

Presença dos biomarcadores c-MET e ABCB5 no adenocarcinoma de próstata e sua associação com fatores prognósticos

Presence of biomarkers c-MET and ABCB5 in prostate adenocarcinoma and their correlation with prognostic factors

João Otavio Ribas Zahdi¹, Cassio Zini¹, Fernanda Marcondes Ribas¹, Rafael Dib Possiedi², Manoel Lages Neto³, Alexsandro Batista da Costa Carmo⁴, Carmen Austrália Paredes Marcondes Ribas¹

RESUMO

Introdução: O adenocarcinoma de próstata é uma das mais prevalentes neoplasias malignas em todo o mundo. Apesar de frequentemente ter evolução lenta, ainda representa importante causa de morte em oncologia. Uma vez que seus resultados clínicos são muito heterogêneos há necessidade de se identificar marcadores de prognóstico. Biomarcadores são ferramentas e tecnologias que podem auxiliar nessa compreensão.

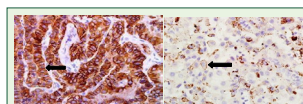
Objetivo: Avaliar a presença do c-MET e ABCB5 no adenocarcinoma da próstata e analisar se as suas expressões apresentam correlação com fatores prognósticos.

Método: Foram selecionados 170 casos através de busca ativa em prontuário eletrônico e revisão dos prontuários físicos e de laudos anatomopatológicos. Foi realizada imunohistoquímica para os biomarcadores c-MET e ABCB5 em todas as amostras. Dados clínicos retrospectivos foram coletados e plotados em tabelas. Através de TMA (tissue microarray) os tecidos foram submetidos à imunohistoquímica pela técnica de peroxidase. As informações clinicoepidemiológicas foram cruzadas com o resultado obtido pela imunomarcção e sua análise estatística.

Resultado: Foram incluídos neste estudo 47 homens com média de idade de 61,6±6,9 (48-75), com PSA médio de 11±9,7 (2,4-60,5). Dos incluídos, 70,2 tiveram escore de Gleason 5 ou 6 e 29, 1%, 7 ou 8. Em relação à classificação dos tumores, 6 casos tinham estadiamento T3a e 2 T3b. Nenhum apresentou tumor superior a T3b e houve 1 caso de metástase. Com relação aos biomarcadores, houve marcação positiva de c-MET em 32 casos e de ABCB5 em 5. A marcação positiva não teve associação estatisticamente significativa com nenhum dos fatores prognósticos avaliados.

Conclusão: Houve expressão do c-MET e ABCB5 nos casos de câncer de próstata, mas sem associação deles com fatores prognósticos.

PALAVRAS-CHAVE: Biomarcador. c-MET. ABCB5. Câncer de próstata. Imunohistoquímica.



A) c-MET; B) ABCB5

Mensagem Central

O adenocarcinoma de próstata é uma das mais prevalentes neoplasias malignas em todo o mundo. Apesar de frequentemente ter evolução lenta, ainda representa importante causa de morte em oncologia. Uma vez que seus resultados clínicos são muito heterogêneos há necessidade de se identificar marcadores de prognóstico. Biomarcadores são ferramentas e tecnologias que podem auxiliar nessa compreensão. Este estudo procura apresentar resultados sobre alguns dos marcadores utilizáveis.

Perspectiva

O papel dos marcados biológicos no câncer de próstata ainda é incerto, pois apenas pequeno número deles foi avaliado de maneira adequada para que pudesse ser utilizado na clínica. Perspectiva futura seria dispor de vários marcadores que se complementassem e possibilitassem a detecção precoce e o tratamento ideal.

ABSTRACT

Introduction: Prostate adenocarcinoma is one of the most prevalent malignancies worldwide. Despite often having a slow evolution, it still represents an important cause of death in oncology. Since its clinical results are very heterogeneous, there is a need to identify prognostic markers. Biomarkers are tools and technologies that can aid in this understanding.

Objective: To evaluate the presence of c-MET and ABCB5 in prostate adenocarcinoma and to analyze whether their expression correlates with prognostic factors.

Method: 170 cases were selected through an active search in electronic medical records and review of physical records and anatomopathological reports. Immunohistochemistry was performed for the biomarkers c-MET and ABCB5 in all samples. Retrospective clinical data were collected and plotted in tables. Through TMA (tissue microarray) the tissues were submitted to immunohistochemistry by the peroxidase technique. Clinical and epidemiological information was cross-referenced with the result obtained by immunostaining and its statistical analysis.

Result: Forty-seven men with a mean age of 61.6±6.9 (48-75), with a mean PSA of 11±9.7 (2.4-60.5) were included in this study. 2% had a Gleason score of 5 or 6 and 29, 1%, 7 or 8. Regarding tumor classification, 6 cases had T3a and 2 T3b staging. None had a tumor greater than T3b and there was 1 case of metastasis. With regard to biomarkers, there was positive labeling of c-MET in 32 cases and of ABCB5 in 5. Positive labeling had no statistically significant association with any of the prognostic factors evaluated.

Conclusion: There was expression of c-MET and ABCB5 in the prostate cancer, but without association of them with prognostic factors.

KEYWORDS: Biomarker. c-MET. ABCB5. Prostate cancer. Immunohistochemistry.

