

Artigos de Revisão

O eixo EGF e o cancro da próstata

A - O eixo EGF (Epidermal Growth Factor): Introdução

B - O Transforming Growth Factor Alfa (TGF- α) no cancro da próstata: Revisão teórica

Francisco Madeira Pina

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

Assistente convidado de Urologia - Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Resumo

O Eixo EGF, eixo autócrino do receptor do epidermal growth factor (EGF-R), é uma das formas importantes de activação não androgénica do AR no cancro da próstata (CP). Composto principalmente pelos ligantes EGF e TGF- α , pelos receptores EGF-R e AR, pelas hormonas LH-RH e Testosterona, e pelo PSA (principal protease do EGF-R), o Eixo EGF está comprovadamente ligado à androgéneo-independência e à progressão do CP.

Dos estudos de imunofixação em várias linhagens celulares imortalizadas e em material de biopsia, de RTU de Próstata, de prostatectomia radical, ou em tecido metastático ósseo, os investigadores convergem para a opinião de que os principais ligantes do Eixo EGF mudam a forma de actuação parácrina, característica do tecido prostático normal ou neoplásico bem diferenciado, para a actuação autócrina, própria dos CP mal diferenciados ou androgéneo-insensíveis, onde o EGF troca a sua função de estímulo proliferativo predominante com o TGF- α , para assumir maior papel no estímulo à migração celular.

O ligante TGF- α apresenta uma maior expressão tecidual nos tumores prostáticos com Gleason elevado, em metástases ósseas de CP androgéneo-insensíveis, e em grupos celulares neuroendócrinos estudados em material de doentes também com CP androgéneo-insensível.

Os raros trabalhos de investigação clínica sobre o comportamento do TGF- α sérico nos doentes com CP, permitem revelar uma presença sistemática deste factor de crescimento entre a população de CP, ao contrário da sua detecção em apenas 30% de voluntários, e afirmar a ausência de diferenças significativas entre os diferentes grupos de prognóstico de recidiva/progressão, embora haja a sugestão de níveis mais elevados em tumores primariamente androgéneo-insensíveis.

Palavras-chave: Cancro da Próstata; Factores de Crescimento; Eixo EGF; TGF- α

Correspondência:

Francisco Madeira Pina
Rua de S. Gens, 3975
- 4º Direito
Padrão da Légua
4460-817 MATOSINHOS
- Portugal
Telefone: 964 065 644
- 229 521 877
Fax: 229 521 877
E-mail:
franciscopina@netcabo.pt

Abstract

The epidermal growth factor (EGF) axis, the autocrine axis of the EGF receptor (EGF-R), represents one of the most important form of non-androgenic activation of the androgenic receptor (AR) on prostate cancer (PC). This axis includes, among his principal components, the ligants EGF and transforming growth factor (TGF- α), the receptors EGF-R and AR, the hormones LH-RH and Testosterone, and the prostate specific antigen (PSA) as EGF-R protease, and has a proved relation with androgen-independence and PC progression.

Immuno-histochemical studies on several immortalised cell lines and on pathological material from prostate biopsy, TURP, radical prostatectomy, and bone metastasis, converge on the opinion that principal ligants of EGF axis change paracrine behaviour in normal prostate and well differentiated neoplasia, to autocrine behaviour in bad differentiated or androgen-insensitive tumours. In the last ones EGF exchanges the predominant proliferative stimulus with TGF- α , assuming major role on stimulation to cell migration.

The ligant TGF- α presents with large tissue expression on prostate tumours with high Gleason score, on bone metastasis from androgen-insensitive PC, and on neuroendocrine cell groups from androgen-insensitive PC.

Serum TGF- α clinical investigation studies are uncommon, but investigators were able to detect the systematic presence of this growth factor on PC, unlike the 30% of detection on normal volunteers, and found no significant differences of serum values among the different prognostic groups of PC recurrence or progression, with a small suggestion of higher levels among primary androgen-insensitive tumours.

A – O eixo EGF (Epidermal Growth Factor) e o cancro da próstata: Introdução

O **Eixo EGF**, eixo autócrino do receptor do epidermal growth factor (EGF-R), é considerado actualmente como uma das formas importantes de activação não androgénica dos receptores androgénicos da próstata maligna.

