



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

**PREVALÊNCIA DAS EXPRESSÕES DE ERG E PTEN EM ADENOCARCINOMAS
PROSTÁTICOS**

CARLOS EDUARDO LIMA DE MORAIS

FORTALEZA

2018

CARLOS EDUARDO LIMA DE MORAIS

PREVALÊNCIA DAS EXPRESSÕES DE ERG E PTEN EM ADENOCARCINOMAS
PROSTÁTICOS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Patologia. Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Rocha Fernandes Távora (UFC).

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M825p Morais, Carlos Eduardo Lima de.
 Prevalência das expressões de ERG e PTEN em adenocarcinomas prostáticos / Carlos Eduardo Lima de Morais. – 2018.
 50 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2018.
 Orientação: Prof. Dr. Fábio Rocha Fernandes Távora.
1. ERG. 2. PTEN. 3. Imuno-histoquímica. 4. Câncer de próstata. I. Título.

CDD 571.9

CARLOS EDUARDO LIMA DE MORAIS

PREVAÊNCIA DAS EXPRESSÕES DE PTEN E DE ERG EM ADENOCARCINOMAS
PROSTÁTICOS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como parte dos requisitos para obtenção de título de Mestre em Patologia. Área de concentração: Oncologia.

Aprovado em: ___/___/___.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Rocha Fernandes Távora (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Anastácio Dias Neto

Hospital Geral de Fortaleza (HGF)

Hospital Israelita Albert Einstein

Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Cunha Frota

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida

Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

Aos meus pais, Carlos Alberto e Socorro.

Aos meus irmãos, João Luiz, Karine e Kylvia.

A todos os meus amigos e colegas de trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Fábio Rocha Fernandes Távora, por sua orientação e incentivo durante todo o processo de aprendizado.

À CAPES, pela bolsa de estudo que ajudou a custear o desenvolvimento do trabalho.

À Dr^a. Tamara Lotan, pela oportunidade de conhecer o mundo científico fora do país.

Aos amigos André Teixeira, João Paulo Fontenele, Camila Souza, Gunter Gerson, Ruana Costa e Ana Cláudia, pelo estímulo e compreensão no dia-a-dia do trabalho.

Ao Dr. Cleto Nogueira e Dr. Igor Costa, pelo apoio e amizade.

Aos professores participantes da banca, Prof. Dr. José Anastácio Dias Neto, Prof. Dr. Paulo Roberto Carvalho de Almeida e Prof^a. Dr^a. Cristiane Cunha Frota pelas valiosas sugestões e colaborações.

“A ciência serve para nos dar uma ideia de
quão extensa é a nossa ignorância”

Félicité Robert de Lamennais

RESUMO

O câncer de próstata (CP) é uma das neoplasias mais comuns em homens por todo o mundo. As atuais ferramentas disponíveis como o PSA sérico, os escores de Gleason e o estadiamento não são suficientes para uma acurada estratificação dos pacientes. A fusão *TMPRSS2-ERG* e a perda de *PTEN* são dois eventos frequentes nos CP. As suas avaliações podem ser importantes no manejo da doença por serem potenciais fatores prognósticos e possíveis alvos terapêuticos. Um coorte de 119 pacientes de uma parte do nordeste brasileiro, submetidos a prostatectomia radical ou ressecção transuretral da próstata, foi selecionada e submetida a avaliação imuno-histoquímica para pesquisa de ERG e PTEN, com resultados associados às características clínico-patológicas. A expressão de ERG foi observada em 41% (48/117) das amostras e a perda de PTEN em 38% (40/105), verificando-se ainda um enriquecimento de perda de PTEN no grupo ERG positivo. Quanto as associações clínico-patológicas e as expressões dos biomarcadores, observou-se associação entre expressão de ERG e escores de Gleason ≤ 6 ($p=0.0316$) além de menores pesos prostáticos ($p=0.0007$). PTEN isoladamente apresentou apenas tendência a associação com volume tumoral percentual ($p=0.0659$), invasão linfovascular ($p=0.0710$) e estadiamento ($p=0.0773$). Em conjunto o perfil ERG/PTEN demonstrou associação com escores de Gleason ($p=0.0131$) e grupos prognósticos ($p=0.0369$), com o grupo ERG+/PTEN+ associado à escores de Gleason ≤ 6 / grupo prognóstico 1. Em conclusão, a determinação do status molecular dos CP associado ao conhecimento da doença em populações distintas pode ajudar na estratificação de risco, conduzindo a decisões terapêuticas mais particularizadas e evitando os efeitos adversos do sobretratamento, além do benefício de drogas alvo em desenvolvimento.

Palavras-chave: ERG, PTEN, imuno-histoquímica, câncer de próstata.

ABSTRACT

Prostate cancer (PC) is one of the most common neoplasms in men around the world. Current tools available such as serum PSA, Gleason score and staging are not sufficient for accurate patient stratification. The *TMPRSS2-ERG* fusion and loss of *PTEN* are two frequent events in CP. Their evaluations may be important in the management of the disease because they are potential prognostic factors and possible therapeutic targets. A cohort of 119 patients from a part of the Brazilian northeast, submitted to radical prostatectomy or transurethral resection of the prostate, was selected and submitted to immunohistochemical evaluation for ERG and PTEN, with results associated with clinical-pathological characteristics. ERG expression was observed in 41% (48/117) of the samples and loss of PTEN in 38% (40/105), and an enrichment of loss of PTEN in the positive ERG group was observed. The association between ERG expression and Gleason score ≤ 6 ($p = 0.0316$) and lower prostatic weights ($p = 0.0007$) were observed. PTEN alone showed only tendency to association with percentage tumor volume ($p = 0.0659$), lymphovascular invasion ($p = 0.0710$) and staging ($p = 0.0773$). Overall, the ERG / PTEN profile was associated with Gleason scores ($p = 0.0131$) and prognostic groups ($p = 0.0369$), with ERG + / PTEN + group associated with Gleason scores ≤ 6 / prognostic group 1. In conclusion, the determination of the molecular status of PC associated with knowledge of the disease in distinct populations may help in risk stratification, leading to more particular therapeutic decisions and avoiding the adverse effects of overtreatment as well as the benefit of developing target drugs.

Key words: ERG, PTEN, immunohistochemistry, prostate cancer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Zonas anatômicas da próstata.	16
Figura 2- Glândula prostática normal.	16
Figura 3 - Lâmina de hematoxilina/eosina e de silano com marcação para ERG.	29
Figura 4 - Controle interno representado por células endoteliais com núcleos positivos (reação imuno-histoquímica para expressão de ERG.	29
Figura 5 - Representação imuno-histoquímica (PTEN).	34
Figura 6 - Representação imuno-histoquímica (ERG).	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrões arquiteturais – escores de Gleason.....	20
Tabela 2 - Graduação em grupos prognósticos.	20
Tabela 3 - Características clínico-patológicas gerais.	32
Tabela 4 - ERG imuno-histoquímica e suas associações clínico-patológicas.	33
Tabela 5 - PTEN imuno-histoquímica e suas associações clínico-patológicas.	36
Tabela 6 - Tabela de contingência ERG x PTEN.....	37
Tabela 7 - Perfil ERG/PTEN imuno-histoquímica e suas associações clínico-patológicas.	38

LISTA DE ABREVIATURAS

- BAD - do inglês *Bcl-2-associated death promoter*.
- CP - Câncer de próstata.
- DP - Desvio padrão.
- DNA – do inglês *Deoxyribonucleic acid*.
- EGF - do inglês *Epidermal growth factor*.
- ERG - do inglês *Erythroblast transformation-specific-related gene*.
- ETS - do inglês *Erythroblast transformation-specific*.
- EUA - Estados Unidos da América.
- FISH - do inglês *Fluorescent in situ hybridization*.
- HE – Hematoxilina e eosina.
- HGPIN - do inglês *High-grade prostatic intraepithelial neoplasia*.
- IGF - do inglês *Insulin-like growth factors*.
- IHQ - Imuno-histoquímica.
- INCA – Instituto Nacional do Câncer.
- MDM2 - do inglês *Mouse double minute 2 homolog*.
- mTOR - do inglês *mammalian target of rapamycin*.
- miRNA – do inglês *microRibonucleic acid*.
- NF- κ B- do inglês *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*.
- PI3k/AKT - do inglês *Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase / Protein kinase B*.
- PIP2 - do inglês *Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*.
- PIP3 - do inglês *Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate*.
- PR - Prostatectomia radical.
- PSA - do inglês *Prostate-specific antigen*.
- PTEN - do inglês *Phosphatase and tensin homolog*.
- RNA – do inglês *Ribonucleic acid*.
- RTUP - Ressecção transuretral da próstata.
- TMA - do inglês *Tissue microarray*.
- TMPRSS2 - do inglês *Transmembrane protease, serine 2*.
- VEGF - do inglês *Vascular endothelial growth factor*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1. A próstata.....	15
1.2. Câncer de próstata.	17
1.2.1. Epidemiologia.....	17
1.2.2. Fatores de risco.	17
1.2.3. Considerações diagnósticas e escores de Gleason / Grupos prognósticos.	18
1.2.4. Detecção precoce do câncer de próstata.	21
1.3. Biomarcadores prostáticos.....	22
1.3.1. ERG.	22
1.3.2. PTEN.	23
1.3.3. A relação ERG/PTEN – sua importância.	24
2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	25
3. OBJETIVOS.....	26
3.1. Gerais.....	26
3.2. Específicos.....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1. Seleção de amostras.....	27
4.2. Construção do Tissue Microarray (TMA).	27
4.3. Imuno-histoquímica.....	28
4.4. Avaliação estatística.	30
4.5. Comitê de Ética.	30
5. RESULTADOS.	31
5.1. Caracterização da população.	31
5.2. ERG e PTEN imuno-histoquímica e suas associações.....	33
5.3. Estratificação ERG/PTEN e suas associações.....	37

6. DISCUSSÃO.....	39
REFERÊNCIAS	43
APÊNDICE	50

1. INTRODUÇÃO.

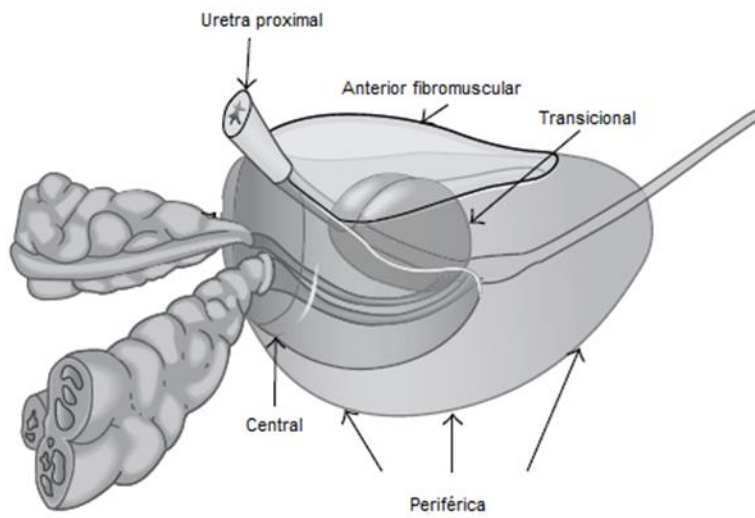
1.1. A próstata.

Com origem embrionária no terceiro mês de gestação, a glândula prostática surge da invaginação do epitélio uretral, diferenciado a partir do mesênquima adjacente por estímulo da 5-alfa-diidrotestosterona (HRICAK; SCARDINO, 2009), sintetizada através da testosterona fetal por meio da 5-alfa-redutase (WILSON et al., 1981). Até a puberdade, a estrutura prostática mante-se constante, ocorrendo um aumento do seu volume até atingir um peso aproximado de 25 a 30 gramas (HRICAK; SCARDINO, 2009).

A próstata localiza-se na região retroperitoneal e apresenta-se posterior a sínfise púbica, inferior a bexiga e anterior reto, permitindo sua palpação ao toque retal. Tem formato de cone invertido e abraça a uretra proximal (LEE; AKIN-OLUGBADE; KIRSCHENBAUM, 2011). Externamente é revestida por uma cápsula fibromuscular. Sua porção interna é composta por elementos glandulares e estromais (JANUS; LIPPERT, 1992).