¹Instituto Presbiteriano Mackenzie, São Paulo, SP, Brasil;

²Ross Tilley Burn Centre, Sunnybrook Hospital, University of Toronto, Ontario, Canada;

³Hospital Universitário Presidente Dutra da Universidade Federal do Maranhão, São Luis, MA, Brasil;

⁴Hospital São Mateus, Cuiabá, MT, Brasil;

Conflito de interesse: Nenhum | Financiamento: Nenhum | Recebido em: 17/07/2024 | Aceito em: 22/10/2024 | Correspondência: joaozahdi@yahoo.com.br | Editor Associado: Fernando Issamu Tabushi

Como citar:

Zahdi JOR, Zini C, Ribas FM, Possiedi RD, Lages Neto M, Carmo ABC, Ribas CAPM. Presença dos biomarcadores c-MET e ABCB5 no adenocarcinoma de próstata e sua associação com fatores prognósticos. BioSCIENCE. 2024;82:e0067

INTRODUÇÃO

O adenocarcinoma de próstata é o segundo câncer mais comum em homens em todo o mundo. Uma grande proporção deles é latente, nunca destinada a progredir ou afetar a vida. É de grande importância identificar quais casos irão progredir e quais se beneficiariam de tratamento radical precoce. O antígeno prostático específico (PSA) continua sendo o teste mais usado para detectar câncer de próstata. Sua especificidade limitada e elevada taxa de sobrediagnóstico são os principais problemas associados ao teste de PSA. Novos biomarcadores de câncer de próstata foram propostos para melhorar a precisão do PSA no manejo da doença inicial.¹

A justificativa para a seleção de um biomarcador no campo da oncologia inclui sua capacidade em prever a detecção precoce, resposta terapêutica e estadiamento, além de sua capacidade de reduzir o sobrediagnóstico, selecionar pacientes para diferentes opções de tratamento, aumentar a expectativa de vida e proporcionar melhor qualidade de vida. Dos muitos biomarcadores moleculares de câncer prostático, apenas alguns são aprovados para uso clínico. Biomarcador ideal tem alta especificidade (capacidade do teste de identificar corretamente quem não tem a doença e taxa negativa verdadeira), alta sensibilidade (capacidade do teste de identificar corretamente quem tem a doença e taxa positiva verdadeira), facilidade de aplicação, reprodutibilidade, leituras claras para os médicos, custo-benefício e medidas quantificáveis de um fluido biológico ou amostra fácil de obter.

Houve progresso notável na descoberta de biomarcadores de câncer de próstata, principalmente por meio de avanços nas tecnologias genômicas.²

O c-MET é receptor tirosina quinase com múltiplas funções ao longo do desenvolvimento embrionário, organogênese e cicatrização de feridas e é expresso em vários epitélios. O ligante de c-MET é o fator de crescimento de hepatócitos (HGF), que é secretado, entre outros, pelas células do estroma/tronco mesenquimal. As funções fisiológicas de c-MET estão centradas em processos que sustentam a motilidade celular e o crescimento invasivo. Expressão e atividade aberrante de c-MET são observadas em vários cânceres e fazem contribuições importantes para a malignidade celular. A sinalização de HGF/c-MET é crucial no contexto da comunicação entre as células cancerosas e o estroma do tumor.

Os transportadores de cassete de ligação de ATP (transportadores ABC), como o ABCB5, têm sido intensamente estudados nos últimos 50 anos por seu envolvimento no fenótipo de resistência a múltiplas drogas, especialmente no câncer. Eles são frequentemente superexpressos em tumores e impedem a quimioterapia eficaz, reduzindo o acúmulo de drogas nas células cancerosas. Na última década, entretanto, vários estudos estabeleceram que os transportadores ABC têm papéis adicionais e fundamentais na biologia tumoral. Há fortes evidências de que essas proteínas estão envolvidas no transporte de moléculas que aumentam o tumor e/ou nas

interações proteína-proteína que afetam a agressividade do câncer, a progressão e o prognóstico.³

O objetivo deste estudo foi avaliar a existência de expressão dos biomarcadores c-MET e ABCB5 no adenocarcinoma de próstata e associá-la com fatores de mau prognóstico no adenocarcinoma de próstata.

MÉTODO

Esta pesquisa foi realizada no Programa de Pós-Graduação em Princípios de Cirurgia da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, em parceria com Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School Molecular Oncology and Immunology and Renal Division. Foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob parecer CAAE 94154518.800000103, estando de acordo com os preceitos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

É estudo observacional, transversal, retrospectivo. Foram selecionados 170 casos de adenocarcinoma prostático utilizando o sistema de prontuário eletrônico MV Soul Hospitalar. Da mesma forma, foram revisados prontuários físicos e laudos anatomopatológicos de todos os pacientes. A busca inicial foi através do CID C61 referente a câncer de próstata.

Selecionados os casos, foi realizada procura dos respectivos blocos de parafina. Foram selecionados somente aqueles com massa tumoral suficiente para que realização de cortes adicionais sem que o material biológico fosse completamente consumido. Por um segundo patologista, sem qualquer acesso dados clínicos, realizou revisão das lâminas, visando confirmar o diagnóstico de câncer de próstata. Blocos sem lâmina de H&E disponíveis, tiveram sua produção solicitada. Em casos com mais de um bloco de parafina, coube ao patologista selecionar aquele com maior massa neoplásica. Os blocos conferidos foram submetidos à imunomarcação para c-MET e ABCB5.

Os critérios de inclusão foram pacientes com adenocarcinoma de próstata atendidos no serviço de urologia do hospital sem nenhum tratamento prévio; com investigação e estadiamento prévio no serviço; com dados epidemiológicos completos no prontuário; com os casos confirmados por segundo patologista; com blocos de parafina que possuísem massa tumoral suficiente passível de novos fracionamentos sem que se esgotasse o material biológico.