Sendo composto primordialmente pelas seguintes proteínas: o epidermal growth factor (EGF), o transforming growth factor alfa (TGF- α), o receptor do EGF (EGF-R), o receptor androgénico (AR), a hormona hipotalâmica LH-RH, o androgéneo Testosterona (T), e pelo antigénico específico da próstata (PSA), o **Eixo EGF** cada vez mais parece estar relacionado com a androgéneo-independência e com a progressão do carcinoma da próstata (CP).

No âmbito deste **Eixo EGF**, a mediação da actividade mitogénica dos ligantes EGF e TGF- α , usando vias de activação parácrina e autócrina, é feita tanto pelo EGF-R como pelo AR, quer através da modulação do LH-RH e da T, quer através da acção directa do EGF em ambos os receptores, mesmo em meio deplectado de androgéneos, onde o PSA representa uma importante protease do EGF-R.

O **ligante EGF** é produzido no tecido de próstata normal, na hiperplasia benigna da próstata (HBP), em várias linhas celulares eternizadas de CP, no CP humano androgéneo-sensível, e no CP metastático androgéneo-insensível.

Embora o EGF apresente expressão aumentada numa percentagem importante de doentes com CP, aparentemente duas vezes superior à do TGF- α , e coexistindo uma correlação positiva e directa entre a expressão dos dois ligantes, até ao momento não há concordância quanto ao grau relativo de positividade imunohistoquímica entre tecido prostático normal, HBP e CP, nem quanto ao grau relativo de expressão tecidular nos tumores de graus de Gleason diferentes.

O **ligante TGF- α** apresenta também uma expressão ubíqua a nível dos tecidos prostáticos (próstata normal, hiperplasia benigna da próstata (HBP), várias linhas celulares de CP, CP humano androgéneo-sensível, CP metastático androgéneo-insensível).

Esta expressão tecidular do TGF- α é tanto mais intensa quanto maior for o grau de Gleason do tumor prostático. O mesmo se verifica quando se comparam

tumores fenotipicamente androgénico-sensíveis com androgénico-insensíveis, nomeadamente com diferenciação neuroendócrina, onde a hiperexpressão é evidente.

O **receptor EGF-R** parece estar representado em todos os tecidos prostáticos, mas não existe unanimidade quanto à expressão relativa do EGF-R na Próstata Normal, na HBP e no CP, nem quanto às diferenças de expressão do ARNm do EGF-R entre grupos clínicos de prognóstico.

Os diferentes investigadores sugerem que as intensidades de expressão do ARNm do EGF-R e do EGF-R são directamente proporcionais ao agravamento da diferenciação histológica do CP, medida pelo grau de Gleason.

A imunoreactividade do tumor para o EGF-R foi estudada em peças de PR por três grupos (Robertson et

all, 1994; Moul et all, 1996; e Di Lorenzo et all, 2002) totalizando 191 casos, e não há unanimidade entre eles quanto a considerar a expressão do EGF-R como factor independente de progressão nos doentes com tumores clinicamente localizados.

Da observação dos dados sobre várias linhagens celulares imortalizadas e sobre material de biópsia ou operatório, os investigadores sugerem que ambos os **ligantes do Eixo EGF** mudam o seu modo de acção parácrino, próprio do tecido prostático normal ou neoplásico pouco agressivo, para um modo de acção autócrino, próprio dos CP androgénico-insensíveis, em que o EGF cede o seu papel de estímulo proliferativo predominante ao TGF- α , com perda progressiva da capacidade de morfogénese acinar, e assume um maior empenho no estímulo à migração celular.

B - O Transforming Growth Factor Alfa (TGF- α) no cancro da próstata: Revisão teórica

Introdução

O TGF- α é um membro da Família EGF de citocinas. Sabe-se que a sua transcrição é influenciada pelo EGF, pelos estrogénicos, pelos glucocorticóides, pela proteínquinase, pelo ácido retinóico, e pela hormona tiroideia.

