

Artigos Originais

O eixo EGF e o Cancro da Próstata: O Transforming Growth Factor Alfa (TGF- α) – Experiência clínica

Francisco Madeira Pina¹, Maria Gabriela Figueiredo², Nuno Lunet³, Pedro Silva⁴, Andre Silva⁴, Francisco Cruz⁵, Henrique Barros⁶

1 Chefe de Serviço – Serviço de Urologia do H. S. João do Porto

Assistente Convidado de Urologia – F. M. U. P.

2 Licenciatura em Farmácia – Análises Clínicas, da F. Farmácia U. P.

Assistente Principal – Serviço de Imunologia do H. S. João do Porto

3 Mestre em Saúde Pública, Doutor em Saúde Pública

Professor Auxiliar Convidado – Serviço de Higiene e Epidemiologia - F. M. U. P.

4 Licenciatura em Medicina – F. M. U. P.

Interno Complementar – Serviço de Urologia do H. S. João do Porto

5 Director de Serviço – Serviço de Urologia do H. S. João do Porto

Professor Titular de Urologia – F. M. U. P.

6 Director de Serviço – Serviço de Higiene e Epidemiologia da F. M. U. P.

Professor Catedrático de Epidemiologia – F. M. U. P.

Resumo

Integrando o Eixo EGF (Epidermal Growth Factor), o TGF- α (Transforming Growth Factor – alfa) está fundamentalmente envolvido na progressão tumoral pelo seu papel mitogénico, activando mecanismos autócrinos, nomeadamente nas fases avançadas de agressividade histológica (grau de Gleason), e de androgénico-insensibilidade/hormono-resistência (tumores de células neuroendócrinas ou com metástases ósseas do cancro da próstata (CP)).

Os estudos sobre TGF- α em circulação em doentes com CP são raros, e os que estão disponíveis sobre imunexpressão tecidual em material de ressecção transuretral da próstata (RTUP) ou prostatectomia radical (PR) nem sempre são coincidentes nas conclusões.

Este estudo envolveu 113 doentes com CP sem tratamento prévio, e pertencentes a vários estádios clínicos; 43 doentes foram posteriormente sujeitos a PR. O TGF- α no soro foi detectável em todos os casos, com uma média de 10,6 pg/ml.

Nesta série não foi possível detectar diferenças significativas de níveis de TGF- α entre os diferentes grupos de estágio clínico ou patológico TNM-UICC-2002, de agressividade histológica (grau de Gleason na biópsia prostática ou na peça de PR), de PSA total ou de PSA complexado basais, ou de grupos de risco de recidiva/progressão de D'AMICO.

A Testosterona total sérica basal foi o único factor que apresentou correlação positiva e significativa com o TGF- α circulante, evidenciando a ligação entre o Eixo EGF e o Eixo Hipotálamo-Hipófiso-Gonadal de estimulação do CP.

Correspondência para:

Francisco Madeira Pina
Rua dos Fogueteiros,
517 - 4º Esq. Custóias
4460-725 MATOSINHOS
Tels. 964 065 644,
229 521 877
Fax: 229 521 877
E-mail:
madeirapina@gmail.com

Abstract

The Transforming Growth Factor alfa (TGF- α), a member of the EGF axis, is mostly involved in tumour progression, through its mitogenic role, with activation of autocrine pathways, mainly in advanced forms of prostate cancer (PC), like high Gleason grade tumours, or hormone refractory/androgen insensitive cancers (neuroendocrine cell PC or androgen insensitive PC bone metastasis).

Studies on circulating TGF- α in PC patients are rare, and those on tissue immunoeexpression from BPH versus PC from TURP specimens, or from BPH versus PC areas from RP specimens, present opposite conclusions.

This study was conducted on 113 PC untreated patients, belonging to different clinical staging; 43 of them were treated afterwards with RP. Serum TGF- α was detected in all cases, with a medium of 10.6 pg/ml.

In this series we were unable to detect significant differences of base-line serum TGF- α level among the different groups of clinical or pathological TNM-UICC-2002 staging, prostate biopsy or RP Gleason grade groups, tPSA or cPSA risk groups, or D'AMICO recurrence/progression risk groups.

Serum total Testosterone was the only variable that present significant and positive correlation to circulating TGF- α , showing evidence of relationship between EGF axis and Hypothalamus-Pituitary-Gonadic Axis of PC stimulation.

Introdução

Na próstata o TGF- α é produzido pelo tecido normal, em casos de hiperplasia benigna da próstata (HBP), no cancro da próstata (CP) humano androgéneo-sensível, e sobretudo no CP metastático androgéneo-insensível.

Elemento do Eixo EGF (Epidermal Growth Factor), onde compartilha com o EGF a função de ligante para o receptor EGF-R, o TGF- α está fundamentalmente envolvido na progressão tumoral pelo seu papel mitogénico, activando mecanismos autócrinos, nomeadamente nas fases avançadas de metastização e de androgéneo-insensibilidade do CP (2).

No âmbito do estudo dos factores de prognóstico de progressão no cancro da próstata a escassez de dados sobre os níveis circulantes de TGF- α , e sobre o comportamento do TGF- α sérico em função dos diferentes grupos de prognóstico de recidiva/progressão do CP é evidente.

Neste sentido decidimos alargar a experiência existente sobre este factor de crescimento, realizando o doseamento do TGF- α no soro, numa população de doentes com carcinoma prostático não previamente submetida a qualquer tipo de tratamento hormonal ou químico, de modo a identificar diferenças nos valores séricos de TGF- α entre grupos de prognóstico clínica,

patológica, ou biologicamente (marcadores tumorais prostáticos) bem definidos.