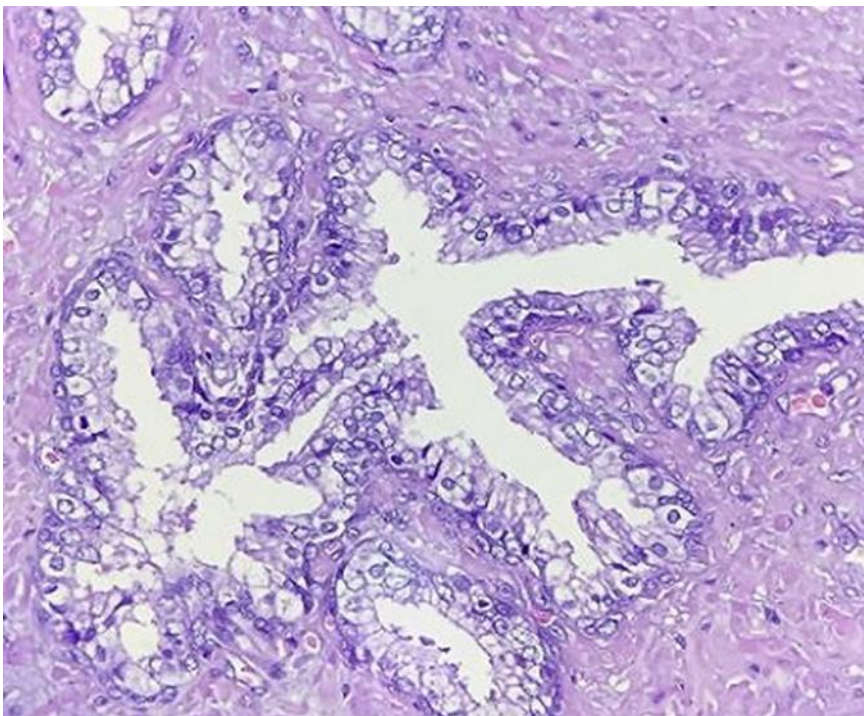
Anatomicamente é dividida em zonas: periférica, central, transicional e anterior fibromuscular (figura 1) (MCNEAL, 1972). Quanto a histologia, o componente glandular é formado por ácinos e ductos que apresentam uma dupla camada celular (células colunares secretoras luminais e células basais) e que são responsáveis pela secreção do fluido seminal (figura 2) (MILLS, 2012). As células secretoras ductais e acinares de todas as zonas são capazes de produzir antígeno prostático específico, do inglês *prostate-specific antigen* (PSA), e fosfatase ácida prostática, enquanto pepsinogênio II, ativador do plasminogênio tecidual e lactoferrina são produzidos por ácinos e ductos da zona central (REESE et al., 1986, 1988). Tecido fibromuscular característico, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e gânglios nervosos compõem o restante do arcabouço histológico (MILLS, 2012).

Figura 1- Zonas anatômicas da próstata.



Fonte: Adaptado de Bhavsar e Verma (2014).

Figura 2- Glândula prostática normal.



Fonte: Próprio autor (2018).

Nota: Coloração em hematoxilina-eosina (HE). Aumento 400x.

1.2. Câncer de próstata.

1.2.1. *Epidemiologia.*

O câncer de próstata (CP) é o quarto tumor maligno mais comum no mundo contando ambos os sexos e o segundo mais comum em homens. Mais de um milhão de casos foram observados, segundo estimativas para o ano de 2012, correspondendo à 15% de todos os casos de câncer diagnosticados em homens, com quase 70% destes ocorrendo em regiões mais desenvolvidas (FERLAY et al., 2015). As taxas de incidência variam bastante entre as regiões, com índices muito altos em países como Austrália e Nova Zelândia, provavelmente por práticas frequentes de testes como o PSA sérico e consequentemente realização de biópsias diagnósticas (FERLAY et al., 2015).

Nos Estados Unidos da América (EUA), o número de novos casos, segundo dados ajustados para idade e baseados nos anos de 2011-2015, foi de 116 por 100 mil homens, com um número de mortes de 19 por 100 mil (HOWLADER; NOONE; NIH, 2014). No Brasil esses números são menores, porém expressivos, apresentando 66 novos casos para 100 mil homens, segundo dados de 2018-2019 (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2017a).

1.2.2. *Fatores de risco.*

O CP é uma doença heterogênea com causas específicas desconhecidas e diversos fatores de risco relacionados (PATEL; KLEIN, 2009). A idade é um fator importante, com homens acima de 65 anos sendo diagnosticados com maior frequência e raros casos naqueles abaixo de 50 anos (GRONBERG, 2003). Uma história familiar positiva também aumenta o risco de desenvolvimento da doença. Quanto mais parentes acometidos, quando maior o grau de parentesco e quanto menor a idade de aparecimento da doença em um familiar, maiores são as possibilidades da neoplasia se desenvolver (BRATT, 2002; EELES et al., 1997).

A incidência do CP também varia bastante com a localização geográfica e até mesmo entre subgrupos étnicos dentro de uma mesma nacionalidade (ADJAKLY et al., 2015). Tais diferenças podem estar ligadas a polimorfismos genéticos associados a regulação hormonal e ao desenvolvimento da próstata (CUSSENOT; CANCEL-TASSIN, 2015; IRVINE et al., 1995; PARIS et al., 1999).

Os hormônios androgênicos, como a testosterona e a diidrotestosterona, estão relacionados ao desenvolvimento, a maturação e a manutenção da próstata, além de afetar a

proliferação e a diferenciação celular (PATEL; KLEIN, 2009). Os estudos são contraditórios (ENDOGENOUS et al., 2008; HSING, 2001), porém não é possível excluir a possibilidade de fatores hormonais estarem ligados a carcinogênese (PATEL; KLEIN, 2009).

A dieta é outro importante fator impactante no CP, atuando de forma protetora ou indutora de doença (ADJAKLY et al., 2015). Evidências são apresentadas quanto ao alto consumo de gorduras animais favorecendo o surgimento da neoplasia (CHUNG; LEIBEL, 2006; FAIR; FLESHNER; HESTON, 1997). As gorduras saturadas podem aumentar o risco de recidiva tumoral após prostatectomia (STROM et al., 2008). Além disso, o consumo de ácidos graxos insaturados, provenientes de óleos vegetais, também age induzindo o aumento do risco de doença, enquanto ácidos graxos provenientes de peixes favorecem a diminuição dos riscos (DESGRANDCHAMPS; BASTIEN, 2010; STROM et al., 2008).

1.2.3. Considerações diagnósticas e escores de Gleason / Grupos prognósticos.

Normalmente o CP não causa sintomas em suas fases iniciais. Contudo, alterações urinárias, como lentificação do jato urinário ou mesmo dificuldade de urinar a noite, presença de sangue na urina ou no sêmen, disfunção erétil, dores nas costas ou no peito e fraqueza nas pernas são sintomas possíveis de acometimento por doença maligna na próstata (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018a). Anamnese por profissional especializado, exame físico, laboratorial e de imagem, associados a biópsia prostática são ferramentas básicas para se chegar ao diagnóstico acurado.

Dentro da anamnese o médico urologista investiga dados importantes como sinais e sintomas, idade, dieta, história familiar, história pregressa, além de proceder ao exame físico geral e específico.

O toque retal faz parte do exame físico específico, avaliando uma porção da superfície externa da glândula. Áreas nodulares ou irregulares, consistência pétrea e alterações na textura superficial são apenas algumas das características que podem aumentar a suspeição de CP (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018a).

A mensuração sérica do PSA é a avaliação laboratorial mais usada. Esta substância é uma glicoproteína pertencente à família das calicreínas, sendo produzida pela glândula prostática. Tem funções de melhorar a motilidade do esperma e dissolver o muco cervical (PEZARO; WOO; DAVIS, 2014). Não existe um ponto de corte acuradamente definido para o PSA sérico em relação ao CP. Valores abaixo de 4 ng/ml são ditos normais. Contudo, 15% dos CP diagnosticados apresentam valores de PSA abaixo desse limite. Entre

4-10 ng/ml a chance de se encontrar CP é 25% maior. Já para valores maiores que 10 ng/ml os riscos aumentam para 50% (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018a).

O ultrassom transretal para realização de biópsia é um exame de imagem realizado quando o paciente apresenta um valor de PSA sérico aumentado e/ou quando o toque retal mostra alguma anormalidade. Além de avaliar o tamanho da glândula, o exame guia o médico para a realização de biópsia em locais determinados (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018a). Outros exames de imagens mais específicos também estão disponíveis, porém com utilidade mais particularizada, tais como cintilografia óssea, tomografia computadorizada, ressonância magnética e a tomografia com emissão de pósitrons (NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK, 2017).

A biópsia prostática é o exame padrão-ouro para o diagnóstico do câncer. Uma agulha especial é introduzida na glândula através do reto a fim de se obter fragmentos de diferentes topografias (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018a). O tecido coletado é enviado a um laboratório de anatomia patológica onde é avaliado. O laudo histopatológico gerado contém informações importantes que são úteis para os urologistas e oncologistas na conduta terapêutica. Um dos parâmetros mais relevantes é o escore de Gleason, dado pelo somatório dos dois padrões arquiteturais de maior grau encontrados no material (tabela 1). Os padrões arquiteturais variam de 1-5, com somatórios variando de 2-10.

O Dr. Donald F. Gleason foi o idealizador desse sistema de graduação, criado em 1966 e baseado somente no padrão arquitetural dos tumores (GLEASON, 1966; GLEASON; MELLINGER, 1974). Esse sistema vem sendo modificado ao longo dos tempos pela Sociedade Internacional de Patologia Urológica, porém ainda mantém suas premissas. O último consenso, realizado em 2014, propôs algumas modificações em critérios arquiteturais particulares e a introdução de grupos prognósticos (tabela 2) (EPSTEIN et al., 2016).

A força dos grupos prognósticos baseia-se na classificação mais acurada dos tumores e na simplificação das categorias. Este novo sistema de graduação e esta nova terminologia em grupos prognósticos já está adotada pela Organização Mundial de Saúde, edição de 2016 dos Tumores do Sistema Urinário e Órgãos Genitais Masculinos – Patologia e Genética (EPSTEIN et al., 2016).

Tabela 1 - Padrões arquiteturais – escores de Gleason.

Padrão 1:

Nódulo circunscrito composto por ácinos de tamanho médio, redondos a ovais, uniformes e separados.

Padrão 2:

Semelhante ao padrão 1, porém menos circunscrito, apresentando, em suas margens, mínima infiltração. As glândulas são mais frouxamente arranjadas e não tão uniformes quanto no padrão 1.

Padrão 3:

Unidades glandulares isoladas, tipicamente menores que no padrão 1 e 2, com infiltração em tecido prostático não neoplásico e marcante variação no tamanho e na forma.

Padrão 4:

Glândulas microacinares fusionadas ou mal definidas, com lúmen malformado; glândulas cribriformes ou hipernefomatóides.

Padrão 5:

Ausência de diferenciação glandular; neoplasia composta por lençóis sólidos, cordões ou células isoladas; comedonecrose com centro necrótico circundado por massas papilares, cribriformes ou sólidas.

Fonte: Adaptado de Epstein et al. (2005).

Tabela 2 - Graduação em grupos prognósticos.

Grupo 1 – escore de Gleason ≤ 6 .

Glândulas individuais isoladas bem formadas.

Grupo 2 – escore de Gleason $3 + 4 = 7$.

Predomínio de glândulas bem formadas associadas à componente menor de glândulas cribriformes / fusionadas / malformadas.

Grupo 3 – escore de Gleason $4 + 3 = 7$

Predomínio de glândulas cribriformes / fusionadas / malformadas associadas à componente menor de glândulas bem formadas.

Grupo 4 – escore de Gleason $4 + 4 = 8$ ou $3 + 5 = 8$ ou $5 + 3 = 8$.

Somente glândulas malformadas/cribriformes/fusionadas; ou predominantemente bem formadas associada à componente menor de glândulas malformadas/cribriformes/fusionadas; ou predominantemente malformadas/cribriformes/fusionadas associada à componente menor de glândulas bem formadas.

Grupo 5 – escores de Gleason 9 e 10.

Ausência de formação glandular (ou com necrose) com ou sem glândulas malformadas/cribriformes/fusionadas.

Fonte: Adaptado de Epstein et al. (2016).

1.2.4. Detecção precoce do câncer de próstata.

Detecção precoce refere-se ao encontro do câncer em suas fases iniciais, principalmente com o auxílio de exames laboratoriais. Com a introdução dos testes de detecção precoce no início dos anos 90 nos EUA, as taxas de morte por CP caíram. Contudo, não está claro se esta queda é resultado da detecção precoce ou das melhorias nos tratamentos desenvolvidos (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018b).

Outra questão a ser considerada é que, mesmo com a descoberta do câncer em suas fases iniciais, o médico, utilizando as atuais ferramentas disponíveis, ainda não consegue definir precisamente o quão rápido essa neoplasia pode crescer ou progredir, pois a doença apresenta um padrão heterogêneo, variando do indolente ao extremamente agressivo. Com isso, decisões terapêuticas são difíceis, visto que tratamentos cirúrgicos e radioterápicos mostram efeitos colaterais importantes e que podem afetar a qualidade de vida dos pacientes (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018b).