Critérios de exclusão foram aqueles com dados clínicos e epidemiológicos incompletos no prontuário, e blocos de parafina de má qualidade ou com material insuficiente para análise do microarranjo de tecido (TMA) após ser realizado o desgaste do bloco de parafina.

Após aplicar os critérios de inclusão e exclusão a amostra ficou constituída de 47 pacientes.

Variáveis relativas ao paciente

Na sequência, procedida a anotação dos dados clínicos de cada caso já incluído, definindo-se padronização, constituída pelas seguintes variáveis: idade ao diagnóstico, PSA, escore de Gleason da biópsia, classificação clínica do tumor, acometimento do linfonodo, metástase à distância, acometimento da margem, extensão

extracapsular, comprometimento da vesícula seminal, infiltração perineural, recidiva bioquímica.

Para o PSA aceitou-se como valores limites normais até 4 ng/ML.⁴ Para o escore de Gleason considerou-se a seguinte escala: 5 grupo 1, menor ou igual a 6; grupo 2, 7 (3+4); grupo 3, 7 (4+3); grupo 4, 8 (4+4; 3+5; 5+3); grupo 5, 9 a 10 (4+5; 5+4 ou 5+5).

Classificação clínica do tumor

Usou-se sistema de estadiamento TNM para o câncer de próstata.⁶ Para acometimento da margem cirúrgica considerou-se positiva quando existissem células tumorais tocando à tinta nanquim da superfície.⁷ A extensão extraprostática ou extracapsular era definida pela presença de tumor além dos limites da glândula. O comprometimento da vesícula seminal era definido como câncer de próstata acometendo a parede muscular da vesícula seminal. Infiltração ou invasão perineural foi definida pela presença de glândulas neoplásicas envolvendo filetes nervosos ou localizadas no espaço intraneural e considerada o principal mecanismo de disseminação neoplásica para além da próstata.⁸

Recidiva bioquímica era definida como níveis de PSA persistentemente detectáveis após a prostatectomia radical ou aumento após período de normalização; como não existe ponto de corte consensual para o diagnóstico de recidiva bioquímica, a recidiva bioquímica foi considerada como PSA $\geq 0,2$ ng/ml após resultado indetectável no pós-operatório.

Técnica de confecção dos blocos multiamostrais

Com as lâminas coradas por H&E eram identificadas as áreas do carcinoma nas regiões dos blocos de parafina representativa para construção dos blocos multiamostrais (TMA - tissue microarray). Utilizou-se nesta pesquisa um aparelho manual para confecção dos BMA da marca Tissue Tek Quick Array™ que continha pinças acopladas com diâmetros de 1-3 mm, responsáveis pela extração da área desejada para a realização da imunohistoquímica. Na técnica para a montagem dos blocos multiamostrais houve a seleção das áreas que continham maior representação da neoplasia nas lâminas coradas em H&E. Essas áreas foram marcadas com caneta de retroprojeto e baseando-se nas marcações feitas nas lâminas foram realizadas as mesmas marcações nos respectivos blocos de parafina. Esses blocos foram denominados doadores.

Foi criada uma planilha de Excel com os casos, semelhante a um mapa cartesiano com 10 colunas e 6 linhas. A primeira célula da tabela ficou em branco pois serviu de marcação para o início da leitura das lâminas. Nas demais foram anotados os números de registros dos casos.

O bloco multiamostrais foi confeccionado do modo habitual de sua execução. Para se determinar o ponto inicial da leitura da lâmina a primeira célula, correspondente ao primeiro orifício do molde, foi destinado tecido não relacionado ao estudo, neste caso fragmento de placenta. O material obtido foi colocado em lâminas Superfrost Plus (hidrofílica) para se iniciar a imunomarcação.

Técnica da imunohistoquímica

As lâminas obtidas a partir do TMA foram submetidas à técnica da imunoperoxidase, realizada em instrumento Benchmark Ultra™, com processamento 3 em 1 integrado, compreendendo a desparafinização, re-hidratação e recuperação antigênica, com tampões Cell Conditioning 1 (pH alto) e Cell Conditioning 2 (pH baixo). A incubação com anticorpos primários durou entre 16-20 min em temperatura ambiente. A amplificação foi realizada por Ultraview Universal DAB Detection Kit. DAB foi usado como cromógeno e hematoxilina como contra-corante. O processamento foi todo realizado em plataforma automatizada Ventana Benchmark Ultra™ utilizando os anticorpos c-MET e ABCB5. Controles positivos internos e externos atestaram a fidelidade das reações (Tabela 1).

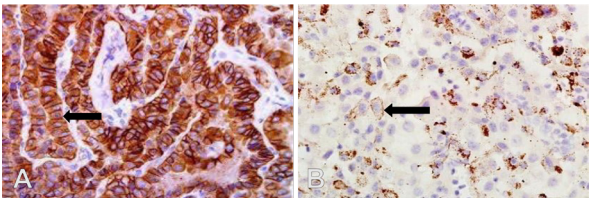
TABELA 1 — Descrição dos anticorpos primários com seus respectivos fabricantes e diluições

Proteína	Anticorpo	Marca	Especificação	Diluição
c-MET	Anti-c-MET, clone GT556	GeneTex	AMR	1:1000
ABCB5	Anti-ABCB5, clone 5H3C6	GeneTex	AMR	1:100

AMR = anticorpo monoclonal de rato

Laudo da imunomarcação

Após realizada a imunomarcação, as lâminas de TMA foram avaliadas no microscópio Olympus CX31 por 2 patologistas diferentes, em tempos diferentes. Foram utilizados os seguintes parâmetros: marcação positiva para o c-MET era presença combinada do anticorpo na membrana citoplasmática e no citoplasma (Figura A) e para o ABCB5 presença do anticorpo na membrana citoplasmática (Figura B).