Material e Métodos

Um grupo de 113 doentes com o diagnóstico histológico de cancro da próstata e não tratados previamente foram estadiados de acordo com a classificação cTNM-UICC-2002, e subdivididos de acordo com os grupos de risco de progressão de cTNM, de grau de Gleason na Biópsia Prostática, de PSA total, e de PSA complexado.

Os doentes colheram sangue em jejum, na ausência de doenças febris agudas ou de segundas neoplasias primárias síncronas, para hemograma, bioquímica geral, fosfatase alcalina, PSA total (PSAt), PSA complexado (PSAc), PSA livre (PSAl), Testosterona total, e Prolactina.

Também foi colhido sangue para sistema de marcação dupla celular com anticorpos monoclonais da Coulter Immunotech/Becton Dickinson, para imuno-fluorescência directa (Coulter Quick Lyse), e para análise em citómetro de fluxo (Coulter Epics-Profile II and Epics-XL), para detecção de subpopulações de linfócitos T totais activados CD3+DR+, de linfócitos T helper activados CD3+CD4+DR+, e de linfócitos T citotóxicos

Tabela 1 – Características basais dos doentes do estudo, n=113 carcinomas da próstata

| | n * | média | mediana | mínimo - máximo |
|--|-----|-------|---------|-----------------|
| Idade (anos) | 113 | 69,5 | 71 | 48 - 89 |
| Hemoglobina (g/dl) | 69 | 15,0 | 15,0 | 10,0 - 21,0 |
| Fosfatase alcalina (U/ml) | 104 | 121,8 | 104 | 44 - 739 |
| PSA total (ng/ml) | 113 | 36,9 | 11,1 | 0,2 - 1454,0 |
| PSA complexado (ng/ml) | 56 | 11,6 | 7,7 | 0,5 - 71,5 |
| Razão de PSA livre/total [§] | 47 | 0,15 | 0,12 | 0,05 - 0,50 |
| Testosterona total (ng/ml) | 82 | 5,3 | 5,2 | 0,6 - 13,4 |
| Prolactina (ng/ml) | 80 | 9,4 | 7,0 | 1,8 - 75,4 |
| Linfócitos T totais activados, CD3+DR+ (%) | 103 | 21,6 | 21 | 9 - 41 |
| Linfócitos T helper activados, CD3+CD4+DR+ (%) | 102 | 3,9 | 3 | 1 - 20 |
| Linfócitos T citotóxicos activados, CD3+CD8+DR+ (%) | 103 | 5,0 | 4 | 0 - 21 |

* O número de participantes com informação para alguns dos parâmetros é inferior a 113, porque essa informação não era armazenada por rotina nos laboratórios onde foram efectuadas as análises.

[§] Aplicável a doentes com PSA \leq 10 ng/ml

activados CD3+CD8+DR+, bem como para medição de TGF- α circulante com o anticorpo monoclonal mab human TGF- α , DTGA00 da Quantikine™/RD Systems (ELISA).

As características basais da população em estudo estão presentes nas tabelas 1 e 2. A idade mediana dos doentes com CP foi de 71 anos e a mediana de PSA total foi de 11,1 ng/ml.

Foi efectuada prostatectomia radical (PR) em 43 doentes, pelo que se procedeu a reestadiamento e reestratificação pelos grupos de risco de pTNM-UICC-2002, de grau de Gleason na PR, e do índice combinado de prognóstico de D'AMICO: Grupo 1, de baixo risco de recidiva (pT \leq 3a, No, G \leq 7, e margens cirúrgicas negativas); Grupo 2, de risco moderado de recidiva (pT3a, No, G \leq 7, e margens cirúrgicas positivas); Grupo 3, de alto risco de recidiva (pT > 3b, N+, G \geq 8, margens cirúrgicas negativas ou positivas) (tabela 2).

Trinta por cento dos tumores clinicamente localizados sofreram um supraestadiamento patológico, 10,6% dos casos com PSA total < 10 ng/ml tinham Razão de PSA livre/total fora da área de indicação formal de biópsia diagnóstica, 35% dos doentes operados de prostatectomia radical apresentaram tumores mal diferenciados, e 37% dos operados ficaram incluídos no Grupo 3 de D'Amico, de alto risco de recidiva/progressão.

Foram comparadas proporções com recurso à prova do χ^2 , ou à prova exacta de Fisher, quando adequado. Foi utilizada a prova de Kruskal-Wallis para comparar a distribuição de variáveis quantitativas em diferentes grupos, e foram calculados coeficientes de correlação de

Spearman para quantificar as associações entre variáveis quantitativas.

Resultados

Todos os CP apresentaram valores de TGF- α sérico detectáveis, com uma média de 10,6 pg/ml e mediana de 9,7 pg/ml, sendo encontrado valor superior a 32 pg/ml (o mais alto comunicado no teste comercial) em apenas um caso (Tabela 3).

Não se detectaram diferenças significativas de níveis de TGF- α circulante em função da idade (mediana: 10,8 pg/ml no escalão etário \leq 65 anos versus 7,8 pg/ml no escalão etário \geq 76 anos), dos grupos de prognóstico clínico de estágio cTNM (mediana: 9,6 pg/ml em cancros localizados versus 10,4 pg/ml cancros metastizados), do Grau de Gleason na Biópsia Prostática (mediana: 9,6 pg/ml para tumores bem diferenciados versus 8,9 pg/ml para tumores mal diferenciados), de PSA total (mediana: 9,5 pg/ml para casos com PSA total \leq 10,0 ng/ml versus 10,5 pg/ml para casos com PSA total \geq 50,1 ng/ml), ou de PSAc (mediana 11,0 pg/ml para PSAc \leq 20,0 ng/ml versus 10,1 pg/ml para PSAc \geq 50,0 ng/ml) (Tabela 3).