Segundo a *American Cancer Society*, médicos e pacientes precisam decidir juntos sobre a necessidade da realização de exames para detecção precoce do CP. Informações sobre incertezas, riscos e potenciais benefícios devem ser discutidos. Sugere-se que essa conversa deva acontecer: 1) com homens a partir dos 50 anos que apresentam risco médio e que possuam expectativa de vida maior que 10 anos; 2) com homens de mais de 45 anos com risco alto, isto é, pacientes com parentes de primeiro grau que tenham tido CP com menos de 65 anos; 3) e com aqueles com mais de 40 anos que apresentam risco muito alto, isto é, com parentes de primeiro grau tendo história de CP em idade precoce (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018c).

No Brasil não existem programas de rastreamento oficiais para o CP. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) não orienta este procedimento devido à falta de evidências científicas que comprovem que os benefícios sejam maiores que os efeitos colaterais (um dos principais e mais temidos é a disfunção erétil). No caso de demanda espontânea para testes de rastreamento, as orientações são para que sejam discutidos com o médico responsável todos os pormenores referentes ao diagnóstico precoce (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2017b).

A Sociedade Brasileira de Urologia, em nota oficial de outubro de 2017, manteve recomendações semelhantes as da *American Cancer Society*. Nelas, homens a partir de 50 anos devem procurar assistência especializada para avaliação. Já negros ou pacientes com história familiar positiva devem procurar seus médicos a partir dos 45 anos. E para aqueles

acima de 75 anos, o rastreamento somente é recomendado quando a expectativa de vida for maior que 10 anos. Em todos esses casos, o rastreamento deverá ser feito somente após ampla discussão de riscos e benefícios (TSODIKOV et al., 2017).

1.3. Biomarcadores prostáticos.

Embora os esforços para o correto manejo dos portadores de neoplasia maligna prostática sejam levados em consideração a partir do uso de diretrizes, continua existindo uma lacuna para caracterização definitiva tumoral. Nesse contexto, entra em ação a biologia molecular e a utilização de biomarcadores para complementar as ferramentas já então consagradas. Técnicas de uso constante em laboratórios de anatomia patológica, como imunohistoquímica (IHQ), podem ser usadas a um custo baixo. Portanto, o somatório de história clínica, toque retal, exames de imagem, biópsia por agulha e avaliação de biomarcadores tenta se aproximar ao máximo da realidade da doença, bem como estratificá-la e melhor conduzi-la.

1.3.1. ERG.

Erythroblast transformation-specific-related gene (ERG) é um membro da família dos fatores de transcrição do gene *ETS (erythroblast transformation-specific)*, com funções no desenvolvimento embrionário, proliferação celular, diferenciação, angiogênese, inflamação e apoptose (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2018a). Através de estudos de bioinformática, com o objetivo de descobrir candidatos à oncogenes em CP, foi evidenciada uma aberração cromossômica caracterizada pela fusão da região codificante do gene *ERG* com uma região regulatória do gene *TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2)*, pertencente à família das serina-proteases influenciadas por hormônios androgênicos. A fusão desses genes leva à sobreexpressão de fatores de transcrição pertencentes à família do gene *ETS* (TOMLINS et al., 2005).

Das alterações genômicas somáticas primárias no CP, a mais comum, ocorrendo em aproximadamente 50% dos tumores estudados, é a descrita por Tomlins et al. (2005). É um evento que ocorre precocemente na tumorigênese, baseado na observação de que virtualmente todas as células tumorais apresentam o mesmo rearranjo genético definido (CERVEIRA et al., 2006; FURUSATO et al., 2010; HAN et al., 2009; MOSQUERA et al., 2008; RUBIN; MAHER; CHINNAIYAN, 2011). Embora não seja evidente sua correlação independente como fator prognóstico em pacientes tratados por prostatectomia radical

(PETTERSSON et al., 2012), essa fusão pode modificar outras mutações relacionadas a diferentes desfechos clínicos (AHEARN et al., 2016; PETTERSSON et al., 2013).

1.3.2. *PTEN*.

Phosphatase and tensin homolog (*PTEN*) é um gene supressor tumoral encontrado na terceira banda da segunda região do braço longo do cromossomo 10 (10q23) (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2018b). Steck et al. (1997) e Li et al. (1997) foram os primeiros a descobrir um candidato a gene supressor tumoral, *MMAC1/PTEN*, que codifica uma proteína fosfatase. Em seguida, Li e Sun (1997) identificaram o gene *TEP1*, que codifica uma proteína com atividade tirosina fosfatase. Foram realizadas comparações nas sequências entre os genes *TEP1* e *MMAC1/PTEN*, que se mostraram idênticas. Pesquisas iniciais revelaram que o gene *PTEN* estava alterado em linhagens celulares tumorais de cérebro, próstata, mama e rim (LI et al., 1997; STECK et al., 1997), além de ter relação com subpopulações de indivíduos que possuem doença de Cowden (LIAW et al., 1997; NELEN et al., 1997; TSOU et al., 1997), uma síndrome familiar rara que confere alto risco para o câncer de mama. Síndrome Polipose Hamartomatososa e Síndrome Bannayan-Zonana também apresentaram relação com esse gene supressor tumoral (MARSH et al., 1997)

As funções do *PTEN* estão intrinsecamente relacionadas à via molecular PI3K/AKT (*phosphatidylinositide 3-kinases / protein kinase B* conhecida como AKT). Em esquema simplificado, um fator de crescimento tumoral, por exemplo, *insulin-like growth factor* (IGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF) ou *epidermal growth factor* (EGF), liga-se a um receptor de tirosina-quinase, situado na membrana celular. Este sofre dimerização e fosforilação cruzada, ativando, então, a PI3K, uma enzima transdutora de sinal, que se dirige para próximo à membrana celular onde encontra a PIP2 (*phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*), um fosfolípido componente da membrana celular. Esta sofre fosforilação transformando-se em PIP3 (*phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate*). A AKT, uma proteína-quinase serina/treonina específica, através de uma fosforilação promovida pela PIP3, torna-se ativada, e, portanto, exerce seus efeitos de crescimento celular por meio da indução da via mTOR (*mechanistic target of rapamycin*), do bloqueio da apoptose e através das vias MDM2 (*murine double minute 2*), BAD (*Bcl-2-associated death promoter*), NF-κB (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), entre outras, além de funções no controle do ciclo celular e metabolismo da glicose (EDLIND ;HSIEH, 2014). O *PTEN* atua

dentro dessa via metabólica como um agente que retira grupamentos fosfato do PIP3, bloqueando-o e rompendo, assim, com a cascata de eventos da via metabólica PI3K/AKT (EDLIND; HSIEH, 2014).

Vários mecanismos são responsáveis pela inativação do *PTEN* no contexto do CP, sendo a mutação por deleção a aberração genética mais comum, frequentemente focal e subclonal (GUMUSKAYA et al., 2013; KROHN et al., 2012; LOTAN et al., 2016). Contudo, outros meios podem alterar a regulação da expressão gênica do *PTEN*, incluindo fatores de transcrição, miRNA (*microRibonucleic acid*), RNA (*ribonucleic acid*) endógenos competitivos, metilação do DNA (*deoxyribonucleic acid*), além da fosforilação aberrante, ubiquitinação e acetilação (CARRACEDO; ALIMONTI; PANDOLFI, 2011).

1.3.3. A relação *ERG/PTEN* – sua importância.

O *PTEN* é o gene supressor tumoral mais frequentemente deletado nos CP (BERGER et al., 2011; GRASSO et al., 2012; LI et al., 1997; STECK et al., 1997; TAYLOR et al., 2010). Sua aberração está associada a características clínico-patológicas agressivas (ANTONARAKIS et al., 2012; BEDOLLA et al., 2007; CHAUX et al., 2012; LOTAN et al., 2011, 2013; YOSHIMOTO et al., 2007) e ao desenvolvimento de doença resistente à castração (CARVER et al., 2009; JIAO et al., 2007; MULHOLLAND et al., 2011; SHEN; ABATE-SHEN, 2007). Portanto, apresenta valor prognóstico e, por estar relacionado à via molecular PI3K/AKT, pode identificar pacientes com potencial benefício do uso de drogas inibidoras dessa via (AHEARN et al., 2016).

Embora a fusão dos genes *TMPRSS2-ERG* não esteja diretamente ligada a progressão letal na maioria dos estudos (PETTERSSON et al., 2012), existem evidências mostrando que o rearranjo gênico ligado ao fator de transcrição da família *ETS* pode modificar a associação com outros marcadores (PETTERSSON et al., 2013). Observa-se ainda perda de *PTEN* com maior frequência no grupo de cânceres que apresentam fusão *TMPRSS2-ERG* quando comparado ao grupo sem esta anomalia (BARBIERI et al., 2012; BISMAR et al., 2011; CARVER et al., 2009; KING et al., 2009; KROHN et al., 2012). Portanto, a observação conjunta de ambos os marcadores pode modificar os efeitos de como avaliar a progressão da doença, além de melhorar a estratificação de risco, guiando condutas terapêuticas mais acuradas e contribuindo para o conhecimento da biologia tumoral (AHEARN et al., 2016).

2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.

Este estudo visa caracterizar uma parte da população brasileira ainda não estudada em trabalhos relacionados a dois biomarcadores, ERG e PTEN, frequentemente alterados em CP. Com isso, será possível estabelecer associações com parâmetros clínico-patológicos ligados a agressividade tumoral, justificando a estratificação em subtipos moleculares. Os dados gerados podem ser úteis em trabalhos desenhados com desfechos clínicos específicos além de identificar uma classe de paciente que pode se beneficiar com drogas relacionais a vias moleculares em questão.

3. OBJETIVOS.

3.1. Gerais.

- Caracterizar os dados clínico-patológicos de uma amostra da população brasileira com adenocarcinoma usual da próstata.

3.2. Específicos.

- Avaliar por meio de imuno-histoquímica a expressão de ERG e PTEN em adenocarcinomas usuais da próstata.
- Avaliar a associação isolada de cada biomarcador com características clínico-patológicas.
- Avaliar a associação do conjunto ERG/PTEN com características clínico-patológicas, especialmente em relação aos escores de Gleason/grupos prognósticos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS.

4.1. Seleção de amostras.

Este trabalho trata-se de um estudo com delineamento observacional e transversal em que, após a aprovação do comitê de ética institucional dos autores, um total de 97 prostatectomias radicais (PR), realizadas entre os anos de 2013 e 2016, totalmente incluídas em blocos de parafina e com diagnóstico de adenocarcinoma acinar usual da próstata, foram selecionadas, de forma randômica, dos arquivos de um laboratório de patologia na cidade de Fortaleza. Dados de informações clínicas disponíveis e laudos histopatológicos foram avaliados. Com objetivo de enriquecer o estudo com amostras apresentando maiores de escores Gleason (Gleason ≥ 8), foram incluídas 22 ressecções transuretrais da próstata (RTUP), sem história de tratamento neoadjuvante nos registros avaliados. Casos com diagnóstico de adenocarcinoma ductal e carcinoma neuroendócrino de pequenas células não foram considerados. Todas as lâminas de hematoxilina e eosina (HE) foram reavaliadas por 2 patologistas (CLM e FT) para a escolha de áreas com tumor índice em PR e áreas com escores de Gleason mais alto em materiais de RTUP. Foi usada para graduação dos CP o último consenso da Sociedade Internacional de Patologia Urológica (EPSTEIN et al., 2016). As amostras foram divididas segundo os grupos prognósticos propostos, variando de 1 a 5, e agrupadas em escores de Gleason ≤ 6 , escores de Gleason = 7 e escores de Gleason ≥ 8 .