Fonte: A) Bio-Techne (2020) B) Fonte: ABCAM (2020).

A) Seta=marcação em membrana e citoplasma pelo cromógeno. B) Seta=marcação em membrana celular pelo cromógeno

FIGURA — Fotomicrografia da expressão: A) c-MET; B) ABCB5

Foi considerada marcação negativa quando o anticorpo não foi visualizado em nenhuma localização histológica, ou seja, ausência de marcação. Foi considerado inconclusivo quando não houve a possibilidade de realizar a leitura da lâmina devido à qualidade inadequada da amostra

Análise estatística

Os resultados obtidos foram descritos por média, desvio-padrão, mínimo e máximo (idade) ou por frequências e percentuais (variáveis categóricas). Para avaliar a associação entre 2 variáveis categóricas foi usado o teste exato de Fisher ou o teste de qui-quadrado. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional Stata/Sev.^{14.1} StataCorpLP, USA. Para cada biomarcador e para cada variável analisada, testou-se a hipótese nula de que as distribuições sobre as classificações do

biomarcador eram iguais para todas as classificações da variável, vs. a hipótese alternativa de que as distribuições eram diferentes.

RESULTADO

Dos 47 homens a média de idade foi de 61,6±6,9 anos e o PSA médio de 1±9,7 (2,4-60,5, Tabela 2).

TABELA 2 — Características epidemiológicas e de PSA (n = 47)

Variável	n	Classificação	Resultado*
Idade (anos)	47		61,6 ± 6,9 (48-75)
Faixa etária	47	< 60 anos	16 (34,0%)
		≥ 60 anos	31 (66,0%)
PSA	47		11 ± 9,7 (2,4-60,5)
PSA < 20	47	Não	4 (8,5%)
		Sim	43 (91,5%)

* Média ± desvio-padrão (mínimo – máximo) ou frequência (percentual)

Dos 47 pacientes incluídos 70,2% tiveram escore de Gleason 5 ou 6 e 29,8% 7 ou 8. Em relação ao estadiamento clínico, 6 casos foram classificados como T3a e 2 como T3b. Nenhum apresentou comprometimento de linfonodo. Um paciente teve metástase à distância. Em 19,1% o estadiamento foi T3a, T3b ou M1 (Tabela 3).

TABELA 3 — Estadiamento tumoral da amostra

Variável	n	Classificação	n (%)
Escore Gleason na biópsia	47	2+3 (5)	4 (8,5%)
		3+2 (5)	3 (6,4%)
		3+3 (6)	26 (55,3%)
		3+4 (7)	6 (12,8%)
		4+3 (7)	7 (14,9%)
		4+4 (8)	1 (2,1%)
Escore de Gleason na biópsia	47	5 ou 6	33 (70,2%)
		7 ou 8	14 (29,8%)
c Tumor	47	T1a	1 (2,1%)
		T2a	16 (34%)
		T2c	21 (44,7%)
		T3a	6 (12,8%)
		T3b	2 (4,3%)
Linfonodo	47	N0	47 (100%)
Metástase	47	M0	46 (97,9%)
		M1	1 (2,1%)
TNM	47	Não	38 (80,9%)
		Sim*	9 (19,1%)

* Quando estadiamento TNM for T3a, T3b, T4, N1 ou M1

Observa-se na Tabela 4 que 29,8% dos pacientes apresentaram margens comprometidas, 76,6% tiveram extensão extracapsular, 4,3% invasão de vesícula seminal e 51,1% presença de infiltração perineural. Houve recidiva bioquímica em 23,4% dos casos.

TABELA 4 — Parâmetros de invasividade

Variável	n	Classificação	n (%)
Margens livres	47	Não	14 (29,8%)
		Sim	33 (70,2%)
Extensão extracapsular	47	Não	36 (76,6%)
		Sim	11 (23,4%)
Invasão de vesícula seminal	47	Não	45 (95,7%)
		Sim	2 (4,3%)
Infiltração perineural	47	Não	23 (48,9%)
		Sim	24 (51,1%)

Em relação aos biomarcadores, o c-MET teve expressão positiva em 68,1% dos casos e o ABCB5 em 10,6% (Tabela 5).

TABELA 5 — Resultados dos biomarcadores

Variável	n	Classificação	n (%)
c-MET	47	Negativo	7 (14,9%)
		Positivo	32 (68,1%)
		Inconclusivo	8 (17%)
ABCB5	47	Negativo	36 (76,6%)
		Positivo	5 (10,6%)
		Inconclusivo	6 (12,8%)

Avaliação de variáveis associadas aos biomarcadores

Para alguns fatores, em função do pequeno número de casos em suas classificações, não foi possível a aplicação de teste estatístico.

Dos 14 pacientes sem margens livres, 14,3% tinha c-MET negativo, 71,4% c- MET positivo e 14,3% era inconclusivo. Dos 33 pacientes que tinham margens livres, estes percentuais foram 15,2%, 66,7% e 18,2%. A diferença entre casos sem margens livres e casos com margens livres não foi significativa estatisticamente (p = 0,939).