O TGF- α maduro é clivado da sua molécula percursora pela proteína TACE (tumor necrosis factor alfa converting enzyme), e a sua forma solúvel atua de forma autócrina e parácrina através duma ligação de alta afinidade para o seu receptor, o EGF-R. A sua expressão é ubíqua e este factor de crescimento (FC) está presente nos sistemas endócrino, hematopoiético, imunológico, esquelético, nervoso, respiratório e urinário.

O TGF- α está hiperexpresso em muitas células displásicas e tumorais. Encontra-se envolvido em efeitos proliferativos, de diferenciação celular, de transformação-promoção celular, de angiogénese, de reabsorção óssea, de metabolismo celular, de cicatrização, e de migração celular (1).

A nível do órgão próstata, o TGF- α é produzido no tecido de próstata normal, na hiperplasia benigna da próstata (HBP), em várias linhas celulares eternizadas de carcinoma da próstata (CP), no CP humano androgénico-sensível, e sobretudo pelo CP metastático androgénico-insensível, onde assume um comportamento

mitogénico autócrino importante, partilhando com o EGF o papel de ligante para o EGF-R (2).

Até ao presente detectaram-se um aumento de expressão tecidual do TGF- α nos tumores prostáticos com Gleason elevado, e imunofixação intensa para o TGF- α em 78% de 18 metástases ósseas de doentes com CP androgénico-insensível, e numa subpopulação de CP androgénico-insensível, composta por células neuroendócrinas.

Expressão do TGF- α na próstata fetal, neonatal e pré-pubertária humanas

A próstata fetal humana exprime transcriptos de ARNm de alguns FCs, entre os quais o TGF- α (3).

A análise dos diferentes compartimentos prostáticos do feto humano revelou a localização imunohistoquímica do TGF- α , tanto nas células basais como nas células secretoras (4).

Curiosamente a mesma análise em glândulas neonatais e pré-pubertárias mostrou a detecção imunohistoquímica forte nas células musculares lisas, mas já muito discreta nas células secretoras (4).

Expressão do TGF- α no tecido prostático normal do homem

O tecido prostático humano normal produz vários FCs entre os quais o TGF- α (5).

Inicialmente a expressão imunohistoquímica do TGF- α apenas detectou este FC no estroma, onde o EGF-R não está expresso, e não no epitélio, onde o EGF-R está expresso, deduzindo-se obviamente um modo de acção parácrino entre o ligante produzido no estroma e o receptor deste eixo, produzido no epitélio da próstata normal (2, 4, 6, 7).

A análise da expressão do ARNm nestes tecidos revelou transcriptos de quase todos os GFs, incluindo o TGF- α , e dos respectivos receptores (3).

Mais recentemente foi detectada imunoreactividade para o TGF- α em áreas focais de próstata normal, mas limitada a células epiteliais basais (8).

O líquido prostático dos indivíduos sem patologia prostática aparente, sem HBP ou CP, apresentou níveis de TGF- α detectáveis, com uma mediana de 0,58 ng/ml. Estes níveis não foram significativamente diferentes dos casos com HBP, com uma mediana de 0,45 ng/ml, ou dos casos com CP, com uma mediana de 0,63 ng/ml (9).

A administração de TGF- α exógeno a linhas celulares não neoplásicas, linhas CAPE, revelou que o TGF- α tem capacidade clonogénica, e é capaz de induzir expressão constitutiva quer do ARNm do TGF- α , quer do próprio TGF- α por essas células (10).

O TGF- α exógeno, estudado no estroma da zona periférica prostática normal, tem também a capacidade de, conjuntamente com o bFGF, o EGF e o PDGF, co-promover o desenvolvimento dum fenótipo celular de fibroblasto, ao contrário do TGF- α que promove fundamentalmente o desenvolvimento dum fenótipo celular de músculo liso (11).

Expressão do TGF- α no tecido de Hiperplasia Benigna da Próstata (HBP)

A análise da expressão de ARNm de FCs na HBP revelou transcriptos de quase todos, incluindo o TGF- α , bem como dos respectivos receptores (3).

O tecido de HBP obtido quer a partir de material de biópsia, quer de ressecção trans-uretral da próstata (RTUP), quer de peças de prostatectomia radical (PR),

tem revelado positividade de expressão do TGF- α (4, 6-9, 12-18).