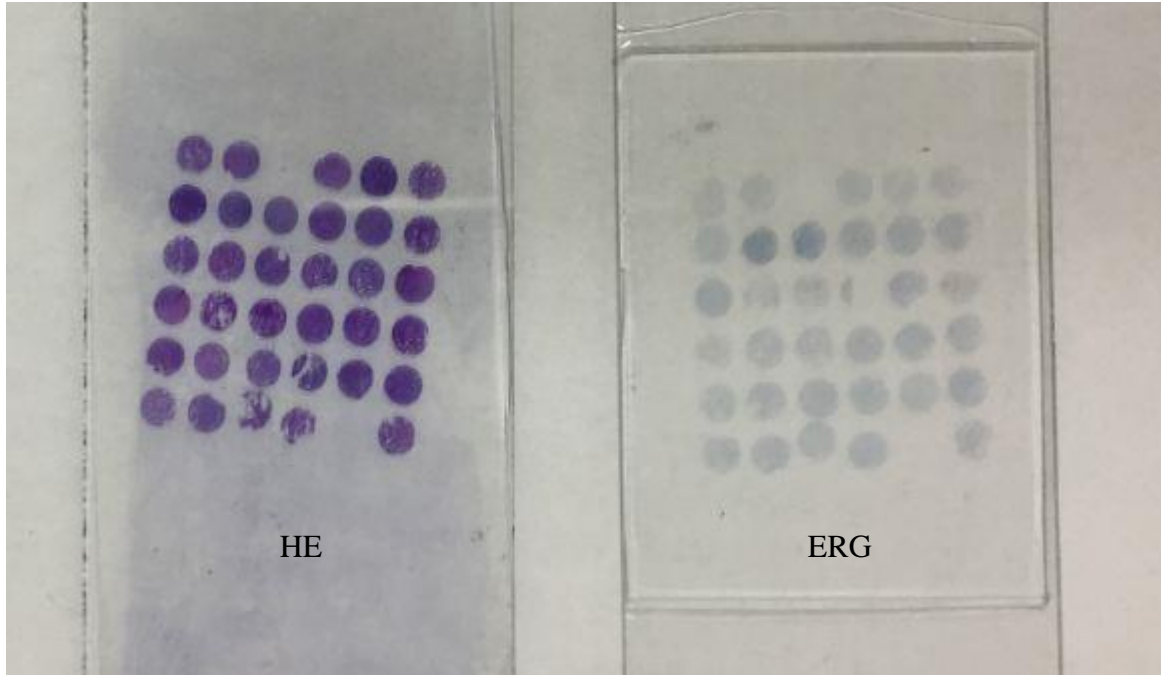
4.2. Construção do Tissue Microarray (TMA).

Dois *punches* de 2 mm cada foram realizados em áreas contendo tumor índice provenientes dos blocos de parafina das PR e de áreas com escores de Gleason mais alto dos blocos de parafina das RTUP, utilizando-se o conjunto Quick-Ray® - *manual tissue microarrayer* (Unitma Co., Ltd., Seoul, Korea). No total, 238 *punches* foram obtidos, sendo confeccionados 8 blocos de TMA. Foram adicionados em cada vértice dos TMA 1 *punch* de 2 mm contendo tecido prostático benigno, proveniente de PR não utilizadas neste trabalho, com o objetivo de servir de controle externo para reação IHQ. Micrótomo da marca LEICA RM2125 RTS foi utilizado para cortes em blocos de parafina.

4.3. Imuno-histoquímica.

Duas sessões consecutivas de 4 mm foram cortadas de cada bloco de parafina dos TMA construídos, sendo montadas 2 lâminas de vidro carregadas para uso em reação de imuno-histoquímica (figura 3). A reação para avaliação de PTEN foi realizada em plataforma automatizada Ventana BenchMark (Ventana Medical Systems, Tucson, United States), utilizando-se anticorpo de coelho monoclonal anti-PTEN (clone SP2018; Roche Diagnostics, United Kingdom). As marcações foram consideradas positivas quando 100% das células tumorais apresentavam expressão nuclear e citoplasmática intensa ou moderada. Células estromais e glândulas benignas foram usadas como controle de reação. Foram consideradas marcações negativas aquelas em que as células tumorais apresentavam expressão bastante reduzida ou ausência de marcação citoplasmática e nuclear. Foi considerado como perda de padrão homogêneo quando todas as células tumorais avaliáveis apresentavam ausência de expressão e perda de padrão heterogêneo quando parte das células tumorais expressava o marcador e parte não expressava (LOTAN et al., 2011). A reação para avaliação de ERG foi realizada em plataforma automatizada Ventana BenchMark ULTRA IHC/ISH (Ventana Medical Systems, Tucson, United States), utilizando-se anticorpo monoclonal de coelho anti-ERG (clone EP111, Dako, Santa Clara, CA). Foram consideradas marcações positivas as intensidades fraca, moderada ou forte dos núcleos das células tumorais observáveis. Foi considerada marcação negativa a ausência de expressão nuclear em células tumorais. Células endoteliais foram usadas como controle de reação (figura 4). Os casos em que as marcações foram consideradas duvidosas ou que não apresentavam células tumorais em cortes para imuno-histoquímica, tanto para ERG quanto para PTEN, não foram considerados para efeito estatístico, fato que ocorreu em duas amostras para avaliação de ERG e em 14 amostras para avaliação de PTEN. Cento e três casos apresentaram marcação observável simultânea para ambos os biomarcadores.

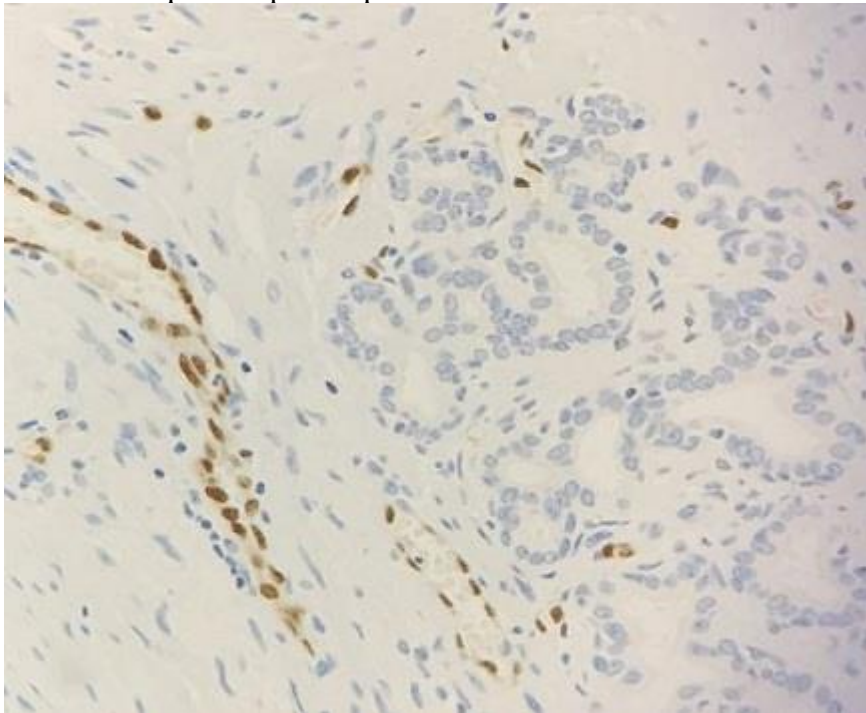
Figura 3 - Lâmina de hematoxilina/eosina e de silano com marcação para ERG.



Fonte: próprio autor (2018).

Notas: *HE* = hematoxilina e eosina.

Figura 4 - Controle interno representado por células endoteliais com núcleos positivos (reação imuno-histoquímica para expressão de ERG).



Fonte próprio autor (2018).

Nota: Aumento 400x.

4.4. Avaliação estatística.

Avaliação estatística foi realizada utilizando-se o software GraphPad Prisma, versão 6. Variáveis qualitativas nominais e ordinais foram avaliadas com teste de Fisher ou Qui-quadrado. Teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliação de normalidade em variáveis quantitativas. Teste T de Student e ANOVA one-way foram utilizados para variáveis quantitativas com distribuição normal; teste de Mann Whitey e Kruskal-Wallis foram utilizados para variáveis quantitativas sem distribuição normal. Foi considerado como nível de significância um $p \leq 0,05$.

4.5. Comitê de Ética.

O plano de pesquisa deste estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Christus – UNICHRISTUS após o preenchimento dos dados na Plataforma Brasil, sendo aprovado com número CAAE 61472016.3.0000.5049.

5. RESULTADOS.

5.1. Caracterização da população.

Foram incluídas no estudo 119 amostras, divididas em 97 (82%) PR e 22 (18%) RTUP. A média de idade com informações disponíveis foi de 71 anos (variando entre 51 e 99 anos). Apenas 13 amostras (13/119) apresentaram informações sobre PSA sérico pré-cirúrgico em nossos arquivos, com mediana de 8.5 ng/ml. Com relação aos agrupamentos em escores de Gleason, 31 (26%) amostras apresentaram escore de Gleason ≤ 6 , 50 (42%) escore de Gleason 7 e 38 (32%) escore de Gleason ≥ 8 . Quando estratificados em relação aos grupos prognósticos, 31 (26%) amostras encontravam-se no Grupo 1, 29 (24%) no grupo 2, 21 (18%) no grupo 3, 12 (10%) no grupo 4 e 26 (22%) no grupo 5. Peso prostático e volume tumoral percentual apresentaram mediana de 45g e 20% respectivamente. Extensão extraprostática, neoplasia intraepitelial prostática de alto grau (*high-grade prostatic intraepithelial neoplasia* - HGPIN) e invasão de vesícula seminal foram observadas em 35 (36%), 86 (89%) e 8 (8%) amostras respectivamente. Por fim, margens cirúrgicas, incisão capsular e invasão linfovascular foram observadas em 34 (35%), 29 (30%) e 5 (5%) amostras nessa ordem. Com relação ao estadiamento, 57 (59%) amostras apresentaram estadiamento T2 N0/Nx e 40 (41%) T3 N0/N1/Nx. Vide tabela 3 para resumo.

Tabela 3 - Características clínico-patológicas gerais.

Características:	N*	
Idade, média (max-min) (DP), anos:	115	71 (51-99) (9.2)
PSA#, mediana (q1, q3), ng/ml:	13	8.5 (6.3, 18.5)
Escore de Gleason, N (%):		
<i>Gleason ≤ 6</i>		31 (26)
<i>Gleason 7</i>		50 (42)
<i>Gleason ≥ 8</i>		38 (32)
Grupos prognósticos, N (%):	119	
<i>Grupo 1</i>		31 (26)
<i>Grupo 2</i>		29 (24)
<i>Grupo 3</i>		21 (18)
<i>Grupo 4</i>		12 (10)
<i>Grupo 5</i>		26 (22)
Procedimento, N (%):	119	
<i>PR</i>		97 (82)
<i>RTUP</i>		22 (18)
Peso prostático, mediana (q1, q3), gramas:	96	45 (35-55)
Volume tumoral percentual, mediana (q1, q3), percentual:	97	20 (10-25)
Extensão extraprostática presente, N (%):	96	35 (36)
HGPIN presente, N (%):	97	86 (89)
Invasão de vesícula seminal presente, N (%):	97	8 (8)
Margens cirúrgicas positivas, N (%):	97	34 (35)
Incisão capsular presente, N (%):	97	29 (30)
Invasão linfovascular presente, N (%):	97	5 (5)
Estadiamento, N (%):	97	
<i>T2 N0/Nx</i>		57 (59)
<i>T3 N0/N1/Nx</i>		40 (41)
ERG, N (%):	117	
<i>Negativo</i>		69 (59)
<i>Positivo</i>		48 (41)
PTEN, N (%):	105	
<i>Negativo</i>		40 (38)
<i>Positivo</i>		65 (62)
PTEN - padrão de negatividade, N (%):	40	
<i>Padrão homogêneo</i>		20 (50)
<i>Padrão heterogêneo</i>		20 (50)

Fonte: próprio autor (2018).

Notas: N*=número de casos com dados disponíveis. DP= desvio padrão. Q1, q3= intervalo interquartil. #= referente à dosagem de PSA pré-cirúrgico. PR = prostatectomia radical. RTUP=resssecção transuretral da próstata. HGPIN=neoplasia intraepitelial prostática de alto grau.

5.2. ERG e PTEN imuno-histoquímica e suas associações.

A expressão de ERG foi observada em 48 (41%) amostras. PTEN mostrou-se negativo em 40 (38%) amostras, sendo 20 (50%) de padrão homogêneo e 20 (50%) de padrão heterogêneo (vide tabela 3 e figuras 5 e 6). Quanto da associação ERG e variáveis clínico-patológicas, os agrupamentos em escores de Gleason demonstraram significância estatística ($p=0.0316$), com uma maior representação da expressão de ERG em escores de Gleason ≤ 6 . Os grupos prognósticos apresentaram tendência a associação, porém sem significância estatística ($p=0.0723$). Demais variáveis não demonstraram p satisfatório, com exceção do peso prostático ($p=0.0007$), que apresentou associação com ausência de expressão (tabela 4).