Dentre os 11 pacientes com extensão extracapsular da doença, 72,7% tinham c-MET positivo, 3 c-MET negativo e nenhum marcação inconclusiva. Naqueles sem extensão extracapsular, 66,7% tiveram c-MET positivo, 11,1% c-MET negativo e 22,2% c-MET inconclusivo não apresentando diferença significativa (p = 0,138).

Os 2 pacientes com invasão de vesícula seminal tiveram marcação de c-MET positiva. Nos 45 casos sem invasão de vesícula seminal, 66,7% apresentaram c-MET positivo, 15,6% c-MET negativo e 17,8% inconclusivo. Ainda que 100% de marcação positiva de c-MET nos casos com invasão de vesícula, a pequena amostragem não permitiu aplicação do teste estatístico (Tabela 6).

TABELA 6 — Relação da expressão do c-MET com fatores prognósticos

Variável	Classificação	n	c-MET			p*
			Negativo	Positivo	Inconclusivo	
Idade (anos)	< 60	16	4 (25%)	10 (62,5%)	2 (12,5%)	0,356
	≥ 60	31	3 (9,7%)	22 (71%)	6 (19,4%)	
PSA < 20	Não	4	1 (25%)	3 (75%)	0 (0%)	-
	Sim	43	6 (14%)	29 (67,4%)	8 (18,6%)	
Escore Gleason na biópsia	5 ou 6	33	6 (18,2%)	22 (66,7%)	5 (15,2%)	0,587
	7 ou 8	14	1 (7,1%)	10 (71,4%)	3 (21,4%)	
Classificação TNM	Não	38	5 (13,2%)	26 (68,4%)	7 (18,4%)	0,729
	Sim**	9	2 (22,2%)	6 (66,7%)	1 (11,1%)	
Margens livres	Não	14	2 (14,3%)	10 (71,4%)	2 (14,3%)	0,939
	Sim	33	5 (15,2%)	22 (66,7%)	6 (18,2%)	
Extensão extracapsular	Não	36	4 (11,1%)	24 (66,7%)	8 (22,2%)	0,138
	Sim	11	3 (27,3%)	8 (72,7%)	0 (0%)	
Invasão de vesícula seminal	Não	45	7 (15,6%)	30 (66,7%)	8 (17,8%)	-
	Sim	2	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	
Infiltração perineural	Não	23	2 (8,7%)	15 (65,2%)	6 (26,1%)	0,184
	Sim	24	5 (20,8%)	17 (70,8%)	2 (8,3%)	

* Teste qui-quadrado, p < 0,05; (-) = teste não aplicável; ** quando estadiamento TNM for T3a, T3b, T4, N1 ou M1

Nos pacientes que apresentaram extensão extracapsular a marcação foi positiva em 27,3% e negativa em 72,7%. Entre aqueles sem a presença de

extensão extracapsular, 5,6% tiveram ABCB5 positivo, 77,8% negativo e 16,7% inconclusivo. Com estes resultados, sugere-se tendência a maior marcação de ABCB5 nos casos com extensão extracapsular, ainda que sem significância estatística ($p = 0,061$, Tabela 7).

TABELA 7 — Relação da expressão do ABCB5 com fatores prognósticos

Variável	Classificação	n	ABCB5			p*
			Negativo	Positivo	Inconclusivo	
Idade (anos)	< 60	16	13 (81,3%)	1 (6,3%)	2 (12,5%)	0,775
	≥ 60	31	23 (74,2%)	4 (12,9%)	4 (12,9%)	
PSA < 20	Não	4	4 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	-
	Sim	43	32 (74,4%)	5 (11,6%)	6 (14%)	
Escore Gleason na biópsia	5 ou 6	33	28 (84,9%)	2 (6,1%)	3 (9,1%)	0,114
	7 ou 8	14	8 (57,1%)	3 (21,4%)	3 (21,4%)	
Classificação TNM	Não	38	28 (73,7%)	5 (13,2%)	5 (13,2%)	-
	Sim**	9	8 (88,9%)	0 (0%)	1 (11,1%)	
Margens livres	Não	14	12 (85,7%)	0 (0%)	2 (14,3%)	0,305
	Sim	33	24 (72,7%)	5 (15,2%)	4 (12,1%)	
Extensão extracapsular	Não	36	28 (77,8%)	2 (5,6%)	6 (16,7%)	0,061
	Sim	11	8 (72,7%)	3 (27,3%)	0 (0%)	
Invasão de vesícula seminal	Não	45	35 (77,8%)	4 (8,9%)	6 (13,3%)	-
	Sim	2	1 (50%)	1 (50%)	0 (0%)	
Infiltração perineural	Não	23	16 (69,6%)	3 (13%)	4 (17,4%)	0,525
	Sim	24	20 (83,3%)	2 (8,3%)	2 (8,3%)	

* = Teste de qui-quadrado, $p < 0,05$; (-) = teste não aplicável; ** = quando estadiamento TNM for T3a, T3b, T4, N1 ou M1

Não houve significância estatística nos resultados que analisaram a relação entre recidiva bioquímica e os biomarcadores estudados (Tabela 8).