Inicialmente detectou-se positividade para a proteína do TGF- α praticamente só no estroma, e não no epitélio glandular da HBP (6, 16), quase que exclusivamente no músculo liso, e com muito mais intensidade que no tecido prostático normal (4).

Mais recentemente a positividade imunohistoquímica na HBP revelou uma expressão difusa, mais escassa no estroma e mais abundante tanto nas células basais como nas células secretoras, o que demonstra um início de transformação do comportamento autócrino em parácrino, para estimulação das células basais (7-8).

A taxa de positividade obtida pelos diferentes autores varia consoante são utilizadas técnicas de radioimunoensaio ou de imunohistoquímica, não parecendo ser muito elevada (0% a 15%), sobretudo no que respeita ao grau de expressão forte (4, 12, 14, 15, 17, 18).

Na HBP parece haver uma aparente correlação entre o grau de expressão do TGF- α e do EGF, mas não com a concentração de DHT (13).

No entanto a produção e secreção dos peptídeos do eixo EGF, onde o TGF- α se inclui, aumenta na presença dos androgéneos em circulação, a T e a DHT (19).

O líquido prostático dos indivíduos com HBP apresenta os mais baixos níveis de TGF- α detectáveis, com uma mediana de 0,45 ng/ml; embora não significativamente diferente dos casos normais, com uma mediana de 0,58 ng/ml; ou de casos com CP, com uma mediana de 0,63 ng/ml (9).

Expressão do TGF- α nas linhas celulares eternizadas de CP

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível LNCaP, portadora de receptor androgénico (AR), sintetiza e secreta vários FCs, incluindo o TGF- α (20-25).

As células LNCaP apresentam níveis intracelulares 10 a 100 vezes inferiores de TGF- α , comparativamente com os níveis de EGF (20, 26), e é pouco sensível à manipulação de TGF- α exógeno (24, 27).

Inicialmente os estudos com o androgéneo sintético R 1881 sugeriram que o crescimento celular desta linha fosse fruto mais de mutação do AR do que da mediação pela regulação da secreção dos ligantes EGF ou TGF- α (21). Posteriormente estudos com T exógena demonstraram o envolvimento dos dois ligantes na proliferação celular por via autócrina (22).

Descobriu-se que nas células LNCaP existe um Eixo EGF estimulatório autócrino (EGF, TGF- α , e EGF-R), regulado localmente pela T, através da estimulação de expressão de EGF-R, e em simultâneo uma ansa inibitória autócrina mediada pela LH-RH, também localmente produzida e regulada pela T (28).

No entanto o próprio TGF- α pode induzir supra-regulação (hiperexpressão) quer do ARNm do EGF-R, quer do próprio EGF-R (29).

A utilização de agonistas da LH-RH sobre células LNCaP mostrou que estes são capazes de contrariar a acção mitogénica do eixo EGF, e também a proliferação celular induzida pela Testosterona (30).

Nas células LNCaP o TGF- α também regula o crescimento celular em função dos metabolitos biologicamente activos, em que promove a degradação da T, através do privilégio da via oxidativa sobre a via reductiva, elevando a produção intracelular de DHT e de 3- α -diol (31).

A expressão do ARNm nas células LNCaP revelou também transcriptos de quase todos os FCs, incluindo o TGF- α (3). Não há agora quaisquer dúvidas quanto à capacidade do TGF- α em acelerar o crescimento das células LNCaP (25, 29, 32).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível ALVA 101, portadora de AR, demonstrou ser fácil de estimular pelos androgéneos exógenos T e DHT, com aumento de síntese de ARNm do TGF- α , de TGF- α , e do ARNm do EGF-R, bem como aumento de expressão de EGF-R, sugerindo também o envolvimento do TGF- α no mecanismo de estimulação autócrina desta linha celular (33).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível MDA.PCa2a, apresenta o mesmo tipo de comportamento que a LNCaP, produzindo PSA e moléculas de adesão à matriz, a fibronectina e a laminina, sob a estimulação dos androgéneos, e responde também ao estímulo proliferativo quer do TGF- α quer do EGF (32).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível CWR22, apresenta imunofixação forte para o TGF- α em apenas 10% das células, e esta taxa não é alterada pela administração exógena de T (34).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível TEN12, portadora de AR, exprime PSA, TGF- α , VEGF, EGF-R e c-erb-B2. A castração do rato atímico transplantado permite verificar a redução da expressão do TGF- α (35).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível primária ND-1, revelou transcriptos de quase todos os FCs, incluindo o TGF- α , mas não de EGF ou de KGF (3).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível DU145, não portadora de AR, também sintetiza e secreta vários FCs, incluindo o TGF- α (20, 23-25, 36-38).