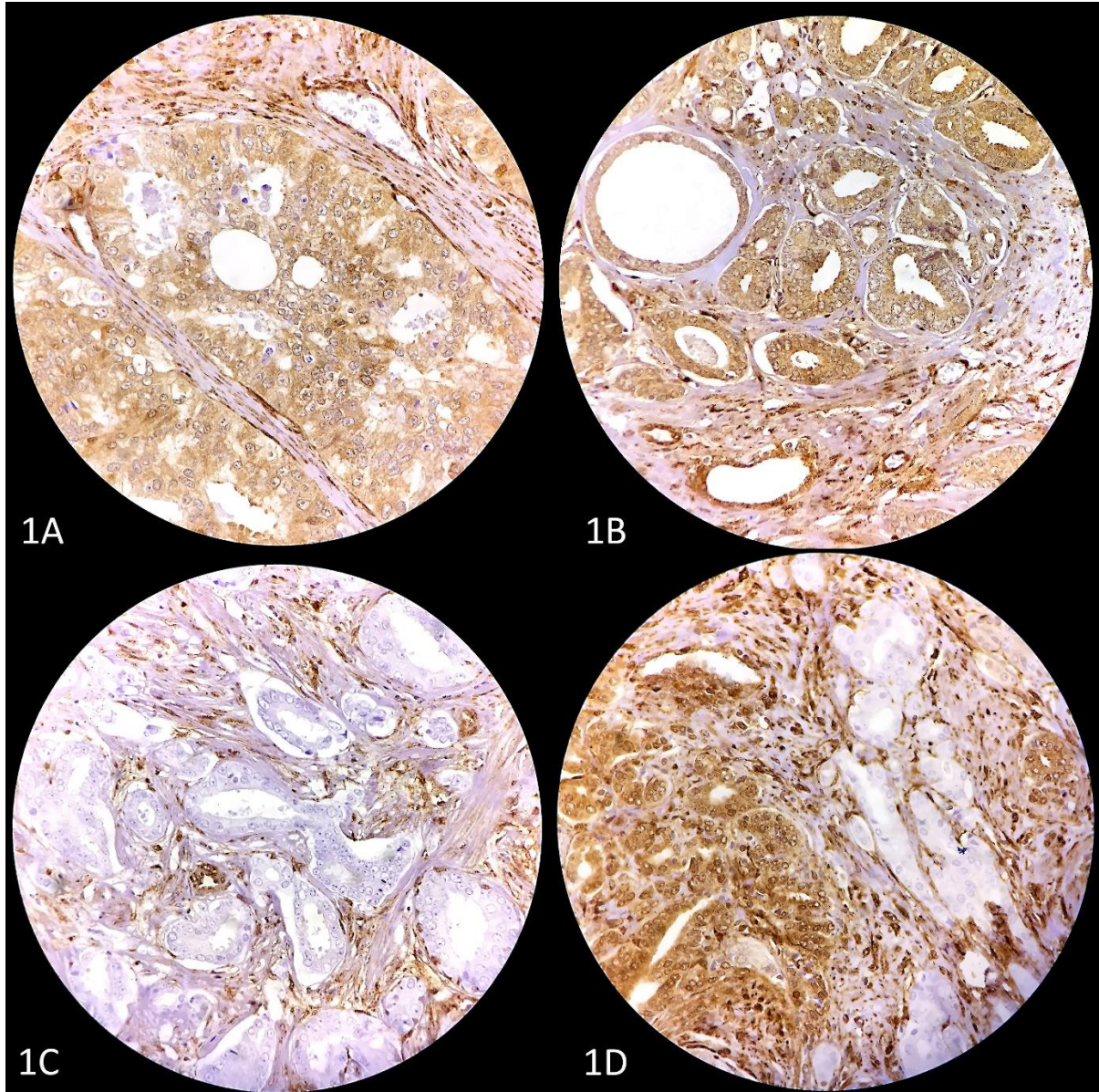
Tabela 4 - ERG imuno-histoquímica e suas associações clínico-patológicas.

Características:	N*	ERG negativo (n=69)	ERG positivo (n=48)	<i>p</i>
Idade, média (max-min) (DP), anos:	113	72 (9.3)	71 (9.0)	0.4915
PSA#, mediana (q1, q3), ng/ml:	12	7.7 (6.3, 68.1)	15.5 (8.4, 19.3)	0.5434
Escore de Gleason, N (%):	117			0.0316
<i>Gleason ≤ 6</i>		13 (19)	17 (35)	
<i>Gleason 7</i>		36 (52)	14 (29)	
<i>Gleason ≥ 8</i>		20 (29)	17 (35)	
Grupos prognósticos, N (%):	117			0.0723
<i>Grupo 1</i>		13 (19)	17 (35)	
<i>Grupo 2</i>		19 (28)	10 (21)	
<i>Grupo 3</i>		17 (25)	4 (8)	
<i>Grupo 4</i>		5 (7)	6 (13)	
<i>Grupo 5</i>		15 (22)	11 (23)	
Procedimento, N (%):	117			0.3491
<i>PR</i>		58 (84)	37 (77)	
<i>RTUP</i>		11 (16)	11 (23)	
Peso prostático, mediana (q1, q3), gramas:	94	50 (40, 60)	40 (35, 45)	0.0007
Volume tumoral percentual, mediana (q1, q3), percentual:	95	20 (15,25)	20 (10, 25)	0.2772
Extensão extraprostática presente, N (%):	94	21 (37)	13 (35)	1
HGPIN presente, N (%):	95	51 (88)	34 (92)	0.7355
Invasão de vesícula seminal presente, N (%):	95	7 (12)	1 (3)	0.1441
Margens cirúrgicas positivas, N (%):	95	22 (38)	12 (32)	0.6636
Incisão capsular presente, N (%):	95	17 (29)	11 (30)	1
Invasão linfovascular presente, N (%):	95	3 (5)	2 (5)	1
Estadiamento, N (%):	95			1
<i>T2 N0/Nx</i>		34 (59)	22 (59)	
<i>T3 N0/N1/Nx</i>		24 (41)	15 (41)	

Fonte: próprio autor (2018).

Notas: N*=número de casos com dados disponíveis. DP= desvio padrão. Q1, q3= intervalo interquartil. #= referente à dosagem de PSA pré-cirúrgico. PR = prostatectomia radical. RTUP= ressecção transuretral da próstata. HGPIN= neoplasia intraepitelial prostática de alto grau. Testes estatísticos: idade (teste T de Student); PSA, peso prostático e volume tumoral percentual (Teste de Mann-Whitney); escores de Gleason e grupos prognósticos (Qui-quadrado); procedimento, extensão extraprostática, HGPIN, invasão de vesícula seminal, margens cirúrgicas, incisão capsular, invasão angiolímfática e estadiamento (teste de Fisher).

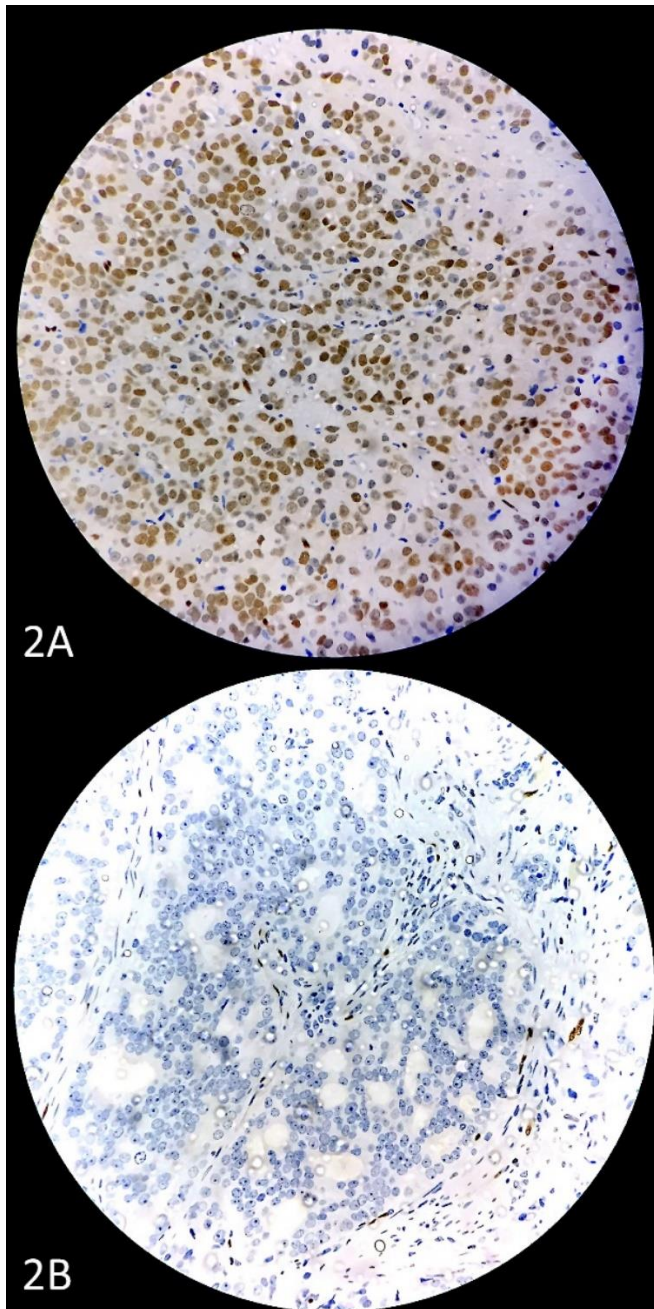
Figura 5 - Representação imuno-histoquímica (PTEN).



Fonte: Próprio autor (2018).

Notas: Em 1A presença de positividade em tumor com escore de Gleason padrão arquitetural 4. Em 1B presença de positividade em tumor com escore de Gleason padrão arquitetural 3. Em 1C, perda homogênea em tumor com escore de Gleason padrão arquitetural 3. Em 1D, perda heterogênea em tumor com escore de Gleason padrão arquitetural 3.

Figura 6 - Representação imuno-histoquímica (ERG).



Fonte: próprio autor (2018).

Notas: Em 2A, presença de positividade nuclear em área tumoral. Em 2B, ausência de marcação nuclear em foco tumoral. Observar positividade em células endoteliais, representando controle interno positivo.

Quanto da associação PTEN e variáveis clínico-patológicas, o volume tumoral percentual ($p=0.0659$), a invasão linfovascular ($p=0.0710$) e o estadiamento ($p=0.0773$) apresentaram tendência a associação, porém não foram satisfatórios em relação a significância estatística. Demais variáveis não demonstraram um p estatisticamente satisfatório. Vide resumo em tabela 5.

Tabela 5 - PTEN imuno-histoquímica e suas associações clínico-patológicas.

Características:	N*	PTEN negativo (n=40)	PTEN positivo (n=65)	<i>p</i>
Idade, média (max-mín) (DP), anos:	102	72 (8)	71 (9.8)	0.8629
PSA#, mediana (q1, q3), ng/ml:	13	8.5 (7, 52.5)	7,6 (3.5, 18.5)	0.4973
Escore de Gleason, N (%):	105			0.1905
<i>Gleason</i> ≤ 6		6 (15)	20 (31)	
<i>Gleason</i> 7		20 (50)	27 (42)	
<i>Gleason</i> ≥ 8		14 (35)	18 (28)	
Grupos prognósticos, N (%):	105			0.1769
<i>Grupo 1</i>		6 (15)	20 (31)	
<i>Grupo 2</i>		13 (33)	13 (20)	
<i>Grupo 3</i>		7 (18)	14 (22)	
<i>Grupo 4</i>		6 (15)	4 (6)	
<i>Grupo 5</i>		8 (20)	14 (22)	
Procedimento, N (%):	105			1
<i>PR</i>		34 (85)	54 (83)	
<i>RTUP</i>		6 (15)	11 (17)	
Peso prostático, mediana (q1, q3), gramas:	87	45 (35, 60)	40 (35, 55)	0.479
Volume tumoral percentual, mediana (q1, q3), percentual:	88	25 (15, 30)	20 (13.7, 25)	0.0659
Extensão extraprostática presente, N (%):	88	17 (50)	17 (31)	0.1155
HGPIN presente, N (%):	88	30 (88)	48 (89)	1
Invasão de vesícula seminal presente, N (%):	88	4 (12)	3 (6)	0.4224
Margens cirúrgicas positivas, N (%):	88	9 (26)	21 (39)	0.2573
Incisão capsular presente, N (%):	88	8 (24)	16 (30)	0.6267
Invasão linfovascular presente, N (%):	88	4 (12)	1 (2)	0.0710
Estadiamento, N (%):	88			0.0773
<i>T2 N0/Nx</i>		15 (44)	35 (65)	
<i>T3 N0/N1/Nx</i>		19 (56)	19 (35)	

Fonte: próprio autor (2018).

Notas: N*=número de casos com dados disponíveis. DP= desvio padrão. Q1, q3= intervalo interquartil. #= referente à dosagem de PSA pré-cirúrgico. PR = prostatectomia radical. RTUP=resssecção transuretral da próstata. HGPIN=neoplasia intraepitelial prostática de alto grau. Testes estatísticos: idade (teste T de Student); PSA, peso prostático e volume tumoral percentual (Teste de Mann-Whitney); escores de Gleason e grupos prognósticos (Qui-quadrado); procedimento, extensão extraprostática, HGPIN, invasão de vesícula seminal, margens cirúrgicas, incisão capsular, invasão angiolinfática e estadiamento (teste de Fisher).