TABELA 8 — Relação da expressão dos biomarcadores com recidiva bioquímica

Variável	Classificação	n	Recidiva bioquímica		p*
			Não	Sim	
c-MET	Negativo	7	4 (57,1%)	3 (42,9%)	0,359
	Positivo	32	25 (78,1%)	7 (21,9%)	
	Inconclusivo	8	7 (87,5%)	1 (12,5%)	
ABCB5	Negativo	36	28 (77,8%)	8 (22,2%)	0,622
	Positivo	5	3 (60%)	2 (40%)	
	Inconclusivo	6	5 (83,3%)	1 (16,7%)	

* = Teste exato de Fisher ou qui-quadrado, $p < 0,05$; (-) = teste não aplicável

DISCUSSÃO

Em relação à coleta de dados, blocos amostrais e variáveis clínicas

Dentre os 170 casos eleitos inicialmente, foram removidos 92, por conta de insuficientes dados descritos nos prontuários físicos, sem padronização de descrição de informações relevantes e consultas ambulatoriais realizadas por diferentes profissionais. A padronização e orientação das equipes para preenchimento das informações, por certo minimizaria a perda de casos. Houve ainda perda no número de casos por falha no recebimento, cadastro da amostra, acondicionamento, fixação do material em formol, amostra sem material

biológico ou com material escasso, blocos e lâminas com avarias. Possivelmente, boa parte dos resultados inconclusivos teve relação com estas condições.

Faixa etária

Conforme descreve Rawla⁹, o câncer de próstata é mais prevalente a partir da 5ª. década de vida, sofrendo aumento exponencial a partir de então, compatível com a apuração aqui encontrada. Neste estudo, pacientes tinham faixa etária entre 48-75 anos com mais casos entre os mais idosos. Informações do INCA e da American Cancer Society também corroboram com esta hipótese.

PSA e recidiva bioquímica

Um dos 4 pacientes com PSA ≥ 20 ng/ml teve verificada presença de metástase, além de escore de Gleason 7, concordando com estudo de Martinez et al.¹⁰ e Iwamoto et al.¹¹, que caracterizaram valores de PSA superiores a 20 ng/ml como diretamente relacionados a mais frequente existência de metástases e escore de Gleason ≥ 7 . O antígeno prostático específico é também de grande importância no seguimento pós-tratamento, pois mesmo sem qualquer estigma clínico, identifica recidiva bioquímica. No pós-tratamento cirúrgico e/ou radioterápico espera-se normalização dos níveis de PSA. A descrição de recidiva bioquímica se dá caso haja novo aumento além de 0,2 ng/ml após normalização inicial Paller e Antonarakis¹² e Tourinho- Barbosa et al.¹³ Neste trabalho, detectou-se recidiva bioquímica em 23,4% dos casos.

Relativo ao TNM

O acometimento extraprostático (a partir de T3, ou N1 ou M1) está relacionado com piores desfechos. Não havendo outros fatores de mau prognóstico (PSA > 20 ng/ml ou escore de Gleason ≥ 7) o estadiamento T2c é tratado como condição de risco intermediário para desfecho desfavorável. Concordando com os autores, neste estudo, o único caso com constatação de metástase teve classificação T2c, somada a PSA ≥ 20 e Gleason 7.

Relativo às margens cirúrgicas

O acometimento de margens cirúrgicas se associa diretamente à possibilidade aumentada de recidiva bioquímica, maior indicação de tratamento de resgate, além de sobrevida relacionada à doença e sobrevida em geral reduzidas.⁷ Neste trabalho, a maioria dos casos teve margens tumorais livres, totalizando 70,2% dos pacientes, assim como predomínio de casos com outros fatores de melhor prognóstico, como majoritariamente escore de Gleason abaixo de 7, PSA abaixo de 20, TNM favorável e minoria de episódios de recidiva bioquímica.

Relativo à extensão extracapsular

A extensão extracapsular esta presente entre 15-60% das biópsias em neoplasias de próstata. Além de importante fator prognóstico, tem relação com maior recorrência bioquímica no pós- operatório. Da mesma forma, traz relevantes implicações terapêuticas, visto que está indicada ressecção cirúrgica mais ampla, objetivando

minimizar o risco de margem positiva. Nesta pesquisa, foi detectada extensão extracapsular em 23,4% dos casos.

Relativo ao escore de Gleason

Na classificação de Gleason especifica-se inicialmente a pontuação do tipo histológico mais frequente e, em seguida do segundo mais frequente (ex. 3+4 = 7 ou 4+3 = 7). Nestas situações, há importante relevância prognóstica, uma vez que espera-se pior evolução em casos caracterizados como Gleason 7 4+3 em comparação com Gleason 7 3+4. Neste estudo os escores de Gleason mais documentados foram o 6 (3+3), 7 (4+3) e 7 (3+4). Valores entre 5 e 7, não distinguem câncer de crescimento lento ou rápido, dependendo esta evolução de outros fatores, como o tempo decorrido desde o diagnóstico. Esta pesquisa mostrou casos de escore de Gleason entre 5 e 8, sendo que a maioria dos casos apresentou escore de 6 e 7 com bom prognóstico. O presente trabalho corrobora com resultados de Shen e Abate-Shen¹⁴ que demonstraram bom desfecho em adenocarcinoma de próstata com escores inferiores a 7. O escore de Gleason é o mais fidedigno preditor clínico para progressão do adenocarcinoma de próstata. Pacientes com Gleason 7 ou maior, têm mais comumente extensão extraprostática da doença. Neste trabalho, entre os 7 casos com Gleason 7(4+3), 3 tiveram detectada extensão extracapsular.