As células DU145 exprimem 10 a 100 vezes mais ARNm do TGF- α e de ARNm do EGF que as células LNCaP (3, 9, 26), e são pouco sensíveis à manipulação do TGF- α exógeno (27).

Para uns autores o TGF- α não representa qualquer estímulo proliferativo para as células DU145 (32), enquanto que para outros o TGF- α comporta-se como estimulador autócrino, a par do EGF, aumentando quer o número de células quer o número de transcriptos do EGF-R, (29, 37, 38). Esta ansa estimulatória poderá ser bloqueada pela suramina por forma citostática (38).

Os estudos de invasividade das células DU145 revelaram que estas são pouco sensíveis à manipulação de TGF- α exógeno, mas bastante sensíveis ao TGF- α e ao HGF exógenos (27).

A análise comparativa entre 3 linhas aparentadas de DU145 (DU145 parental, DU145-WT, e DU145-c 973EGF-R) revelou que a capacidade de invasividade celular de cada estirpe é independente da capacidade individual de proliferação celular, e está mais na dependência do tipo de sinalização do eixo EGF do que da secreção diferencial de proteases colagenolíticas (39).

A utilização de agonistas da LH-RH sobre células DU145 mostrou que estes são capazes de contrariar a acção mitogénica do Eixo EGF, e também a proliferação celular induzida pela T (30).

Nas células DU145, o TGF- α também regula o crescimento celular pelo tipo de metabolitos biologicamente activos em que promove a degradação da T, elevando a produção intracelular de 5- α -androstenediona e reduzindo a produção de androsterona (31).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível PC3, não portadora de AR, também sintetiza e secreta vários FCs, incluindo o TGF- α (3, 10, 23-25, 31, 38, 40).

A expressão do ARNm do TGF- α nas células PC3 revelou também transcriptos de quase todos os GFs, incluindo o TGF- α (3).

As células Pc3 parecem exprimir 10 a 100 vezes mais ARNm de TGF- α e de ARNm do EGF que as células LNCaP (23, 26); no entanto a expressão espontânea da proteína TGF- α é baixa (24).

Nas células PC3 as interações TGF- α /EGF-R são parcialmente responsáveis pelo crescimento celular autónomo (via autócrina), representando um dos mecanismos de proliferação de tipo androgéneo-independente (29, 38, 40).

Nas células PC3 o TGF- α também regula o crescimento celular pelo tipo de metabolitos biologicamente activos em que promove a degradação da T, influenciando parcialmente tanto a via oxidativa como a via redutiva, elevando a produção intracelular de androstenediona e dos seus 17-ceto-metabolitos (31).

O TGF- α exógeno apenas estimula o crescimento de baixas densidades de população de células PC3 (10, 24, 27, 29, 32, 40), não conseguindo um crescimento celular superior a 35% (24).

Também não se encontrou uma correlação entre o grau de crescimento celular e os níveis constitutivos da proteína do TGF- α ou do ARNm do TGF- α , o que permite sugerir aqui a existência de outros eixos envolvidos na regulação autócrina da proliferação celular (10). Nestas células esta ansa estimulatória pode ser bloqueada pela suramina por forma citostática, reduzindo a especificidade de ligação do ligante ao receptor celular (38).