Num subgrupo de sete doentes metastizados ósseos, observaram-se quatro casos de androgénio-insensibilidade primária e três androgénio-sensíveis. A mediana de TGF- α foi 16,8 pg/ml (mínimo: 8,0 pg/ml; máximo: 30,2 pg/ml) para os CP androgénio-insensíveis pri-

Tabela 2 – Estratificação da população total de doentes por Grupos de Risco de Recidiva/Progressão, n = 113 carcinomas da próstata

| | n | % |
|--|----|------|
| Estádio clínico | | |
| cT1-2 N0 M0 | 86 | 76,1 |
| cT3a-b N0 M0 | 17 | 15,1 |
| cT4 N0 M0 ou N+ ou M+ | 10 | 8,8 |
| Grau de Gleason na Biópsia Próstática | | |
| Gleason 2 a 6 | 46 | 41,4 |
| Gleason 7 | 42 | 37,8 |
| Gleason 8 a 10 | 23 | 20,7 |
| PSA total (ng/ml) | | |
| PSAt ≤ 10,0 | 50 | 44,6 |
| PSAt > 10,1 < 20,0 | 32 | 28,6 |
| PSAt > 20,1 < 50,0 | 18 | 16,1 |
| PSAt ≥ 50,1 | 12 | 10,7 |
| Razão de PSA livre/total[§] | | |
| < 0,26 | 42 | 89,4 |
| ≥ 0,26 | 5 | 10,6 |
| PSA complexo (ng/ml) | | |
| ≤ 20,0 | 4 | 3,2 |
| > 20,1 < 50,0 | 11 | 19,6 |
| ≥ 50,0 | 41 | 71,0 |
| Estadio patológico | | |
| pT1-2 N0 M0 | 30 | 69,8 |
| pT3a-b N0 M0 | 11 | 25,6 |
| pT1-3 N+ M0 | 2 | 4,6 |
| Grau de Gleason na Prostatectomia Radical | | |
| 2 a 6 | 9 | 20,9 |
| 7 | 19 | 44,2 |
| 8 a 10 | 15 | 34,9 |
| Grupos de Risco de Prognóstico de D'AMICO | | |
| Grupo 1 (baixo risco de recidiva) | 20 | 46,5 |
| Grupo 2 (risco moderado de recidiva) | 7 | 16,3 |
| Grupo 3 (alto risco de recidiva) | 3 | 37,2 |

[§]Aplicável a doentes com PSA ≤ 10 ng/ml

mários, e de 6,5 pg/ml (mínimo: 2,2 pg/ml; máximo: 17,7 pg/ml) nos CP androgénio-sensíveis (p=014).

Nos casos tratados com PR não se detectaram diferenças significativas de níveis de TGF- α entre os grupos prognósticos de estágio pTNM (mediana: 8,0 pg/ml para tumores patologicamente localizados versus 10,1 pg/ml para tumores localmente invasivos), de Grau de Gleason na prostatectomia radical (mediana: 10,7 pg/ml em tumores bem diferenciados versus 6,5 pg/ml em tumores mal diferenciados), de PSAt, ou de Risco de Prognóstico de D'AMICO (mediana 8,9 pg/ml para grupo 1 de baixo

risco de recidiva versus 7,6 pg/ml para grupo 3 de alto risco de recidiva) (Tabela 4).

Não se encontraram correlações estatisticamente significativas entre os níveis de TGF- α e as seguintes variáveis: Idade, Hemoglobina, Fosfatase alcalina, PSAt, PSAc, Prolactina, Volume total da próstata na prostatectomia radical, percentagem de subpopulações activadas de linfócitos T totais CD3DR+, de linfócitos T helper CD3+D4DR+ ou de linfócitos T citotóxicos CD3+CD8DR+ (Tabela 5). A associação mais forte e significativa entre o TGF- α e a Testosterona total (r=0,21; p=0,05).

Discussão

Acho que se devia começar com um breve sumário (3 ou 4 linhas) dos nossos principais resultados.

Os estudos com voluntários usados para aferição dos testes comerciais revelaram que só 30% dos indivíduos apresentam valores detectáveis de TGF- α , com uma média de 21,9 pg/ml no soro (0-32 pg/ml), e sempre inferior a 15,6 pg/ml no plasma (1). Nesta série, onde se usou o mesmo teste comercial (mab human TGF- α , DTGA00 da Quantikine™/RD Systems (ELISA)) (1), todos os casos de CP apresentaram níveis de TGF- α detectáveis, facto que poderá ser atribuível à produção de TGF- α pelo próprio tumor.

Os valores médios de TGF- α nos doentes com CP avaliados nesta série foram inferiores aos dos testes comerciais em 50% (10,6 pg/ml versus 21,9 pg/ml), o que não têm uma explicação evidente, apesar de ser notória uma grande dispersão de valores séricos em toda a população do estudo, bem como a presença de discretos aumentos não significativos paralelos ao incremento de estágio clínico/patológico, havendo enorme preponderância de casos não metastizados e rarefacção de CP androgénio-insensíveis primários.

Os estudos de imunexpressão tecidual no CP primário evidenciaram uma alta frequência de expressão do TGF- α (4-8, 12-18, 41, 42, 46), que em certos casos suplantou a do EGF, sendo-lhe atribuído mais crédito como estímulo proliferativo do Eixo EGF (10, 19, 42).