Relativo à infiltração perineural

Há tendência do adenocarcinoma de próstata a invasão e crescimento junto aos nervos prostáticos, estendendo a doença desde o órgão ao plexo nervoso pélvico. Trata-se de fenômeno chamado invasão ou infiltração perineural. Esta faz parte de mecanismo para extensão da neoplasia além da cápsula. Acometendo entre 10-40% dos casos, é acompanhada de propriedades tumorais mais agressivas, bem como maior letalidade, conforme descrito por Zareba et al.⁸ Nesta pesquisa foi detectada infiltração perineural em 51,1% dos pacientes, estando acima dos valores descritos nos trabalhos citados.

Quanto aos marcadores

Alford et al.¹⁵ em 2017 revisaram estudos de 12 biomarcadores comercialmente disponíveis para diagnóstico e tratamento de câncer de próstata, tanto em fluidos corporais quanto em material de biópsia, verificando que um biomarcador não pode ser recomendado sobre outro neste momento. Além disso, os marcadores estudados ainda não devem ser usados como primeira linha no diagnóstico do câncer de próstata.

c-MET

Varkaris et al.¹⁶ em 2011 revisaram a relação de superexpressão por imunistoquímica de c-MET em tecido de prostatectomia em adenocarcinoma de próstata, com fatores de mau prognóstico. Verificaram que a expressão dele aumenta ao longo dos estágios de desenvolvimento do câncer de próstata e metástase. Nesta pesquisa não foi demonstrada relação entre expressão positiva de c-MET e fatores de mau prognóstico, provavelmente devido ao baixo número de casos incluídos. Yin et al.¹⁷ estudaram a marcação de c-MET e de outra tirosina quinase semelhante,

também derivada do proto-oncogene MET, chamada RON, em tecido prostático, em amostras de 10 pares de tecido de adenocarcinoma prostático e seu tecido sadio peritumoral correspondente. Por imunistoquímica, foi confirmada grande expressão de c-MET e RON no tecido maligno e apenas mínima no tecido não canceroso. Neste estudo 32 dos 47 casos estudados tiveram expressão positiva de c-MET. Nishida et al.¹⁸ estudaram 106 pacientes submetidos à prostatectomia radical por câncer de próstata. Foram detectadas células com impregnação de HGF em 45 pacientes. Demonstraram que aqueles cuja peça histológica avaliada por imunistoquímica com maior impregnação do ligante de c-MET, fator de crescimento de hepatócito (HGF), considerados com superexpressão do marcador, apresentavam maior incidência de recidiva bioquímica.¹⁸ Neste trabalho, dos 32 pacientes com marcação positiva de c-MET, 7 apresentaram recidiva bioquímica.

ABCB5

Na revisão de literatura, não foram encontrados estudos relacionando a marcação do ABCB5 no câncer de próstata. No carcinoma colorretal, Wilson et al.¹⁹ descreveram rara detecção de ABCB5 em tecido saudável, mas relevante superexpressão em câncer de cólon. Ao contrário do carcinoma de colorretal, no total dos 47 casos estudados nesta pesquisa, apenas 5 tiveram marcação positiva para ABCB5. Guo et al.²⁰ demonstraram relação de expressão de ABCB5 em carcinoma colorretal com maior invasividade. Neste trabalho, dos 5 casos positivos para ele, nenhum apresentou acometimento de margens cirúrgicas. Em 3 desses 5 foi verificada extensão extracapsular. Houve invasão de vesícula seminal em 1 destes 5 e infiltração perineural em 2. Yang et al.²¹ estudaram a relação entre superexpressão de ABCB5 em câncer de mama e sugeriram envolvimento do biomarcador com resistência terapêutica a doxorrubicina, ainda que não com mecanismo totalmente claro. Neste trabalho, não foi determinada relação entre marcação positiva de ABCB5 com os preditores de mau prognóstico avaliados.

Perspectivas

O papel dos marcados biológicos no câncer de próstata ainda é incerto, pois apenas pequeno número de marcadores foi avaliado de maneira adequada para que pudesse ser utilizado na clínica. Perspectiva futura seria dispor de vários marcadores que se complementassem e possibilitassem a detecção precoce e o tratamento ideal. Respondendo a uma pergunta antiga: Qual a previsão prognóstica e a melhor ação terapêutica? O processo de identificação e de validação para uso clínico de um marcador segue diversas etapas. Teste do marcador em tecido proveniente de biópsia com diagnóstico estabelecido do tumor, teste em biópsia de tecidos normais, testes em tecido com processo inflamatório e testes que possam ser usados em população de alto risco. Em relação à técnica utilizada, sugere-se que seja realizada a confirmação da expressão proteica pela expressão gênica, para melhor elucidação dos resultados. Realizar o aumento da amostra

em novas pesquisas seria um caminho mais seguro no entendimento genético das alterações patológicas.

CONCLUSÕES

Foi observada a existência de expressão dos biomarcadores c-MET e ABCB5 no adenocarcinoma de próstata, porém não houve correlação dela com fatores de mau prognóstico do tumor.