Os estudos de invasividade das células PC3 revelaram que também estas são pouco sensíveis à manipulação pelos TGF- α , TGF- β , ou HGF exógenos (27).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível CWR22R, em contraste com a sua congénere androgéneo-sensível, apresenta imunofixação forte para o TGF- α em 30% das células, e revela uma co-localização intracelular de TGF- α e de EGF-R, o que é altamente favorável à presença duma via autócrina de crescimento androgéneo-independente (34).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível TEN12F, apresenta uma morfologia mais anaplásica, com aumento de expressão do EGF-R de membrana, disponibilizando mais possibilidade de estímulo proliferativo por parte dos respectivos ligantes TGF- α e EGF (35).

Expressão do TGF- α nas lesões pré-malignas

Nas Lesões Pré-Malignas (PIN III) do CP detectadas em material de biópsias prostáticas, Lloyd et al detectaram por imunohistoquímica positividade para o TGF- α , tanto nos elementos glandulares como nos elementos do estroma, o que é favorável à presença de mecanismos parácrinos e autócrinos no crescimento maligno (12).

Em 24 peças de prostatectomia radical (PR) com Lesões Pré-Malignas (PIN III) a positividade imunohistoquímica para o TGF- α , estudada por Robertson et al, foi forte no estroma, em 20 dos 24 casos, enquanto

que se apresentou leve ou moderada nas células epiteliais, em apenas 2 dos 24 casos (16).

Outros autores como Leav et al e Harper et al, em material de proveniência variada (RTUP, PR, Autópsia), encontraram, pelo contrário, expressão forte de TGF- α , acompanhada de expressão moderada ou forte, mas difusa, do respectivo receptor EGF-R, na maioria das células epiteliais secretoras (4, 18).

Curiosamente o estudo das Lesões de Hiperplasia Adenomatóide Atípica (HAA) por Harper et al, revelou um padrão fenotípico bem distinto dos de PIN III e de CP, sem actividade proliferativa (MIB-1 negativas), reduzida expressão de AR e de E-caderina, e ausência de expressão de TGF- α ou de EGF-R, o que eliminou definitivamente a hipótese da sua capacidade de progressão para neoplasia, ao contrário do que era pensado até há pouco (18).

Expressão do TGF- α no CP primário

O TGF- α está expresso numa percentagem razoável de casos com CP (4, 5, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 41), sendo considerado como o FC mais importante do eixo EGF no crescimento das células carcinomatosas prostáticas (10, 19, 42).

Pela análise dos trabalhos disponíveis em linhas celulares eternizadas e em material de peças operatórias, subentendemos a noção de que, durante o desenvolvimento e manutenção dum fenótipo maligno, sobretudo de tipo androgéneo-insensível, independentemente de poder haver alterações moleculares ou supra-regulação do EGF-R por mecanismos complexos, parece haver por parte do tumor uma mudança na qualidade da produção do ligante predominante, de EGF para TGF- α , transformando o modo de acção local sobre o EGF-R, de parácrino para autócrino (4, 7, 37, 42-47).

O grau de positividade imunohistoquímica para o TGF- α em material de biópsia com Carcinoma da Próstata pode variar bastante conforme a utilização do método de estudo.

Assim, para Lloyd et al utilizando o radioimunoensaio, o grau de positividade não diferiu entre as biópsias com tecido benigno (71%) e as biópsias com cancro (69%); no entanto utilizando a imunohistoquímica, emergiu uma diferença significativa do grau de positividade a favor do cancro, com 15% de biópsia benignas TGF- α positivas versus 53% de biópsia malignas TGF- α positivas (12).

Num estudo com 57 CP obtidos por PR, Robertson et al encontrou um grau de imunoreactividade para o

TGF- α significativamente menor no CP que no HBP, com 48% de casos TGF- α positivos no estroma (27 em 57), e apenas 7% de casos TGF- α positivos no epitélio (4 em 57), enquanto que a localização preferencial para o EGF-R foi a camada basal do epitélio glandular (16).

Num estudo com 37 CP obtidos por RTUP, Scher et al observaram também uma imunoreactividade para o TGF- α predominante no estroma, particularmente em células adjacentes a nervos, com expressão rara e fraca em células epiteliais (41).