Embora a extrapolação para a clínica de dados de imunexpressão tecidual em material proveniente de RTUP, PR ou Metástases de doentes androgénio-sensíveis ou androgénio-insensíveis, deva ser extremamente cautelosa, a escassez de trabalhos sobre o TGF- α em circulação obriga-nos a procurar estabelecer comparações entre aqueles dados e os nossos resultados.

Tabela 3 – Distribuição dos valores séricos de TGF- α em função dos grupos de risco de progressão/recidiva clínicos, n = 113 cancros da próstata

| | n | mediana (pg/ml) | Mínimo - máximo (pg/ml) | p |
|--|-----|-----------------|-------------------------|------|
| Todos os participantes | 113 | 9,7 | 2,2 - 63,3 | |
| Idade (anos) | | | | |
| ≤ 65 | 30 | 10,2 | 3,5 - 63,3 | |
| 66 a 75 | 62 | 10,0 | 2,5 - 25,2 | |
| ≥ 76 | 21 | 7,8 | 2,2 - 30,2 | 0,10 |
| Estadio clínico | | | | |
| cT1-2 N0 M0 | 86 | 9,6 | 2,5 - 25,2 | |
| cT3a-b N0 M0 | 17 | 10,2 | 2,7 - 63,3 | |
| cT4 N0 M0 ou N+ ou M+ | 10 | 10,4 | 2,2 - 30,2 | 0,70 |
| Grau de Gleason na Biópsia Prostática | | | | |
| 2 a 6 | 46 | 9,6 | 2,5 - 25,1 | |
| 7 | 42 | 10,1 | 2,7 - 22,2 | |
| 8 a 10 | 23 | 8,9 | 2,2 - 63,3 | 0,71 |
| PSA total (ng/ml) | | | | |
| ≤ 10,0 | 50 | 9,5 | 2,5 - 23,0 | |
| > 10,1 < 20,0 | 32 | 9,9 | 2,9 - 25,2 | |
| > 20,1 < 50,0 | 18 | 10,1 | 2,2 - 22,2 | |
| ≥ 50,1 | 12 | 10,5 | 2,7 - 63,3 | 0,66 |
| Razão de PSA livre/ total [§] | | | | |
| < 0,26 | 42 | 8,5 | 2,5 - 23,0 | |
| ≥ 0,26 | 5 | 12,2 | 5,4 - 18,9 | 0,13 |
| PSA complexado (ng/ml) | | | | |
| ≤ 20,0 | 4 | 11,0 | 5,4 - 14,5 | |
| > 20,1 e < 50,0 | 11 | 7,8 | 3,8 - 18,2 | |
| ≥ 50,0 | 41 | 10,1 | 2,2 - 30,2 | 0,41 |

[§]Aplicável a doentes com PSA ≤ 10 ng/ml

Os estudos de imunexpressão da proteína do TGF- α e do ARNm do TGF- α que foram realizados em cerca de 200 casos de CP e outros tantos de HBP colhidos por RTUP (4, 6, 13, 14, 17, 18, 46), revelaram que não só o tecido de CP apresentou maior grau de imunexpressão que o de HBP, como esta expressão foi comum aos dois tecidos no estroma, mas apenas no epitélio do CP e não no da HBP (4, 6, 13, 14, 17, 18, 46). No entanto no estudo de Robertson e col. que analisaram a imunexpressão do TGF- α em áreas de HBP e de CP de 57 peças de PR, encontrou que a expressão deste factor de crescimento era significativamente menor nas áreas com CP que nas áreas de HBP ou de PIN III (16).

Gann e col. procuraram diferenças de níveis de TGF- α no líquido prostático, colhido por massagem glandular, em 19 indivíduos sem patologia prostática, 38 com HBP, e 19 com CP. Observaram-se valores significativamente mais baixos para os casos de HBP (0,45 ng/ml), quando comparados com os de CP (0,63 ng/ml) ou com

os controles normais (0,58), e entre os casos de CP não se detectaram diferenças em função dos estádios ou grupos de agressividade histológica de Gleason (9).

O único estudo que investigou a imunexpressão do TGF- α em metástases ósseas foi o de Scher e col. que se debruçaram sobre material de 37 RTUP e de 22 Metástases ósseas. Enquanto que o grau de expressão nos tecidos de RTUP foi escasso e principalmente no estroma, nas metástases foi intenso e detectado na maioria dos casos (41).

Na nossa série, composta por cerca de 90% de CP sem metástases, apesar da grande distribuição de valores séricos de TGF- α dentro de cada grupo de estágio clínico ou patológico, há a sugestão de valores crescentes de TGF- α a par do agravamento do estágio clínico/patológico mas que não chega a alcançar significado estatístico, provavelmente pelo tamanho pequeno da amostra dos subgrupos de CP localmente invasivo ou com metástases ganglionares (3 casos) ou ósseas (7

Tabela 4 – Distribuição dos valores séricos de TGF- α em função dos grupos de risco de progressão/recidiva patológicos, n = 43 prostatectomias radicais

| | n | mediana (pg/ml) | mínimo - máximo (pg/ml) | p |
|---|----|--------------------|----------------------------|------|
| Estádio patológico | | | | |
| pT1-2 N0 M0 | 30 | 8,0 | 2,8 a 25,1 | |
| pT3a-b N0 M0 | 11 | 10,1 | 4,8 a 23,0 | |
| pT1-3 N+ M0 | 2 | 13,7 | 12,0 a 15,4 | 0,42 |
| Grau de Gleason na Prostatectomia Radical | | | | |
| 2 a 6 | 9 | 10,7 | 5,9 a 21,1 | |
| 7 | 19 | 10,0 | 3,8 a 23,0 | |
| 8 a 10 | 15 | 6,5 | 2,8 a 18,2 | 0,12 |
| Grupos de Risco de Prognóstico de D'AMICO | | | | |
| Grupo 1 (baixo risco de recidiva) | 20 | 8,9 | 3,8 a 25,1 | |
| Grupo 2 (risco moderado de recidiva) | 7 | 10,1 | 4,9 a 23,0 | |
| Grupo 3 (alto risco de recidiva) | 3 | 7,6 | 2,8 a 18,2 | 0,37 |

casos), não sendo possível discriminar entre baixa e alta carga tumoral com base nos valores do TGF- α sérico basal.