5.3. Estratificação ERG/PTEN e suas associações.

Quando dividimos 2 grupos, ERG positivo e ERG negativo, e avaliamos a expressão de PTEN, observamos a ausência de expressão deste biomarcador em 20 (32%) amostras no grupo ERG negativo e 19 (48%) no grupo ERG positivo, representando um enriquecimento de ausência de expressão de PTEN no grupo com expressão de ERG, embora não tenha sido observado significância estatística (vide tabela 6).

Tabela 6 - Tabela de contingência ERG x PTEN.

	ERG negativo	ERG positivo	Total:
PTEN negativo	n=20 (32%)	n=19 (48%)	n=39 (100%)
PTEN positivo	n=43 (68%)	n=21 (53%)	n=64 (100%)
Total:	n=63 (100%)	n=40 (100%)	n=103 (100%)

Fonte: próprio autor

Nota: teste de Fisher com $p=0.1447$.

Ao considerarmos todos os perfis imuno-histoquímicos possíveis (ERG-/PTEN-; ERG-/PTEN+; ERG+/PTEN-; ERG+/PTEN+) e os associarmos com as variáveis clínico-patológicas observadas, obtivemos significância estatística com relação aos agrupamentos referentes aos escores de Gleason ($p=0.0131$) e aos grupos prognósticos ($p=0.0369$). Interessante observar a relação do grupo ERG+/PTEN+ com um grande percentual de amostras com escores de Gleason ≤ 6 / grupo prognóstico 1. Peso prostático também demonstrou significância estatística com $p=0.0123$, com amostras sem a expressão de ERG e independentes da expressão de PTEN com medianas de peso maiores. Demais associações não foram satisfatórias estatisticamente. Vide resumo em tabela 7.

Tabela 7 - Perfil ERG/PTEN imuno-histoquímica e suas associações clínico-patológicas.

Características:	N*	ERG- /PTEN- (n=20)	ERG- /PTEN+ (n=43)	ERG+ /PTEN- (n=19)	ERG+ /PTEN+ (n=21)	p
Idade, média (max-min) (DP), anos:	100	72 (8.2)	72 (10.2)	71 (7.7)	69 (9.1)	0.6390
PSA#, mediana (q1, q3), ng/ml:	12	8 (7, 68.1)	7 (2, 164.1)	17 (17, 17)	14 (6.5, 20)	-
Escore de Gleason, N (%):	103					0.0131
<i>Gleason ≤ 6</i>		2 (10)	8 (19)	4 (21)	11 (52)	
<i>Gleason 7</i>		13 (65)	23 (53)	7 (37)	4 (19)	
<i>Gleason ≥ 8</i>		5 (25)	12 (28)	8 (42)	6 (29)	
Grupos prognósticos, N (%):	103					0.0369
<i>Grupo 1</i>		2 (10)	8 (19)	4 (21)	11 (52)	
<i>Grupo 2</i>		7 (35)	12 (28)	6 (32)	1 (5)	
<i>Grupo 3</i>		6 (30)	11 (26)	1 (5)	3 (14)	
<i>Grupo 4</i>		1 (5)	3 (7)	4 (21)	1 (5)	
<i>Grupo 5</i>		4 (20)	9 (21)	4 (21)	5 (24)	
Procedimento, N (%):	103					0.9866
<i>PR</i>		17 (85)	36 (84)	16 (84)	17 (81)	
<i>RTUP</i>		3 (15)	7 (16)	3 (16)	4 (9)	
Peso prostático, mediana (q1, q3), gramas:	85	50 (35, 62.5)	50 (40, 58.7)	40 (35, 50)	35 (30, 40)	0.0123
Volume tumoral percentual, mediana (q1, q3), percentual:	86	25 (12.5, 30)	20 (15, 25)	20 (15, 28.7)	15 (10, 22.5)	0.2608
Extensão extraprostática presente, N (%):	86	10 (59)	10 (28)	6 (38)	7 (41)	0.1889
HGPIN presente, N (%):	86	15 (88)	32 (89)	15 (94)	15 (88)	0.9442
Invasão de vesícula seminal presente, N (%):	86	4 (24)	2 (6)	0 (0)	1 (6)	0.0646
Margens cirúrgicas positivas, N (%):	86	5 (29)	14 (39)	4 (25)	7 (41)	0.6909
Incisão capsular presente, N (%):	86	5 (29)	8 (22)	3 (19)	7 (41)	0.4290
Invasão linfovascular presente, N (%):	86	2 (12)	1 (3)	2 (12)	0 (0)	0,2550
Estadiamento, N (%):	86					0.3669
<i>T2 N0/Nx</i>		7 (41)	23 (64)	8 (50)	11 (65)	
<i>T3 N0/N1/Nx</i>		10 (59)	13 (36)	8 (50)	6 (35)	

Fonte: próprio autor (2018).

Notas: N*=número de casos com dados disponíveis. PTEN- = casos referentes à PTEN com perda homogênea e heterogênea. DP= desvio padrão. Q1, q3= intervalo interquartil. #= referente à dosagem de PSA pré-cirúrgico. PR = prostatectomia radical. RTUP=resssecção transuretral da próstata. HGPIN=neoplasia intraepitelial prostática de alto grau. Testes estatísticos: idade (teste ANOVA one-way); PSA (não foi possível realização por critérios matemáticos próprios do teste de Kruskal-Wallis); peso prostático e volume tumoral percentual (teste de Kruskal-Wallis); escores de Gleason e grupos prognósticos, procedimento, extensão extraprostática, HGPIN, invasão de vesícula seminal, margens cirúrgicas, incisão capsular, invasão angiolímfática e estadiamento (teste de Qui-quadrado).

6. DISCUSSÃO.

As atuais ferramentas disponíveis como escores de Gleason, estadiamento e PSA sérico são insuficientes para uma acurada estratificação dos pacientes. Em virtude do CP ser uma doença heterogênea, com formas indolentes e agressivas, não é possível prever com exatidão qual o comportamento clínico dos pacientes, principalmente naqueles hoje classificados como baixo risco (COOPERBERG et al., 2009; D'AMICO et al., 1998). Nesse cenário, biomarcadores são utilizados como elementos que possibilitam conhecer melhor os mecanismos biológicos, atuando de forma diagnóstica, preditiva e/ou prognóstica (ARORA; BARBIERI, 2018). Além disso, a identificação do perfil étnico/racial também se torna fundamental para o conhecimento da doença, pois populações diferentes podem expressar a neoplasia de forma distinta com relação ao comportamento clínico (POWELL; BOLLIG-FISCHER, 2013; TAN; MOK; REBBECK, 2016).

A fusão *TMPRSS2-ERG* ocorre em aproximadamente 36-78% dos casos de CP (BOSTROM et al., 2015; SHAH et al., 2015; TOMLINS et al., 2005). Ambos esses genes estão localizados no cromossomo 21 e distam 3 megabases um do outro. Deleções e menos comumente translocações justificam a alta prevalência de fusões entre esses dois genes (TU et al., 2007). A observação desse rearranjo se dá principalmente por hibridização in situ por fluorescência (FISH, do inglês *fluorescence in situ hybridization*), porém métodos de IHQ já se provaram ser confiáveis e úteis para detecção das alterações da proteína ERG (MINNER et al., 2011; PETTERSSON et al., 2012). Nosso estudo evidenciou expressão de ERG em 41% (48/117) das amostras, sendo compatível com média geral de outros trabalhos (BOSTROM et al., 2015; SHAH et al., 2015; TOMLINS et al., 2005). Em relação as associações clínico-patológicas foi observada associação significativa com os agrupamentos em escores de Gleason ($p=0.0316$), verificando-se uma expressão mais evidente em amostras com Gleason ≤ 6 , além de associação com peso prostático ($p=0,0007$), apresentando pesos maiores ligados a ausência de expressão. Os dados da literatura são conflitantes, mostrando variações nas associações entre os rearranjos *TMPRSS2-ERG* e variáveis clínico patológicas. Demichelis et al. (2007), baseados em uma coorte com CP localizado, mostraram que pacientes no grupo com fusão positiva, observada por FISH, apresentavam associação com escores de Gleason de mais alto grau e morte por doença prostática específica, sugerindo um fenótipo mais agressivo (DEMICHELIS et al., 2007). Rubio-Briones et al. (2010) analisaram 226 amostras de CP tratados por PR com um média de segmento de 84 meses, sendo a fusão *TMPRSS2-ERG* evidenciada por RT-PCR. Nenhuma associação com características clínico-patológicas foi

evidenciada. Contudo, quando os pacientes eram estratificados em relação ao *status* de fusão, diferentes variáveis clínico-patológicas definiram cada grupo com relação a sobrevida livre de progressão bioquímica (RUBIO-BRIONES et al., 2010). (Esgueva et al. (2010), usando FISH, demonstraram a presença de rearranjo *TMPRSS2-ERG* em 53% das amostras de um coorte de PR, não observando também associações com características clínico-patológicas. Todavia, não foram observadas associações com desfechos clínicos pertinentes (ESGUEVA et al., 2010).

PTEN é um gene supressor tumoral que se encontra alterado em torno de 18-42% dos CP. Sua inativação libera a via PI3K e subsequentemente a via mTOR, a qual apresenta como funções finais, por exemplo, o crescimento celular e a proliferação (EDLIND; HSIEH, 2014). Assim como o rearranjo *TMPRSS2-ERG*, a detecção por meio de IHQ é uma forma custo-efetiva mais viável e com excelente correlação com o FISH (LOTAN et al., 2011). Lotan et al. (2011) mostraram por meio de IHQ que a não expressão de *PTEN* estava associada ao aumento do estadiamento patológico (41% das amostras *PTEN* negativo eram estadio pT3bN0) e a escores de Gleason mais altos (45% das amostras *PTEN* negativo apresentavam escores de Gleason 8-10) (LOTAN et al., 2011). Ahearn et al. (2016), estudando a relação entre biomarcadores (*ERG* e *PTEN*) e doença letal, evidenciaram, por meio de IHQ, a não expressão de *PTEN* em 25% das amostras, sendo 16% com padrão homogêneo e 9% de padrão heterogêneo, e que a perda homogênea de *PTEN* apresentava associação com escores de Gleason alto e estadiamento clínico e patológico avançado (AHEARN et al., 2016). Nosso estudo evidenciou uma ausência de expressão de *PTEN* em 38% (40/105) das amostras, com padrão homogêneo e heterogêneo na ordem de 50%. Quanto da associação *PTEN* e variáveis clínico-patológicas, o volume tumoral percentual ($p=0.0659$), a invasão linfovascular ($p=0.0710$) e o estadiamento ($p=0.0773$) apresentaram tendência à associação, porém não foram satisfatórios em relação a significância estatística. Demais variáveis não demonstraram um p estatisticamente satisfatório.

Diversos estudos avaliaram a relação entre esses dois biomarcadores. Modelos animais mostraram que ratos transgênicos para *TMPRSS2-ERG* desenvolvem HGPIN somente quando a via PI3K está ativada, sugerindo uma cooperação entre essas alterações para o desenvolvimento do CP e levantando-se a hipótese de que mutações no gene *ERG* conduzem à propriedades invasivas sem afetar a proliferação celular, contribuindo para a progressão do CP (CARVER et al., 2009; ULLMAN et al., 2018). Em humanos, mutações no gene *PTEN* tendem a ocorrer após a mutação no gene *ERG* (GUMUSKAYA et al., 2013). No entanto o significado clínico da associação *ERG-PTEN* é controverso (AHEARN et al., 2016;

YOSHIMOTO et al., 2008). Yoshimoto et al. (2008), utilizando FISH para avaliação de rearranjos *TMPRSS2-ERG* e deleções no gene *PTEN*, em uma análise retrospectiva com PR, observaram que o grupo com deleção de *PTEN* e fusão de *TMPRSS2-ERG* apresentava associação com recorrência bioquímica, propondo a estratificação da coorte em 3 grupos prognósticos: 1 – pior grau genômico, representado por fusão *TMPRSS2-ERG/PTEN* deletado; 2 – grau genômico intermediário, representado por somente uma mutação presente; 3 – grau genômico favorável, quando não houver mutação de ambos os genes (YOSHIMOTO et al., 2008). Ahearn et al. (2016), utilizando IHQ como meio técnico para avaliar tanto ERG como PTEN, puderam observar que somente no grupo ERG negativo / PTEN negativo houve associação com progressão letal como desfecho clínico (AHEARN et al., 2016). Em ambos os trabalhos citados acima o grupo ERG positivo / PTEN perdido apresentava-se com maior representação, porém com associações prognósticas diferentes em cada estudo (AHEARN et al., 2016; YOSHIMOTO et al., 2008). Nosso trabalho mostrou 48% (19/40) de perda de PTEN no grupo ERG positivo e 32% (20/63) no grupo ERG negativo, evidenciando também um enriquecimento de perda de PTEN no grupo ERG positivo. No que se refere ao perfil imuno-histoquímico em conjunto e sua associação com características clínicas e patológicas, podemos observar em nosso estudo somente significância estatística referente ao escore de Gleason, particularmente no grupo ERG+/PTEN+, com uma maior frequência relativa de casos com escores de Gleason de baixo grau (grupo prognóstico 1 ou escores de Gleason ≤ 6), sugerindo melhor prognóstico.