Noutro estudo em material de RTUP, também Glynne-Jones observou níveis mais elevados de TGF- α em 55 CP quando comparados com 44 HBP (45). Mais recentemente De Miguel et al afirmaram que, independentemente de existir concordância com a maior expressão de TGF- α em casos de CP, comparativamente com casos normais ou de HBP, essa expressão pelo contrário parasse ser mais intensa nas células epiteliais do que no estroma (46).

Comparativamente com várias linhas celulares, as de CP foram as que apresentaram os níveis mais elevados de TGF- α e de EGF, no entanto as respostas clonogénicas ao TGF- α exógeno não se correlacionaram com os níveis constitutivos quer da proteína do TGF- α quer do ARNm do TGF- α , chamando a atenção para a existência do envolvimento de outros eixos de regulação autócrina da proliferação celular (10).

As expressões do ARNm do TGF- α e do ARNm do EGF foram significativamente mais elevadas em 13 CP que em 21 HBP para Ching et al (23), e as expressões do ARNm do TGF- α e do ARNm do EGF-R foram significativamente mais elevadas em 55 CP que em 44 HBP para Glynne-Jones et al (45). Comparativamente com várias linhas celulares, as de CP foram as que apresentaram os níveis mais elevados de ARNm do TGF- α , segundo Jones et al (10).

O mais interessante é o facto de Yang et al terem encontrado uma correlação positiva e directa entre a expressão do TGF- α e o EGF (13), bem como Hellawell et al e Glynne-Jones et al descobrirem o mesmo tipo de correlação entre a expressão do TGF- α e o EGF-R (7, 45).

A análise de co-expressão do TGF- α e dos marcadores de proliferação celular Ki-67 e PCNA, em 76 casos de CP obtidos por RTUP, para Harper et al não demonstrou qualquer tipo de correlação significativa entre eles (14). O mesmo aconteceu com Glynne-Jones et al noutro estudo com 55 CP, onde não se encontraram correlação entre TGF- α e o Index de Proliferação Celular, levantando os autores a hipótese de o TGF- α poder estar ligado a outros aspectos da activi-

dade maligna, que não o duma estimulação directa da proliferação celular (45).

O líquido prostático dos indivíduos com CP apresenta os mais altos níveis de TGF- α detectáveis, com uma mediana de 0,63 ng/ml, embora não significativamente diferente dos casos normais (mediana 0,58 ng/ml), ou com HBP (mediana 0,45 ng/ml); para os 19 CP do estudo de Gann et al, não houve diferenças de níveis de TGF- α em função do estadio ou do grau de Gleason dos tumores (9).

Yang et al em 19 CP obtidos por RTUP, com determinação do grau de Gleason em 13, encontrou que não só as concentrações de TGF- α e de EGF aumentavam à medida que havia agravamento da diferenciação histológica, como a concentração de TGF- α apresentava uma correlação significativa com o grau de Gleason (13).

Também Harper et al detectou uma correlação directa e significativa entre o grau de imunofixação para TGF- α e o grau de Gleason, num trabalho contemplando 76 CP obtidos por RTUP, com determinação do grau de Gleason em todos (14).

Noutro estudo com 55 CP também Glynne-Jones et al encontrou uma tendência significativa para um aumento de expressão do TGF- α e do EGF-R a par do aumento do grau de Gleason (17).

Finalmente um quarto estudo envolvendo vários tipos celulares primários prostáticos presentes desde a idade fetal até à presença de CP com grau de Gleason 3 e 4, de Leav et al, verificou que no caso dos últimos, a maioria das células neoplásicas exprimiam TGF- α e EGF-R (4).

Sabe-se que o TGF- α é expresso por vários tumores neuroendócrinos. As células neuroendócrinas das glândulas prostáticas são moduladas directamente pelos FCs EGF e TGF- α , e não por hormonas, dado que não possuem AR e sendo androgénico-independentes; é também possível que tanto as células basais como as células epiteliais possam influenciar as células neuroendócrinas através de sinalização cruzada a nível das junções celulares (48).