Os estudos de imunexpressão do TGF- α sugerem que o grau de expressão no CP aumenta com a passagem do estatuto de androgéneo-sensibilidade para o estatuto de androgéneo-insensibilidade (7, 41, 51, 52). O trabalho de Scher e col. revelou-se fundamental porque 1/3 do material analisado correspondia a doentes em fase de androgéneo-insensibilidade. Assim não só a expressão do TGF- α foi detectada em 78% dos casos de CP androgéneo-insensível e metastizado, como foi evidente a co-localização do TGF- α com o respectivo receptor EGF-R do Eixo EGF nas metástases ósseas também em 78% dos casos, corroborando a primazia da actuação autócrina nesta fase de doença (41).

Na série aqui apresentada é sugerida uma relação de níveis de TGF- α com a androgéneo-independência primária, embora o número de doentes com este estatuto seja escasso (n=4) não permitindo qualquer conclusão sobreponível.

Se por um lado está demonstrada a associação entre o grau de imunexpressão de TGF- α e o grau de Gleason em peças operatórias de RTUP com CP (7, 13, 14, 17), por outro lado não há qualquer estudo direccionado para peças de PR. Curiosamente no líquido prostático colhido por massagem não foi encontrada qualquer relação entre os níveis de TGF- α e os grupos de agressividade histológica de Gleason da biópsia de doentes com CP (9).

Na nossa série de 113 CP, nenhuma relação foi detectada entre o TGF- α circulante e o Grau de Gleason

determinado quer na Biópsia Prostática, quer na PR.

Desconhecemos qualquer estudo que se tenha debruçado sobre a relação entre o TGF- α sérico e as diferentes formas moleculares de PSA, nomeadamente o PSA total, o PSA complexado, o PSA livre, ou a Razão de PSA l/t (calculada para o subgrupo de doentes com PSA inferior a 10 ng/ml). Nesta série esta análise não evidenciou associação significativa do TGF- α com as variáveis estudadas, nem diferenças significativas entre os grupos de prognóstico de PSA total ou de PSA complexado.

Também desconhecemos estudos que relacionem o TGF- α sérico com subpopulações linfocitárias circulantes. Nesta série é evidente a inexistência de associação entre o TGF- α sérico e as subpopulações circulantes activadas estudadas: linfócitos T totais activados CD3+DR+, linfócitos T helper activados CD3+CD4+DR+, e linfócitos T citotóxicos activados CD3+CD8+DR+, facto que apoia uma independência do TGF- α em relação à imunidade celular nos indivíduos com CP.

É conhecida a associação entre os androgéneos locais e todos os membros do eixo EGF: tanto é evidente o papel da Testosterona total na estimulação do EGF-R, e a correlação positiva entre aquela hormona e os ligantes TGF- α e EGF do mesmo eixo em células LNCaP (28), como a relação entre as concentrações da Testosterona e da DHT tecidulares e o grau de imunexpressão do TGF- α em tecidos de CP humano (13).

No nosso estudo, de entre os factores basais estudados, a Testosterona total sérica basal foi o único factor que apresentou a correlação positiva mais elevada com o TGF- α circulante, o que poderá significar que a pro-

Tabela 5 – Correlação entre o TGF- α circulante e as diferentes variáveis biológicas basais dos doentes com carcinoma da próstata

| | n | r | p |
|---|-----|-------|------|
| Idade | 113 | -0,15 | 0,12 |
| Hemoglobina | 69 | 0,06 | 0,61 |
| Fosfatase alcalina | 80 | 0,06 | 0,60 |
| Testosterona total | 82 | 0,21 | 0,05 |
| Prolactina | 63 | -0,05 | 0,70 |
| Volume prostático na prostatectomia radical | 113 | 0,08 | 0,61 |
| PSA total | 112 | 0,03 | 0,74 |
| PSA complexado | 56 | 0,16 | 0,24 |
| Proporção de Linfócitos T CD3+DR+ | 103 | -0,03 | 0,75 |
| Proporção de Linfócitos T helper CD4+DR+ | 102 | -0,03 | 0,75 |
| Proporção de Linfócitos T citotóxicos CD8+DR+ | 103 | -0,10 | 0,32 |

dução de TGF- α é parcialmente dependente das hormonas androgénicas, representando um elo de ligação entre o Eixo EGF e o Eixo Hipotálamo-Hipófiso-Gonadal de estimulação do CP.

Os níveis séricos de TGF- α estão elevados noutros tipos de cancros, nomeadamente no carcinoma avançado de não-pequenas células do pulmão, onde níveis elevados estão, na maioria dos casos, ligados à má resposta ao gefitinib e a pior sobrevida, sendo o TGF- α considerado um dos marcadores de mau prognóstico destes tumores (54).

