorectal carcinoma and correlates with shortened patient survival. *J Clin Pathol*. 2004;57(11):1160-4. Doi: 10.1136/jcp.2004.016238
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(3):177-93. Doi: 10.3322/caac.21395
4. Tomita H, Tanaka T, Tanaka T, Hara A. Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer. *Oncotarget*. 2016;7(10). Doi: 10.18632/oncotarget.6920
5. Cardella J, Spithoff K, Braz S, Maier BA, Greco E, Last L, et al. Compliance, attitudes and barriers to post-operative colorectal cancer follow-up. *J Eval Clin Pract*. 2008;14(3):407-15. Doi: 10.1111/j.1365-2753.2007.00880.x
6. Parsons SF, Lee G, Spring FA, Houlihan JM, Simpson KL, Mawby WJ, et al. The Lutheran blood group glycoprotein, another member of the immunoglobulin superfamily, is widely expressed in human tissues and is developmentally regulated in human liver. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(12):5496-500. Doi: 10.1073/pnas.92.12.5496
7. Zhang WW, Li L, Li D, Sun X, Erkan M, Kleeff J, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule regulates the interaction between pancreatic cancer cells and stellate cells. *Mol Med Rep*. 2016;14(4):3627-33. Doi: 10.3892/mmr.2016.5681
8. Hansen A, Swart G, Zijlstra A. ALCAM. *AfCS-Nature Molecule Pages*. 2011;2011. Doi:10.1038/mp.a004126.01
9. Swart G. Activated leukocyte cell adhesion molecule (CD166/ALCAM): Developmental and mechanistic aspects of cell clustering and cell migration. *Eur J Cell Biol*. 2002;81(6):313-21. Doi: 10.1078/0171-9335-00256
10. Van Kempen LC, Nelissen JM, Degen WG, Torensma R, Weidle UH, Bloemers HP, et al. Molecular basis for the homophilic activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM)-ALCAM interaction. *J Biol Chem*. 2001;276(28):25783-90. Doi: 10.1074/jbc.M011272200
11. Lauwaert T, Oliveira MJ, Callewaert B, Leroy A. Molecular mechanisms of invasion by cancer cells, leukocytes and microorganisms. *Microbes Infect*. 2000;2(8):923-31. Doi: 10.1016/s1286-4579(00)00394-4
12. Ofori-Acquah SF, King JA. Activated leukocyte cell adhesion molecule: a new paradox in cancer. *Transl Res*. 2008;151(3):122-8. Doi: 10.1016/j.trsl.2007.09.006
13. Sawhney M, Rohatgi N, Kaur J, Kaur J, Datta Gupta S, Shukla NK, et al. Cytoplasmic accumulation of activated leukocyte cell adhesion molecule is a predictor of disease progression and reduced survival in oral cancer patients. *Int J Cancer*. 2009;124(9):2098-105. Doi: 10.1002/ijc.24192
14. Mezzanzanica D, Balladore E, Turatti F, Staurengo S, Losa M, Balladore E, et al. Subcellular localization of activated leukocyte cell adhesion molecule is a molecular predictor of survival in ovarian carcinoma patients. *Clin Cancer Res*. 2008;14(6):1726-33. Doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0428

15. Kahlert C, Pecqueux M, Halama N, Bergmann F, Schirmacher P, Kenngott HG, et al. Increased expression of ALCAM/CD166 in pancreatic cancer is an independent prognostic marker for poor survival and early tumour relapse. *Br J Cancer*. 2009;101(3):457-64. Doi:10.1038/sj.bjc.6605136
16. Tomita K, van Bokhoven A, van Leenders GJ, Kiemeny LA, Karthaus HFM, Vriesema J, et al. Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule (ALCAM) Expression is Associated with a Poor Prognosis for Bladder Cancer Patients. *UroOncology*. 2003;3(3-4):121-9. Doi:10.1080/15610950310001632322
17. King JA, Ofori-Acquah SF, Stevens T, Al-Mehdi AB, Fodstad O, Jiang WG, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule in breast cancer: prognostic indicator. *Breast Cancer Res*. 2004;6(5):R478-87. Doi:10.1186/bcr815
18. Tachezy M, Zander H, Wolters-Eisfeld G, Marx A, Kaifi JT, Izbicki JR, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule (CD166)--its prognostic power for colorectal cancer patients. *J Surg Res*. 2012;177(1):e15-20. Doi:10.1016/j.jss.2012.02.013
19. Tomita K, van Bokhoven A, Jansen CF, Bussemakers MJ, Schalken JÁ, et al. Coordinate recruitment of E-cadherin and ALCAM to cell-cell contacts by alpha-catenin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;267(3):870-4. Doi:10.1006/bbrc.1999.2040