Curiosamente num estudo anterior sobre o factor de crescimento endotelial vascular, o VEGF, em 45 CP, já se tinha descoberto que as células neuroendócrinas focalmente presentes apresentavam imunoreactividade intensa para o TGF- α , e que também existia uma correlação significativa entre o grau de imunofixação do VEGF e o TGF- α na totalidade das células de CP analisadas, levando Harper et al a considerarem a co-localização destes dois factores angiogénicos como uma entreeajuda na neovascularização tumoral prostática, contribuindo para o desenvolvimento dum fenótipo mais agressivo (49).

Expressão do TGF- α nas metástases ósseas do CP

Esta expressão foi escassamente avaliada até ao presente. Scher et al. em tecido proveniente de 22 Metástases Ósseas de CP androgénico-insensível, detectaram imunexpressão para o TGF- α em 78% dos casos (14 em 18), e em todos eles encontraram co-localização do TGF- α com o EGF-R, o que é muito sugestivo da passagem duma actuação parácrina do Eixo EGF no CP primário, para uma actuação autócrina no CP androgénico-insensível (hormono-resistente) (41).

Níveis séricos de TGF- α e factores de prognóstico do CP

Por um lado é do conhecimento geral que algumas citocinas ou FCs séricos funcionam como factores de prognóstico de progressão no cancro da próstata.

Por outro lado existe uma escassez de trabalhos de investigação clínica sobre os níveis circulantes de TGF- α neste tipo de doentes, assim como sobre o comportamento do TGF- α sérico consoante os diferentes grupos de prognóstico de recidiva/progressão do CP.

Os estudos com voluntários utilizados para aferição dos testes comerciais, mostraram que só cerca de 30% dos indivíduos testados apresentaram valores detectáveis de TGF- α circulantes, e nestes a média do FC no soro foi de 21.9 pg/ml (variando entre indetectável e 32 pg/ml), enquanto que no plasma todas as determinações foram inferiores a 15,6 pg/ml (1).

Um estudo envolvendo 113 CP em vários estádios clínicos e previamente não tratados, 43 dos quais posteriormente sujeitos a PR, revelou TGF- α no soro detectável em todos os casos, com uma média de 10,6 pg/ml (variando entre 2,2 e 63,3 pg/ml) (50). Nesta série não foi possível detectar diferenças significativas deste FC entre os diferentes grupos de estágio clínico ou patológico TNM-UICC-2002, de grau de Gleason na biopsia prostática ou na peça de PR, de PSA total ou PSA complexado, ou de grupos de risco de D'AMICO (50).

Conclusão

Na próstata o TGF- α é produzido em todo o tipo de tecidos, com expressão progressivamente mais impor-

tante à medida que caminhamos dos tecidos benignos para o cancro.

Dentro das populações celulares de CP, o progressivo aumento de expressão tecidual do TGF- α paralelo ao aumento de grau de Gleason é um achado unânime entre os investigadores.

Os escassos estudos clínico-laboratoriais apontam para um papel progressivamente mais importante do TGF- α quando o CP assume fenotipagens de androgénico-insensibilidade, detectados quer em metástases de doentes em hormono-resistência, quer em doentes portadores de tumores com populações celulares neuroendócrinas, onde indubitavelmente desempenha um papel mitogénico autócrino, ultrapassando a importância do EGF na estimulação do receptor comum aos dois ligante, o EGF-R.

Bibliografia

1. Quantikine Human TGF α Immunoassay, Catalog Number DTGA00. R&D Systems, Inc. Minneapolis, USA. 1994
2. 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.
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. G. O. Hellawell, S. F. Brewster. 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- α 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 TGF β -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- α 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 α 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 α 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- α , 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 α 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- α 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- α 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. 1. 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 α 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- α 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, Oelschlagel 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 alpha-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 alpha. *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 alpha 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 alpha, epidermal growth factor, and epidermal growth factor receptor in normal, hyperplastic and neoplastic human prostates. *Cytokine*. 1999 Sep; 11(9):722-7.
47. Arie Beldegrun, 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. F. Pina, G. Figueiredo, N. Lunet, N. Tomada, L. Saraiva, F. Cruz, H. Barros. *O Transforming Growth Factor-alfa (TGF- α) Sérico Humano em 113 Carcinomas da Próstata (CP) Não Tratados: Relação com Fatores 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, Begnin 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