Uma vez que os insucessos acumulados nas terapêuticas individuais do CP androgéneo-insensível fazem prever a necessidade de tratamentos multimodais, conjecturamos que o doseamento sérico do TGF- α e a avaliação da sua imunexpressão em material de metástases de fácil acessibilidade em doentes com tumores androgéneo-insensíveis, poderá contribuir para a selecção de casos com indicação específica para o antagonismo do ligante TGF- α , ou para o bloqueio directo do receptor EGF-R do eixo EGF. Nesta direcção já foi provado o efeito de bloqueio proliferativo do quercetin na linha celular eternizada hormono-resistente PC3 (53).

Conclusões

A determinação do TGF- α circulante basal revelou-se com pouco interesse na identificação de grupos de risco de recidiva/progressão no âmbito do estágio TNM clínico ou patológico, ou de grupos de risco de PSA_t ou PSA_c, particularmente quando a amostra populacional contempla um reduzido número de tumores metastiza-

dos, e dentro destes com escassez de casos em androgéneo-insensibilidade primária.

Ao contrário do que seria de esperar tendo como ponto de partida os estudos de imunexpressão do TGF- α em CP colhido por RTUP, o TGF- α sérico basal não se revelou indicador fiável da agressividade histológica do tumor, medido pelo grau de Gleason quer da biópsia, quer da peça de PR.

A avaliação da imunexpressão do TGF- α em material de metástases em doentes com CP androgéneo-insensíveis, ao contrário do seu doseamento sérico, poderá servir como factor de prognóstico e contribuir para a selecção de casos com presumível boa resposta a terapêutica com anticorpos monoclonais anti-Eixo EGF.

Referências

- 1 Quantikine Human TGF- α Immunoassay, Catalog Number DTGA00. R&D Systems, Inc. Minneapolis, USA. 1994
- 2 Cullig Z, Hobisch A, Cronauer MV, Radmayr C, Hittmair A, Zhang J, Thurnher M, Bartsch G, Klocker H. Regulation of prostatic growth and function by peptide growth factors. *Prostate*. 1996 Jun; 28 (6): 392-405.
- 3 Dahiya R, Lee C, Haughney PC, Chui R, Ho R, Deng G. Differential gene expression of transforming growth factors alpha and beta, epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, and their receptors in fetal and adult human prostatic tissues and cancer cell lines. *Urology*. 1996 Dec; 48 (6): 963-70.
- 4 Leav I, McNeal JE, Ziar J, Alroy J. The localization of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor in stromal and epithelial compartments of developing human prostate and hyperplastic, dysplastic, and carcinomatous lesions. *Hum Pathol*. 1998 Jul; 29 (7): 668-75.