Contribuição dos autores

Conceituação: João Otávio Ribas Zahdi

Análise formal: Carmen Austrália Paredes Marcondes Ribas

Metodologia: Cassio Zini, Fernanda Marcondes Ribas

Administração do projeto: Rafael Dib Possiedi

Supervisão: Manoel Lages Neto

Redação (esboço original): Alexandro Batista da Costa Carmo

Redação (revisão e edição): Todos os autores

REFERÊNCIAS

1. US Preventive Services Task Force, Grossman DC, Curry SJ, Owens DK, Bibbins-Domingo K, Caughey AB, et al. Screening for Prostate Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*. 2018;319(18):1901-13. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.3710>
2. Kohaari I, Petrovics G, Srivastava S. A Rich Array of Prostate Cancer Molecular Biomarkers: Opportunities and Challenges. *Int J Mol Sci*. 2019;20(8):1813. <https://doi.org/10.3390/ijms20081813>
3. Muriithi W, Macharia LW, Heming CP, Echevarria JL, Nyachio A, Niemeyer Filho P, et al. ABC transporters and the hallmarks of cancer: roles in cancer aggressiveness beyond multidrug resistance. *Cancer Biol Med*. 2020;17(2):253-69. <https://doi.org/10.20892%2Fj.issn.2095-3941.2019.0284>
4. Ilic D, Djulbegovic M, Jung JH, Hwang EC, Zhou Q, Cleves A, et al. Prostate cancer screening with prostate-specific antigen (PSA) test: a systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2018;362:k3519. <https://doi.org/10.1136/bmj.k3519>
5. Delahunt B, Miller RJ, Srigley JR, Evans AJ, Samarasinghe H. Gleason grading: past, present and future. *Histopathology*. 2012;60(1):75-86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.04003.x>
6. Fine SW. Evolution in Prostate Cancer Staging: Pathology Updates From AJCC 8th Edition and Opportunities That Remain. *Adv Anat Pathol*. 2018;25(5):327-32. <https://doi.org/10.1097/pap.0000000000000200>
7. Zhang L, Wu B, Zha Z, Zhao H, Yuan J, Jiang Y, et al. Surgical margin status and its impact on prostate cancer prognosis after radical prostatectomy: a meta-analysis. *World J Urol*. 2018;36(11):1803-15. <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2333-4>
8. Zareba P, Flavin R, Isikbay M, Rider JR, Gerke TA, Finn S, et al; Transdisciplinary Prostate Cancer Partnership (ToPCaP). Perineural Invasion and Risk of Lethal Prostate Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(5):719-26. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-16-0237>
9. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol*. 2019;10(2):63-89. <https://doi.org/10.14740/wjon1191>
10. Martinez MAV, Correa E, Jeurkar C, Shikdar S, Jain MR, Topolsky DL, et al. The prognostic significance of PSA as an indicator of age standardized relative survival: An analysis of the SEER database 2004-2014. *J Clin Oncol*. 2018;36(15):e18768. https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.e18768
11. Iwamoto H, Izumi K, Kadono Y, Mizokami A. Prognosis of patients with prostate cancer and middle range prostate-specific antigen levels of 20-100 ng/mL. *Int Braz J Urol*. 2019;45(1):61-7. <https://doi.org/10.1590%2FS1677-5538.IBJU.2018.0143>
12. Paller CJ, Antonarakis ES. Management of biochemically recurrent prostate cancer after local therapy: evolving standards of care and new directions. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2013;11(1):14-23.
13. Tourinho-Barbosa R, Srougi V, Nunes-Silva I, Baghdadi M, Rembeye G, Eiffel SS, et al. Biochemical recurrence after radical prostatectomy: what does it mean? *Int Braz J Urol*. 2018;44(1):14-21. <https://doi.org/10.1590/s1677-5538.ijbu.2016.0656>
14. Shen MM, Abate-Shen C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes Dev*. 2010;24(18):1967-2000. <https://doi.org/10.1101/gad.1965810>
15. Alford AV, Brito JM, Yadav K, Tewari AK, Renzulli J. The Use of Biomarkers in Prostate Cancer Screening and Treatment. *Rev Urol*. 2017;19(4):221-34. <https://doi.org/10.3909/riu0772>
16. Varkaris A, Corn PG, Gaur S, Dayyani F, Logothetis CJ, Gallick GE. The role of HGF/c-Met signaling in prostate cancer progression and c-Met inhibitors in clinical trials. *Expert Opin Investig Drugs*. 2011;20(12):1677-84. <https://doi.org/10.1517/13543784.2011.631523>
17. Yin B, Liu Z, Wang Y, Wang X, Liu W, Yu P, et al. RON and c-Met facilitate metastasis through the ERK signaling pathway in prostate cancer cells. *Oncol Rep*. 2017;37(6):3209-18. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5585>
18. Nishida S, Hirohashi Y, Torigoe T, Nojima M, Inoue R, Kitamura H, et al. Expression of hepatocyte growth factor in prostate cancer may indicate a biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Anticancer Res*. 2015;35(1):413-8.
19. Wilson BJ, Schatton T, Zhan Q, Gasser M, Ma J, Saab KR, et al. ABCB5 identifies a therapy-refractory tumor cell population in colorectal cancer patients. *Cancer Res*. 2011;71(15):5307-16. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-11-0221>
20. Guo Q, Grimmig T, Gonzalez G, Giobbie-Huider A, Berg G, Carr N, et al. ATP-binding cassette member B5 (ABCB5) promotes tumor cell invasiveness in human colorectal cancer. *J Biol Chem*. 2018;293(28):11166-78. <https://doi.org/10.1074/jbc.ra118.003187>
21. Yang JY, Ha SA, Yang YK, Kim JW. p-Glycoprotein ABCB5 and YB-1 expression plays a role in increased heterogeneity of breast cancer cells: correlations with cell fusion and doxorubicin resistance. *BMC Cancer*. 2010;10:388. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-388>