O CP apresenta comportamentos clínicos diferentes em populações distintas. Pacientes afrodescendentes apresentam doença clínica mais agressiva quando comparados aos caucasianos (POWELL et al., 2010). A prevalência de subtipos moleculares varia entre essas populações e pode justificar as diferenças de comportamentos clínicos (TOSOIAN et al., 2017). A fusão *TMPRSS2-ERG* é menos frequente em afrodescendentes (KHANI et al., 2014; MAGI-GALLUZZI et al., 2011), assim como a prevalência de alterações no gene *PTEN* (KHANI et al., 2014; LINDQUIST et al., 2016). No trabalho de Tosoian et al. (2017), as frequências de ERG e PTEN, avaliadas por meio de IHQ, foram de fato menores em pacientes afrodescendentes quando comparados aos caucasianos (18% em afrodescendentes e 34% em caucasianos, referentes a perda de PTEN; 25% em afrodescendentes e 52% em caucasianos, referentes a expressão de ERG). Além disso, foi estudada a relação desses biomarcadores com o desenvolvimento de recorrência bioquímica em afrodescendentes, observando-se que a expressão de ERG não apresentava associação com desfecho clínico ($p=0.5$) e que a ausência

de expressão de PTEN mostrava associação, resultados semelhantes aos de caucasianos (TOSOIAN et al., 2017).

Existem limitações em nosso trabalho principalmente com relação ao tamanho da amostra e a ausência de seguimento dos pacientes, com ausência de informações sobre recorrência bioquímica, metástases e sobrevida livre de doença. Contudo, em virtude de formar uma base para caracterização de uma amostra da população brasileira ainda sem esse tipo de informação, trabalhos futuros podem usar esses dados para associações com desfechos clínicos melhor avaliados.

Concluindo, a determinação do perfil molecular (ERG/PTEN) dos CP associada ao conhecimento da doença em populações particulares pode ajudar na estratificação de risco, conduzindo decisões terapêuticas mais particularizadas e evitando os efeitos deletérios do sobretratamento, além de contribuir para o conhecimento daqueles que poderiam se beneficiar de drogas alvo em desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

- ADJAKLY, M. et al. Prostate cancer: The main risk and protective factors-Epigenetic modifications. **Ann Endocrinol (Paris)**, v. 76, n. 1, p. 25–41, 2015.
- AHEARN, T. U. et al. A Prospective Investigation of PTEN Loss and ERG Expression in Lethal Prostate Cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 108, n. 2, 2016.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Can Prostate Cancer Be Found Early?** Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/prostate-cancer/detection-diagnosis-staging/detection.html>>. Acesso em: 7 jan. 2018a.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **Finding Prostate Cancer Early.** Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/prostate-cancer/early-detection/finding-prostate-cancer-early.html>>. Acesso em: 7 jan. 2018b.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **American Cancer Society Recommendations for Prostate Cancer Early Detection.** Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/prostate-cancer/early-detection/acs-recommendations.html>>. Acesso em: 7 jan. 2018c.
- ANTONARAKIS, E. S. et al. An immunohistochemical signature comprising PTEN, MYC, and Ki67 predicts progression in prostate cancer patients receiving adjuvant docetaxel after prostatectomy. **Cancer**, v. 118, n. 24, p. 6063–6071, 2012.
- ARORA, K.; BARBIERI, C. E. Molecular Subtypes of Prostate Cancer. **Curr Oncol Rep**, v. 20, n. 8, p. 58, 2018.
- BARBIERI, C. E. et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. **Nat Genet**, v. 44, n. 6, p. 685–689, 2012.
- BEDOLLA, R. et al. Determining risk of biochemical recurrence in prostate cancer by immunohistochemical detection of PTEN expression and Akt activation. **Clin Cancer Res**, v. 13, n. 13, p. 3860–3867, 2007.
- BERGER, M. F. et al. The genomic complexity of primary human prostate cancer. **Nature**, v. 470, n. 7333, p. 214–220, 2011.
- BHAVSAR, A.; VERMA, S. Anatomic Imaging of the Prostate. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 728539, 2014.
- BISMAR, T. A. et al. PTEN genomic deletion is an early event associated with ERG gene rearrangements in prostate cancer. **BJU Int**, v. 107, n. 3, p. 477–485, 2011.
- BOSTROM, P. J. et al. Genomic Predictors of Outcome in Prostate Cancer. **Eur Urol**, v. 68, n. 6, p. 1033–1044, 2015.
- BRATT, O. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. **J Urol**, v. 168, n. 3, p. 906–913, 2002.

CARRACEDO, A.; ALIMONTI, A.; PANDOLFI, P. P. PTEN level in tumor suppression: how much is too little? **Cancer Res**, v. 71, n. 3, p. 629–633, 2011.

CARVER, B. S. et al. Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. **Nat Genet**, v. 41, n. 5, p. 619–624, 2009.

CERVEIRA, N. et al. TMPRSS2-ERG gene fusion causing ERG overexpression precedes chromosome copy number changes in prostate carcinomas and paired HGPIN lesions. **Neoplasia**, v. 8, n. 10, p. 826–832, 2006.

CHAUX, A. et al. Loss of PTEN expression is associated with increased risk of recurrence after prostatectomy for clinically localized prostate cancer. **Mod Pathol**, v. 25, n. 11, p. 1543–1549, 2012.

CHUNG, W. K.; LEIBEL, R. L. The links between obesity, leptin, and prostate cancer. **Cancer J**, v. 12, n. 3, p. 178–181, 2006.

COOPERBERG, M. R. et al. Risk assessment among prostate cancer patients receiving primary androgen deprivation therapy. **J Clin Oncol**, v. 27, n. 26, p. 4306–4313, 2009.

CUSSENOT, O.; CANCEL-TASSIN, G. [Update on genetic predisposition to prostate cancer]. **Bull Cancer**, v. 102, n. 1, p. 53–56, 2015.

D'AMICO, A. V. et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. **JAMA**, v. 280, n. 11, p. 969–974, 1998.

DEMICHELIS, F. et al. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. **Oncogene**, v. 26, n. 31, p. 4596–4599, jul. 2007.

DESGRANDCHAMPS, F.; BASTIEN, L. [Nutrition, dietary supplements and prostate cancer]. **Prog Urol**, v. 20, n. 8, p. 560–565, 2010.

EDLIND, M. P.; HSIEH, A. C. PI3K-AKT-mTOR signaling in prostate cancer progression and androgen deprivation therapy resistance. **Asian J Androl**, v. 16, n. 3, p. 378–386, 2014.

EELES, R. A. et al. Familial prostate cancer: the evidence and the Cancer Research Campaign/British Prostate Group (CRC/BPG) UK Familial Prostate Cancer Study. **Br J Urol**, v. 79 Suppl 1, p. 8–14, 1997.

ENDOGENOUS, H. et al. Endogenous sex hormones and prostate cancer: a collaborative analysis of 18 prospective studies. **J Natl Cancer Inst**, v. 100, n. 3, p. 170–183, 2008.

EPSTEIN, J. I. et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. **Am J Surg Pathol**, v. 29, n. 9, p. 1228–1242, 2005.

- EPSTEIN, J. I. et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. **Am J Surg Pathol**, v. 40, n. 2, p. 244–252, 2016.
- ESGUEVA, R. et al. Prevalence of TMPRSS2-ERG and SLC45A3-ERG gene fusions in a large prostatectomy cohort. **Mod Pathol**, v. 23, n. 4, p. 539–546, 2010.
- FAIR, W. R.; FLESHNER, N. E.; HESTON, W. Cancer of the prostate: a nutritional disease? **Urology**, v. 50, n. 6, p. 840–848, 1997.
- FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in
- GLOBOCAN 2012. **Int J Cancer**, v. 136, n. 5, p. E359-86, 2015.
- FURUSATO, B. et al. ERG oncoprotein expression in prostate cancer: clonal progression of ERG-positive tumor cells and potential for ERG-based stratification. **Prostate Cancer Prostatic Dis**, v. 13, n. 3, p. 228–237, 2010.
- GLEASON, D. F. Classification of prostatic carcinomas. **Cancer Chemother Rep**, v. 50, n. 3, p. 125–128, 1966.
- GLEASON, D. F.; MELLINGER, G. T. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. **J Urol**, v. 111, n. 1, p. 58–64, 1974.
- GRASSO, C. S. et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer. **Nature**, v. 487, n. 7406, p. 239–243, 2012.
- GRONBERG, H. Prostate cancer epidemiology. **Lancet**, v. 361, n. 9360, p. 859–864, 2003.
- GUMUSKAYA, B. et al. Assessing the order of critical alterations in prostate cancer development and progression by IHC: further evidence that PTEN loss occurs subsequent to ERG gene fusion. **Prostate Cancer Prostatic Dis**, v. 16, n. 2, p. 209–215, 2013.
- HAN, B. et al. Fluorescence in situ hybridization study shows association of PTEN deletion with ERG rearrangement during prostate cancer progression. **Mod Pathol**, v. 22, n. 8, p. 1083–1093, 2009.
- HOWLADER, N.; NOONE, A. M.; NIH. **Prostate Cancer - Cancer Stat Facts**. Disponível em: <<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>>. Acesso em: 8 out. 2018.
- HRICAK, H.; SCARDINO, P. T. **Prostate cancer**. Cambridge, UK ; New York: Cambridge University Press, 2009.
- HSING, A. W. Hormones and prostate cancer: what's next? **Epidemiol Rev**, v. 23, n. 1, p. 42–58, 2001.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estimativa 2018-Incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: [s.n.].

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Detecção precoce do câncer de próstata.**

Disponível em:

<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/prostata/deteccao_precoce>. Acesso em: 5 ago. 2018b.

IRVINE, R. A. et al. The CAG and GGC microsatellites of the androgen receptor gene are in linkage disequilibrium in men with prostate cancer. **Cancer Res**, v. 55, n. 9, p. 1937–1940, 1995.

JANUS, C.; LIPPERT, M. Benign prostatic hyperplasia: appearance on magnetic resonance imaging. **Urology**, v. 40, n. 6, p. 539–541, 1992.

JIAO, J. et al. Murine cell lines derived from Pten null prostate cancer show the critical role of PTEN in hormone refractory prostate cancer development. **Cancer Res**, v. 67, n. 13, p. 6083–6091, 2007.

KHANI, F. et al. Evidence for molecular differences in prostate cancer between african American and Caucasian Men. **Clinical Cancer Research**, v. 20, n. 18, p. 4925–4934, 15 set. 2014.

KING, J. C. et al. Cooperativity of TMPRSS2-ERG with PI3-kinase pathway activation in prostate oncogenesis. **Nat Genet**, v. 41, n. 5, p. 524–526, 2009.

KROHN, A. et al. Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. **Am J Pathol**, v. 181, n. 2, p. 401–412, 2012.

LEE, C. H.; AKIN-OLUGBADE, O.; KIRSCHENBAUM, A. Overview of prostate anatomy, histology, and pathology. **Endocrinol Metab Clin North Am**, v. 40, n. 3, p. 565–75, viii–ix, 2011.

LI, D. M.; SUN, H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta. **Cancer Res**, v. 57, n. 11, p. 2124–2129, 1997.

LI, J. et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. **Science**, v. 275, n. 5308, p. 1943–1947, 1997.

LIAW, D. et al. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. **Nature genetics**, v. 16, n. 1, p. 64–67, maio 1997.

LINDQUIST, K. J. et al. Mutational Landscape of Aggressive Prostate Tumors in African American Men. **Cancer Research**, v. 76, n. 7, p. 1860–1868, 1 abr. 2016.

LOTAN, T. L. et al. PTEN protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. **Clin Cancer Res**, v. 17, n. 20, p. 6563–6573, 2011.

LOTAN, T. L. et al. Cytoplasmic PTEN protein loss distinguishes intraductal carcinoma of the prostate from high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. **Mod Pathol**, v. 26, n. 4, p. 587–603, 2013.

LOTAN, T. L. et al. PTEN Loss as Determined by Clinical-grade Immunohistochemistry Assay Is Associated with Worse Recurrence-free Survival in Prostate Cancer. **Eur Urol Focus**, v. 2, n. 2, p. 180–188, 2016.

MAGI-GALLUZZI, C. et al. TMPRSS2-ERG gene fusion prevalence and class are significantly different in prostate cancer of Caucasian, African-American and Japanese patients. **Prostate**, v. 71, n. 5, p. 489–497, abr. 2011.