- 5 Tatoud R, Desgrandchamps F, DeGeorges A, Thomas F. Les facteurs peptidiques dans la prostate. 73: *Pathol Biol* (Paris). 1993 Oct; 41 (8): 731-40.
- 6 Cohen DW, Simak R, Fair WR, Melamed J, Scher HI, Cordon-Cardo C. Expression of transforming growth factor-alpha and the epidermal growth factor receptor in human prostate tissues. 63: *J Urol*. 1994 Dec; 152 (6 Pt 1): 2120-4.
- 7 Hellawell GO, Brewster SF. Growth Factors and their Receptors in Prostate Cancer. B. J. U. International. 2002; 89: 230-240.
- 8 De Miguel P, Royuela, Bethencourt R, Ruiz A, Fraile B, Paniagua R. Immunohistochemical comparative analysis of transforming growth factor alpha, epidermal growth factor, and epidermal growth factor receptor in normal, hyperplastic and neoplastic human prostates. *Cytokine*. 1999 Sep; 11 (9): 722-7.
- 9 Gann PH, Klein KG, Chatterton RT, Ellman AE, Grayhack JT, Nadler RB, Lee C. Growth factors in expressed prostatic fluid from men with prostate cancer, BPH, and clinically normal prostates. *Prostate*. 1999 Sep 1; 40 (4): 248-55.
- 10 Jones HE, Eaton CL, Barrow D, Dutkowski CM, Gee JM, Griffiths K. Comparative studies of the mitogenic effects of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha and the expression of various growth factors in neoplastic and non-neoplastic prostatic cell lines. *Prostate*. 1997 Mar 1; 30 (4): 219-31.
- 11 Peehl DM, Sellers RG. Basic FGF, EGF, and PDGF modify TGFbeta-induction of smooth muscle cell phenotype in human prostatic stromal cells. *Prostate*. 1998 May; 35 (2): 125-34.
- 12 Lloyd SN, Brown IL, Leake RE. Transforming growth factor-alpha expression in benign and malignant human prostatic disease. *Int J Biol Markers*. 1992 Jan-Mar; 7 (1): 27-34.
- 13 Yang Y, Chisholm GD, Habib FK. Epidermal growth factor and transforming growth factor alpha concentrations in BPH and cancer of the prostate: their relationships with tissue androgen levels. *Br J Cancer*. 1993 Jan; 67 (1): 152-5.
- 14 Harper ME, Goddard L, Glynne-Jones E, Wilson DW, Price-Thomas M, Peeling WB, Griffiths K. An immunocytochemical analysis of TGF alpha expression in benign and malignant prostatic tumors. *Prostate*. 1993; 23 (1): 9-23.
- 15 Myers RB, Kudlow JE, Grizzle WE. Expression of transforming growth factor-alpha, epidermal growth factor and the epidermal growth factor receptor in adenocarcinoma of the prostate and benign prostatic hyperplasia. *Mod Pathol*. 1993 Nov; 6 (6): 733-7.
- 16 Robertson CN, Roberson KM, Herzberg AJ, Kerns BJ, Dodge RK, Paulson DF. Differential immunoreactivity of transforming growth factor alpha in benign, dysplastic and malignant prostatic tissues. *Surg Oncol*. 1994 Aug; 3 (4): 237-42.
- 17 Glynne-Jones E, Goddard L, Harper ME. Comparative analysis of mRNA and protein expression for epidermal growth factor receptor and ligands relative to the proliferative index in human prostate tissue. *Hum Pathol*. 1996 Jul; 27 (7): 688-94.
- 18 Harper ME, Glynne-Jones E, Goddard L, Mathews P, Nicholson RI. Expression of androgen receptor and growth factors in premalignant lesions of the prostate. *J Pathol*. 1998 Oct; 186 (2): 169-77.
- 19 Sherwood ER, Lee C. Epidermal growth factor-related peptides and the epidermal growth factor receptor in normal and malignant prostate. *World J Urol*. 1995; 13 (5): 290-6.
- 20 Connolly JM, Rose DP. Production of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha by the androgen-responsive LNCaP human prostate cancer cell line. *Prostate*. 1990; 16 (3): 209-18.
- 21 Schuurmans AL, Bolt J, Veldscholte J, Mulder E. Regulation of growth of LNCaP human prostate tumor cells by growth factors and steroid hormones. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1991; 40 (1-3): 193-7.
- 22 Hara Y. Analysis of anchorage independent growth of human prostate cancer cell line LNCaP 82: *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*. 1992 Sep; 83 (9): 1429-35.
- 23 Ching KZ, Ramsey E, Pettigrew N, D'Cunha R, Jason M, Dodd JG. Expression of mRNA for epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha and their receptor in human prostate tissue and cell lines. *Mol Cell Biochem*. 1993 Sep 22; 126 (2): 151-8.
- 24 Carruba G, Leake RE, Rinaldi F, Chalmers D, Comito L, Sorci C, Pavone-Macaluso, M, Castagnetta LA. Steroid-growth factor interaction in human prostate cancer. I. Short-term effects of transforming growth factors on growth of human prostate cancer cells. *Steroids*. 1994 Jul; 59 (7): 412-20.
- 25 Grasso AW, Wen D, Miller CM, Rhim JS, Pretlow TG, Kung HJ. ErbB kinases and NDF signaling in human prostate cancer cells. *Oncogene*. 1997 Nov 27; 15 (22): 2705-16.
- 26 Topping N, Jorgensen PE, Sorensen BS, Nexø E. Increased expression of heparin binding EGF (HB-EGF), amphiregulin, TGF alpha and epiregulin in androgen-independent prostate cancer cell lines. *Anticancer Res*. 2000 Jan-Feb; 20 (1A): 91-5.
- 27 Nishimura K, Kitamura M, Miura H, Nonomura N, Takada S, Takahara S, Matsumoto K, Nakamura T, Matsumiya K. Prostate stromal cell-derived hepatocyte growth factor induces invasion of prostate cancer cell line DU145 through tumor-stromal interaction. *Prostate*. 1999 Nov 1; 41 (3): 145-53.
- 28 Limonta P, Moretti RM, Dondi D, Marelli MM, Motta M. Androgen-dependent prostatic tumors: biosynthesis and possible actions of LHRH. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1994 Jun; 49 (4-6): 347-50.
- 29 Seth D, Shaw K, Jazayeri J, Leedman PJ. Complex post-transcriptional regulation of EGF-receptor expression by EGF and TGF-alpha in human prostate cancer cells. *Br J Cancer*. 1999 May; 80 (5-6): 657-69.
- 30 Motta M, Dondi D, Moretti RM, Montagnani Marelli M, Pimpinelli F, Maggi R, Limonta P. Role of growth factors, steroid and peptide hormones in the regulation of human