20. Lugli A, lezzi G, Hostettler I, Muraro MG, Mele V, Tornillo L, et al. Prognostic impact of the expression of putative cancer stem cell markers CD133, CD166, CD44s, EpCAM, and ALDH1 in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2010;103(3):382-90. Doi:10.1038/sj.bjc.6605762
21. Horst D, Kriegel I, Engel J, Kirchner T, Jung A. Prognostic Significance of the Cancer Stem Cell Markers CD133, CD44, and CD166 in Colorectal Cancer. *Cancer Invest*. 2009;27(8):844-50. Doi:10.1080/07357900902744502
22. Zhang Y, Wang Z, Yu J, Ren J, Guan Y. Meta-analysis indicating that high ALCAM expression predicts poor prognosis in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017;8(29):48272-81. Doi:10.18632/oncotarget.17707
23. Burkhardt M, Mayordomo E, Winzer KJ, Fritzsche F, Gansukh T, Pahl S, et al. Cytoplasmic overexpression of ALCAM is prognostic of disease progression in breast cancer. *J Clin Pathol*. 2006;59(4):403-9. Doi:10.1136/jcp.2005.028209
24. McCabe KE, Wu AM, Tomlinson JS, Wu W, Wu AM. An engineered cysteine-modified diabody for imaging activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM)-positive tumors. *Mol Imaging Biol*. 2012;14(3):336-47. Doi:10.1007/s11307-011-0500-8
25. Wiiger MT, Gehrken HB, Fodstad Ø, Maelandsmo GM, Andersson Y. A novel human recombinant single-chain antibody targeting CD166/ALCAM inhibits cancer cell invasion in vitro and in vivo tumour growth. *Cancer Immunol Immunother*. 2010;59(11):1665-74. Doi:10.1007/s00262-010-0892-3
26. Jackson B, Black W, Janowska E, Black W, Vasiliou K, Nebert DW, et al. Update on the aldehyde dehydrogenase gene (ALDH) superfamily. *Hum Genomics*. 2011;5(4):283-303. Doi:10.1186/1479-7364-5-4-283
27. Sobreira TJP, Marlétaz F, Simões-Costa M, Schechtman D, Pereira AC, Brunet F, et al. Structural shifts of aldehyde dehydrogenase enzymes were instrumental for the early evolution of retinoid-dependent axial patterning in metazoans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(1):226-31. Doi:10.1073/pnas.101122310
28. Marchitti SA, Brocker C, Stagos D, Vasiliou V. Non-P450 aldehyde oxidizing enzymes: the aldehyde dehydrogenase superfamily. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008;4(6):697-720. Doi:10.1517/17425255.4.6.697
29. Lindahl R. Aldehyde Dehydrogenases and Their Role in Carcinogenesis. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1992;27(4-5):283-335. Doi:10.3109/10409239209082565
30. Vasiliou V, Nebert DW. Analysis and update of the human aldehyde dehydrogenase (ALDH) gene family. *Hum Genomics*. 2005;2(2):138-43. Doi:10.1186/1479-7364-2-2-138
31. Nebert DW, Wain HM. Update on human genome completion and annotations: gene nomenclature. *Hum Genomics*. 2003;1(1):66-71. Doi:10.1186/1479-7364-1-1-66
32. Chen Y, Orlicky DJ, Matsumoto A, Singh S, Thompson DC, Vasiliou V. Aldehyde dehydrogenase 1B1 (ALDH1B1) is a potential biomarker for human colon cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;405(2):173-9. Doi:10.1016/j.bbrc.2011.01.002
33. Baccelli I, Trumpp A. The evolving concept of cancer and metastasis stem cells. *J Cell Biol*. 2012;198(3):281-93. Doi:10.1083/jcb.201202014
34. Boman BM, Huang E. Human colon cancer stem cells: a new paradigm in gastrointestinal oncology. *J Clin Oncol*. 2008;26(17):2828-38. Doi:10.1200/JCO.2008.17.6941
35. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature*. 2007;445(7123):106-10. Doi:10.1038/nature05372
36. Shmelkov SV, Butler JM, Hooper AT, Hormigo A, Kushner J, Milde J, et al. CD133 expression is not restricted to stem cells, and both CD133+ and CD133- metastatic colon cancer cells initiate tumors. *J Clin Invest*. 2008;118(6):2111-20. Doi:10.1172/JCI34401
37. Armstrong L, Stojkovic M, Dimmick I, Ahmad S, Stojkovic P, Hole N, et al. Phenotypic characterization of murine primitive hematopoietic progenitor cells isolated on basis of aldehyde dehydrogenase activity. *Stem Cells*. 2004;22(7):1142-51. Doi:10.1634/stemcells.2004-0170
38. Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, Monville F, Dutcher J, Brown M, et al. ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome. *Cell Stem Cell*. 2007;1(5):55-67. Doi:10.1016/j.stem.2007.08.014
39. Huang EH, Hynes MJ, Zhang T, Ginestier C, Dontu G, Appelman H, et al. Aldehyde Dehydrogenase 1 Is a Marker for Normal and Malignant Human Colonic Stem Cells (SC) and Tracks SC Overpopulation during Colon Tumorigenesis. *Cancer Res*. 2009;69(8):3382-9. Doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-4418
40. Sanders MA, Majumdar APN. Colon cancer stem cells: implications in carcinogenesis. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2011;16:1651-62. Doi:10.2741/3811
41. Carpentino JE, Hynes MJ, Appelman HD, Zheng T, Steindler DA, Scott EW, et al. Aldehyde dehydrogenase-expressing colon stem cells contribute to tumorigenesis in the transition from colitis to cancer. *Cancer Res*. 2009;69(20):8208-15. Doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-1132
42. Vassalli G. Aldehyde Dehydrogenases: Not Just Markers, but Functional Regulators of Stem Cells. *Stem Cells Int*. 2019;2019:3904645. Doi:10.1155/2019/3904645
43. Fitzgerald TL, McCubrey JA, Biswas T, Starr S, Sigounas G. The impact of Aldehyde dehydrogenase 1 expression on prognosis for metastatic colon cancer. *J Surg Res*. 2014;192(1):82-9. Doi:10.1016/j.jss.2014.05.054
44. Hou Y, Liu YY, Zhao XK. Expression of aldehyde dehydrogenase 1 in colon cancer. *Asian Pac J Trop Med*. 2013;6(7):574-7. Doi:10.1016/S1995-7645(13)60099-1
45. Holah NS, Aiad HA, Asaad NY, Elkhoully EA, Lasheen AG. Evaluation of the Role of ALDH1 as Cancer Stem Cell Marker in Colorectal Carcinoma: An Immunohistochemical Study. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(1):EC17-EC23. Doi:10.7860/JCDR/2017/22671.9291
46. Hessman CJ, Bubbers EJ, Billingsley KG, Herzig DO, Wong MH. Loss of expression of the cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase 1 correlates with advanced-stage colorectal cancer. *Am J Surg*. 2012;203(5):649-53. Doi:10.1016/j.amjsurg.2012.01.003
47. Zhou F, Mu YD, Liang J, Liu ZX, Chen HS, Zhang JF. Expression and prognostic value of tumor stem cell markers ALDH1 and CD133 in colorectal carcinoma. *Oncol Lett*. 2014;7(2):507-12. Doi:10.3892/ol.2013.1723
48. Chen J, Li Y, Yu TS, Chang W, Yuan W, Ma Z, et al. Prognostic Value of Cancer Stem Cell Marker ALDH1 Expression in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(12):e0145164. Doi:10.1371/journal.pone.0145164
49. Kozovska Z, Gabrisova V, Kucerova L, Durinikova E, Demkova L, Jargasova S, et al. ALDH1A inhibition sensitizes colon cancer cells to chemotherapy. *BMC Cancer*. 2018;18(1):656. Doi:10.1186/s12885-018-4572-6
50. Koppaka V, Thompson DC, Chen Y, Ellermann M, Nicolaou KC, Juvonen RO, et al. Aldehyde dehydrogenase inhibitors: a comprehensive review of the pharmacology, mechanism of action, substrate specificity, and clinical application. *Pharmacol Rev*. 2012;64(3):520-39. Doi:10.1124/pr.111.005538
51. Chang PM-H, Chen PM, Hsiao M, Lu HJ, Liu T, Chen MH, et al. Transcriptome analysis and prognosis of ALDH isoforms in human cancer. *Sci Rep*. 2018;8(1):2713. Doi:10.1038/s41598-018-21123-4
52. Modarai SR, Gupta A, Opendaker LM, Kowash R, Masters G, Viswanathan V, et al. The anti-cancer effect of retinoic acid signaling in CRC occurs via decreased growth of ALDH+ colon cancer stem cells and increased differentiation of stem cells. *Oncotarget*. 2018;9(78):34658-69. Doi:10.18632/oncotarget.26157
53. Monteiro JM, Isolan GR, Barbosa B, Brito JNP de O, de Araujo RL, Almeida T. É possível prever a mortalidade molecular em meduloblastomas pela análise dos receptores de membrana CD114? *BioSCIENCE*. 2023;81(2):88-96. Doi:10.55684/81.2.17
54. Coelho JCU, de Freitas ACT, da Cunha FB, Kishi NM. Neoplasia cística mucinosa do pâncreas. *BioSCIENCE*. 2023;81(2):97-100. Doi:10.55684/81.2.18