MARSH, D. J. et al. **Germline mutations in PTEN are present in Bannayan-Zonana syndrome.** *Nature genetics* United States, ago. 1997.

MCNEAL, J. E. The prostate and prostatic urethra: a morphologic synthesis. **J Urol**, v. 107, n. 6, p. 1008–1016, 1972.

MILLS, S. E. **Histology for pathologists**. 4th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

MINNER, S. et al. ERG status is unrelated to PSA recurrence in radically operated prostate cancer in the absence of antihormonal therapy. **Clin Cancer Res**, v. 17, n. 18, p. 5878–5888, 2011.

MOSQUERA, J. M. et al. Characterization of TMPRSS2-ERG fusion high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and potential clinical implications. **Clin Cancer Res**, v. 14, n. 11, p. 3380–3385, 2008.

MULHOLLAND, D. J. et al. Cell autonomous role of PTEN in regulating castration-resistant prostate cancer growth. **Cancer Cell**, v. 19, n. 6, p. 792–804, 2011.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **ERG ETS transcription factor ERG [Homo sapiens (human)]**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2078>>. Acesso em: 9 out. 2018a.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PTEN phosphatase and tensin homolog [Homo sapiens (human)]**. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5728>>. Acesso em: 9 out. 2018b.

NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK. **Prostate Cancer**. Disponível em: <https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp>. Acesso em: 18 jun. 2017.

NELEN, M. R. et al. Germline mutations in the PTEN/MMAC1 gene in patients with Cowden disease. **Human molecular genetics**, v. 6, n. 8, p. 1383–1387, ago. 1997.

PARIS, P. L. et al. Association between a CYP3A4 genetic variant and clinical presentation in African-American prostate cancer patients. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 8, n. 10, p. 901–905, 1999.

PATEL, A. R.; KLEIN, E. A. Risk factors for prostate cancer. **Nat Clin Pract Urol**, v. 6, n. 2, p. 87–95, 2009.

PETTERSSON, A. et al. The TMPRSS2:ERG rearrangement, ERG expression, and prostate cancer outcomes: a cohort study and meta-analysis. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 21, n. 9, p. 1497–1509, 2012.

PETTERSSON, A. et al. Modification of the association between obesity and lethal prostate cancer by TMPRSS2:ERG. **J Natl Cancer Inst**, v. 105, n. 24, p. 1881–1890, 2013.

PEZARO, C.; WOO, H. H.; DAVIS, I. D. Prostate cancer: measuring PSA. **Intern Med J**, v. 44, n. 5, p. 433–440, 2014.

POWELL, I. J. et al. Evidence supports a faster growth rate and/or earlier transformation to clinically significant prostate cancer in black than in white American men, and influences racial progression and mortality disparity. **The Journal of urology**, v. 183, n. 5, p. 1792–1796, maio 2010.

POWELL, I. J.; BOLLIG-FISCHER, A. Minireview: the molecular and genomic basis for prostate cancer health disparities. **Mol Endocrinol**, v. 27, n. 6, p. 879–891, 2013.

REESE, J. H. et al. Differential distribution of pepsinogen II between the zones of the human prostate and the seminal vesicle. **J Urol**, v. 136, n. 5, p. 1148–1152, 1986.

REESE, J. H. et al. Tissue type plasminogen activator as a marker for functional zones, within the human prostate gland. **Prostate**, v. 12, n. 1, p. 47–53, 1988.

RUBIN, M. A.; MAHER, C. A.; CHINNAIYAN, A. M. Common gene rearrangements in prostate cancer. **J Clin Oncol**, v. 29, n. 27, p. 3659–3668, 2011.

RUBIO-BRIONES, J. et al. Clinical implications of TMPRSS2-ERG gene fusion expression in patients with prostate cancer treated with radical prostatectomy. **J Urol**, v. 183, n. 5, p. 2054–2061, 2010.

SHAH, R. B. et al. Heterogeneity of PTEN and ERG expression in prostate cancer on core needle biopsies: implications for cancer risk stratification and biomarker sampling. **Hum Pathol**, v. 46, n. 5, p. 698–706, 2015.

SHEN, M. M.; ABATE-SHEN, C. Pten inactivation and the emergence of androgen-independent prostate cancer. **Cancer Res**, v. 67, n. 14, p. 6535–6538, 2007.

STECK, P. A. et al. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. **Nat Genet**, v. 15, n. 4, p. 356–362, 1997.

STROM, S. S. et al. Saturated fat intake predicts biochemical failure after prostatectomy. **Int J Cancer**, v. 122, n. 11, p. 2581–2585, 2008.

TAN, D. S.; MOK, T. S.; REBBECK, T. R. Cancer Genomics: Diversity and Disparity Across Ethnicity and Geography. **J Clin Oncol**, v. 34, n. 1, p. 91–101, 2016.

TAYLOR, B. S. et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. **Cancer Cell**, v. 18, n. 1, p. 11–22, 2010.

TOMLINS, S. A. et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. **Science**, v. 310, n. 5748, p. 644–648, 2005.

TOSOIAN, J. J. et al. Prevalence and Prognostic Significance of PTEN Loss in African-American and European-American Men Undergoing Radical Prostatectomy. **Eur Urol**, v. 71, n. 5, p. 697–700, 2017.

TSODIKOV, A. et al. Reconciling the Effects of Screening on Prostate Cancer Mortality in the ERSPC and PLCO Trials. **Annals of Internal Medicine**, v. 167, n. 7, p. 449, 3 out. 2017.

TSOU, H. C. et al. The role of MMAC1 mutations in early-onset breast cancer: causative in association with Cowden syndrome and excluded in BRCA1-negative cases. **American journal of human genetics**, v. 61, n. 5, p. 1036–1043, nov. 1997.

TU, J. J. et al. Gene fusions between TMPRSS2 and ETS family genes in prostate cancer: frequency and transcript variant analysis by RT-PCR and FISH on paraffin-embedded tissues. **Mod Pathol**, v. 20, n. 9, p. 921–928, 2007.

ULLMAN, D. et al. Clinical Utility and Biologic Implications of Phosphatase and Tensin Homolog (PTEN) and ETS-related Gene (ERG) in Prostate Cancer. **Urology**, v. 113, p. 59–70, 2018.

WILSON, J. D. et al. Role of gonadal hormones in development of the sexual phenotypes. **Hum Genet**, v. 58, n. 1, p. 78–84, 1981.

YOSHIMOTO, M. et al. FISH analysis of 107 prostate cancers shows that PTEN genomic deletion is associated with poor clinical outcome. **Br J Cancer**, v. 97, n. 5, p. 678–685, 2007.

YOSHIMOTO, M. et al. Absence of TMPRSS2:ERG fusions and PTEN losses in prostate cancer is associated with a favorable outcome. **Mod Pathol**, v. 21, n. 12, p. 1451–1460, 2008.

APÊNDICE

Procedimento	ERG	PTEN	PTEN HOMO/HET	Gleason	Idade	PSA prévio	Preso	Volume tumoral(%)	Extensão extraprostática	PN	Invasão de vesícula seminal	Margens cirúrgicas	Incição capsular	Invasão linfocavicular	Estadiamento	Legenda:
RP	0	1	0	homomo	347	67	/	info	25	25	não	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	1	homomo	347	69	/	info	40	15	sim	não	não	não	não	pT3apNx
RP	0	1	1	homomo	347	74	/	info	25	25	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	homomo	347	69	/	info	25	25	sim	não	não	não	não	pT3apNx
RP	1	1	0	homomo	347	79	/	info	50	25	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	1	homomo	347	77	/	info	45	25	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	1	homomo	347	56	/	info	40	5	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	homomo	347	69	/	info	8.5	30	25	sim	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	1	homomo	347	70	/	info	30	15	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	1	homomo	347	82	/	info	40	30	sim	não	não	não	não	pT3apNx
RP	0	1	0	het	347	74	/	7	45	30	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	het	347	77	/	info	40	20	não	não	não	não	não	pT3apNO
RP	1	1	0	het	347	63	/	info	30	20	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	divida	448	73	/	info	83	15	indeterminada	sim	sim	sim	sim	pT2cpNx
TURP	1	1	1	divida	448	89	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	0	1	1	divida	459	80	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	1	1	1	divida	459	68	/	14,09	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	1	1	0	homomo	448	70	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	0	1	0	homomo	448	75	/	info	40	15	sim	não	não	não	não	pT3apNO
TURP	0	1	1	homomo	448	91	/	216	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	0	1	1	homomo	437	76	/	info	70	30	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	1	1	0	homomo	459	72	/	info	35	40	sim	não	não	não	não	pT3apN1
RP	0	1	0	homomo	448	83	/	info	40	35	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	het	448	63	/	info	50	25	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	het	459	80	/	info	30	30	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	het	437	62	/	info	50	50	sim	sim	sim	sim	sim	pT3apNO
RP	0	1	0	het	437	59	/	info	40	20	sim	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	437	63	/	info	83	30	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	347	71	/	info	30	30	não	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	437	29	/	info	38	5	não	não	não	não	não	pT2cpNO
TURP	0	1	0	1	459	83	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	1	1	1	1	437	75	/	info	25	20	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	het	437	67	/	info	30	50	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	het	437	80	/	info	50	10	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	het	437	69	/	info	35	15	não	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	437	info	/	info	60	25	sim	não	não	não	não	pT3apNx
RP	0	1	0	1	459	73	/	info	50	25	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	347	63	/	info	40	50	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	437	58	/	info	35	15	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	1	1	1	1	437	59	/	6,5	35	25	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	437	80	/	info	60	25	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	437	63	/	info	60	25	sim	sim	sim	sim	sim	pT3apNO
TURP	0	1	0	1	437	78	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	0	1	0	1	336	64	/	info	80	5	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	347	76	/	info	40	15	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	549	74	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	0	1	0	1	549	54	/	info	50	80	sim	não	não	não	não	pT3apNO
TURP	1	1	0	1	459	83	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	1	1	1	1	459	79	/	info	40	20	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	1	1	336	54	/	info	40	20	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	1	1	0	1	336	66	/	info	60	15	não	não	não	não	não	pT2apNO
RP	1	1	0	1	336	57	/	info	35	20	não	não	não	não	não	pT2cpNx
RP	0	1	0	1	336	66	/	8,7	50	15	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	448	83	/	info	60	15	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	1	1	0	1	336	71	/	2,6	30	5	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	437	69	/	info	50	5	não	não	não	não	não	pT2cpNO
TURP	0	1	1	1	459	71	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	0	1	1	1	459	89	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	1	1	1	1	336	66	/	info	35	5	não	não	não	não	não	pT2apNx
RP	0	1	0	1	336	73	/	info	135	5	não	não	não	não	não	pT2apNx
TURP	1	1	1	1	459	29	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	0	1	0	1	437	77	/	info	50	25	não	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	459	73	/	info	65	25	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	347	83	/	info	65	25	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	347	63	/	info	55	25	sim	não	não	não	não	pT3apNx
RP	1	1	0	1	347	82	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	1	1	0	1	549	74	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	1	1	0	1	347	63	/	info	20	25	não	não	não	não	não	pT3apNO
RP	1	1	0	1	448	78	/	info	60	25	não	não	não	não	não	pT2cpNx
TURP	1	1	0	1	549	82	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	1	1	0	1	336	69	/	info	45	10	não	não	não	não	não	pT2cpNx
RP	0	1	0	1	336	69	/	info	85	10	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	1	1	1	1	437	64	/	info	25	25	sim	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	459	92	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	0	1	0	1	347	70	/	info	55	20	sim	não	não	não	não	pT3apNO
TURP	0	1	0	1	336	info	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	0	1	0	1	347	68	/	info	35	5	não	não	não	não	não	pT2apNO
TURP	1	1	0	1	459	71	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	1	1	0	1	448	71	/	17	40	30	sim	não	não	não	não	pT3apN1
TURP	1	1	0	1	459	86	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	1	1	0	1	347	59	/	info	info	25	não	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	448	72	/	info	45	20	sim	não	não	não	não	pT3apNO
RP	0	1	0	1	347	51	/	info	20	25	não	não	não	não	não	pT2cpNx
TURP	0	1	0	1	459	73	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	0	1	0	1	459	78	/	info	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
TURP	0	1	0	1	459	92	/	88	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
RP	0	1	0	1	336	71	/	info	50	10	não	não	não	não	não	pT2cpNx
RP	0	1	0	1	549	74	/	info	50	70	sim	sim	sim	sim	sim	pT3apNO
RP	0	1	0	1	437	82	/	info	55	15	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	336	70	/	info	60	10	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0	1	347	63	/	info	65	25	não	não	não	não	não	pT2cpNO
RP	0	1	0													