- prostatic tumor growth. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1996 Jan; 56 (1-6 Spec No): 107-11.
- 31 Carruba G, Granata OM, Farruggio R, Cannella S, Bue AL, Leake RE, Pavone-Macaluso M, Castagnetta LA. Steroid-growth factor interaction in human prostate cancer. 2. Effects of transforming growth factors on androgen metabolism of prostate cancer cells. *Steroids.* 1996 Jan; 61 (1): 41-6.
 - 32 Rajagopal S, Navone NM, Troncoso P, Fritsche HA, Chakrabarty S. Modulation of cellular proliferation and production of prostate-specific antigen and matrix adhesion molecules in human prostate carcinoma cells by polypeptide growth factors: comparative analyses of MDA PCa2a with established cell lines. *Int J Oncol.* 1998 Mar; 12 (3): 589-95.
 - 33 Liu XH, Wiley HS, Meikle AW. Androgens regulate proliferation of human prostate cancer cells in culture by increasing transforming growth factor- α (TGF- α) and epidermal growth factor (EGF)/TGF- α receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993 Dec; 77 (6): 1472-8.
 - 34 Myers RB, Oelschläger D, Manne U, Coan PN, Weiss H, Grizzle WE. Androgenic regulation of growth factor and growth factor receptor expression in the CWR22 model of prostatic adenocarcinoma. *Int J Cancer.* 1999 Jul 30; 82 (3): 424-9.
 - 35 Harper ME, Goddard L, Smith C, Nicholson RI. Characterization of a transplantable hormone-responsive human prostatic cancer xenograft TEN12 and its androgen-resistant sublines. *Prostate.* 2004 Jan 1; 58 (1): 13-22.
 - 36 MacDonald A, Chisholm GD, Habib FK. Production and response of a human prostatic cancer line to transforming growth factor-like molecules. *Br J Cancer.* 1990 Oct; 62 (4): 579-84.
 - 37 Connolly JM, Rose DP. Autocrine regulation of DU145 human prostate cancer cell growth by epidermal growth factor-related polypeptides. *Prostate.* 1991; 19 (2): 173-80.
 - 38 Kim JH, Sherwood ER, Sutkowski DM, Lee C, Kozlowski JM. Inhibition of prostatic tumor cell proliferation by suramin: alterations in TGF α -mediated autocrine growth regulation and cell cycle distribution. *J Urol.* 1991 Jul; 146 (1): 171-6.
 - 39 Xie H, Turner T, Wang MH, Singh RK, Siegal GP, Wells A. In vitro invasiveness of DU-145 human prostate carcinoma cells is modulated by EGF receptor-mediated signals. *Clin Exp Metastasis.* 1995 Nov; 13 (6): 407-19.
 - 40 Hofer DR, Sherwood ER, Bromberg WD, Mendelsohn J, Lee C, Kozlowski JM. Autonomous growth of androgen-independent human prostatic carcinoma cells: role of transforming growth factor α . *Cancer Res.* 1991 Jun 1; 51 (11): 2780-5.
 - 41 Scher HI, Sarkis A, Reuter V, Cohen D, Netto G, Petrylak D, Lianes P, Fuks Z, Mendelsohn J, Cordon-Cardo C. Changing pattern of expression of the epidermal growth factor receptor and transforming growth factor α in the progression of prostatic neoplasms. *Clin Cancer Res.* 1995 May; 1 (5): 545-50.
 - 42 Janis Kuby. *Immunology.* 3th edition 1997, part IV; 24: 478; Editors W. H. Freeman and Company, New York
 - 43 Byrne RL, Leung H, Neal DE. Peptide growth factors in the prostate as mediators of stromal epithelial interaction. *Br J Urol.* 1996 May; 77 (5): 627-33.
 - 44 Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, Radmayr C, Hittmair A, Zhang J, Thurnher M, Bartsch G, Klocker H. Regulation of prostatic growth and function by peptide growth factors. *Prostate.* 1996 Jun; 28 (6): 392-405.
 - 45 Glynne-Jones E, Goddard L, Harper ME. Comparative analysis of mRNA and protein expression for epidermal growth factor receptor and ligands relative to the proliferative index in human prostate tissue. *Hum Pathol.* 1996 Jul; 27 (7): 688-94.
 - 46 De Miguel P, Royuela, Bethencourt R, Ruiz A, Fraile B, Paniagua R. Immunohistochemical comparative analysis of transforming growth factor α , epidermal growth factor, and epidermal growth factor receptor in normal, hyperplastic and neoplastic human prostates. *Cytokine.* 1999 Sep; 11 (9): 722-7.
 - 47 Arie Belldegrün, Roger S. Kirby, Donald W. W. Newling. *New Perspectives In Prostate Cancer, 2nd edition, 2000, Cap 1 Prostate Cancer: Summary and Update: Genetic Pathways: 1-10; Cap 2 Molecular Epidemiology of Prostate Cancer: 11-27; Cap 5 Angiogenesis, p53, bcl-2, and Ki-67 in the Progression of Prostate Cancer after Radical Prostatectomy: 157-167; Editors Isis Medical Media*
 - 48 Sciarra A, Mariotti G, Gentile V, Voria G, Pastore A, Monti S, Di Silverio F. Neuroendocrine differentiation in human prostate tissue: is it detectable and treatable? *BJU International* 2003; 91: 438-445.
 - 49 Harper ME, Glynne-Jones E, Goddard L, Thurston VJ, Griffiths K. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in prostatic tumours and its relationship to neuroendocrine cells. *Br J Cancer.* 1996 Sep; 74 (6): 910-6.
 - 50 Pina F, Figueiredo G, Lunet N, Tomada N, Saraiva I, Cruz F, Barros H. O Transforming Growth Factor- α (TGF- α) Sérico Humano em 113 Carcinomas da Próstata (CP) Não Tratados: Relação com Factores de Prognóstico. 2004, Livro de Abstracts do Curso: Controversies In Urology, 20^o Aniversário do Grupo Português Génito-Urinário da EORTC, Carvoeiro, Algarve
 - 51 Z. Culig. *Basic Research on Prostate Cancer: Signal Transduction (in Prostate and Renal Cancer, Benign Prostatic Hyperplasia, Erectile Dysfunction and Basic Research: an update. Proceedings of PACIOU VII, Rotterdam), 2003, part 16: 136-144. Editors C. H. Bangma, D. W. W. Newling; The Parthenon Publishing Group*
 - 52 John Mendelsohn, Peter M. Howley, Mark A. Israel, Lance A. Liotta. *The Molecular Basis of Cancer, 2nd edition, 2001. Growth Factors and their Receptors in Epithelial Malignancies: 140-2; Editors W. B. Saunders Company*
 - 53 G. Bartsch, H. Klocker, C. Logothetis, K. Chi, O. Cussenot, E. Frenkel, M. Gleave, H. Miyake, J. Schalken. *Innovative Approaches in Medical Management of Prostate Cancer: Other than Hormonal Therapies (in Prostate Cancer, 3rd International Consultation on Prostate Cancer, Paris),*

- 2003, Committee 5B: 159-216. Editors L. Denis, G. Bartsch, S. Khoury, M. Murai, A. Partin; 3rd ICPC, UICC, WHO, IARC, SIU
- 54 Ishikawa N, Daigo Y, Takano A, Taniwaki M, Kato T, Hayama S, Murakami H, Takeshima Y, Inai K, Nishimura H, Tsuchiya E, Kohno N, Nakamura Y. Increases of amphiregulin and transforming growth factor-alpha in serum as predictors of poor response to gefitinib among patients with advanced non-small cell lung cancers. *Cancer Res.* 2005 Oct 15; 65 (20): 9176-84