



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE

EDUARDO MACIEL NARVAES

**EXPRESSÃO DOS GENES BRCA1 E BRCA2 EM PACIENTES SUBMETIDOS
A BIÓPSIA TRANSRETAL DE PRÓSTATA**

Rondonópolis

2023

EDUARDO MACIEL NARVAES

**EXPRESSÃO DOS GENES BRCA1 E BRCA2 EM PACIENTES SUBMETIDOS
A BIÓPSIA TRANSRETAL DE PRÓSTATA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Federal de Rondonópolis como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biociências e Saúde.

Orientador (a): Claudinéia de Araújo.

Coorientador (a): Patrícia Lemos de Lima Bonfim.

Rondonópolis

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte
Ficha Catalográfica elaborada de forma automática com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

N238e Narvaes, Eduardo Maciel.
EXPRESSÃO DOS GENES BRCA1 E BRCA2 EM PACIENTES
SUBMETIDOS A BIÓPSIA TRANSRETAL DE PROSTATA [recurso eletrônico] /
Eduardo Maciel Narvaes. – Dados eletrônicos (1 arquivo : 37 f., pdf). – 2023.
Orientador(a): Claudinéia de Araujo.
Coorientador(a): Patricia Lemos de Lima Bonfim.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Rondonópolis, Faculdade de
Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde,
Rondonópolis, 2023.
Inclui bibliografia.
1. Gene BRCA1. 2. Gene BRCA2. 3. Expressão gênica. 4. Câncer de próstata.
5. Escore de Gleason. I. Araujo, Claudinéia de, *orientador*. II. Bonfim, Patricia
Lemos de Lima, *coorientador*. III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDONÓPOLIS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: EXPRESSÃO DOS GENES BRCA1 E BRCA2 EM PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA TRANSRETAL DE PRÓSTATA

AUTOR: MESTRANDO EDUARDO MACIEL NARVAES

Dissertação defendida e aprovada em **08** de **DEZEMBRO** de **2023**

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

1. Profa. Dra. Claudinéia de Araújo (Presidente Banca / Orientadora)

INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Rondonópolis

2. Profa. Dra. Magda de Mattos (Membro Interno)

INSTITUIÇÃO: Universidade Federal de Rondonópolis

3. Profa. Dra. Ana Paula Barberio Bogdan (Membro Externo)

INSTITUIÇÃO: Faculdade Medicina de São José do Rio Preto

Rondonópolis, 08/12/2023.



Documento assinado eletronicamente por **Claudinéia de Araújo, Docente UFR**, em 12/12/2023, às 18:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Magda de Mattos, Docente UFR**, em 12/12/2023, às 18:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Paula Barberio Bogdan, Usuário Externo**, em 10/01/2024, às 10:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufr.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0260746** e o código CRC **242FD844**.

Referência: Processo nº 23853.013668/2023-86

SEI nº 0260746

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Ludiele Souza “Tuti” Castro, por ter me ajudado e suportado durante todo este processo. Por não deixar de me incentivar todos os dias e não me deixar desistir mesmo durante os últimos momentos desta trajetória. Pela parceria diária, pelo incentivo contínuo e extrema paciência.

A minha orientadora, Profa. Dra. Claudinéia de Araújo, pela parceria neste projeto, mesmo antes da existência do programa de pós-graduação. Aceitar um aluno “velho”, com manias próprias e peculiares, não foi fácil! Obrigado por todas as contribuições, finais de tarde prolongados e dedicação permanente.

A minha coorientadora Profa. Dra. Patrícia Lemos de Lima Bonfim, pela ajuda e contribuições durante as análises estatísticas.

A minha companheira de coletas matutinas e bancadas vespertinas. Ma. Alyna Araújo e Marcondes, por tantas vezes que me explicou e me guiou no mundo das reações em cadeia da polimerase (PCRs).

Aos meus professores, durante o programa, Dr. João Gabriel Guimarães Luz, Dr. Bruno Moreira Carneiro e Dra. Sabrina Casaroti, pelas contribuições durante as disciplinas. Se consegui evoluir durante todo este espinhoso caminho da pós-graduação, devo muito a vocês.

As Profa. Dra. Juliana Chaves Pavoni e Profa. Dra. Magda de Mattos, membros da banca de qualificação, por todas as contribuições naquele momento de dúvidas e incertezas.

A Profa. Dra. Ana Paula Barberio Bogdan, por me guiar nos caminhos da Urologia desde 2011. Por ter me oportunizado, em 2013, fazer parte de um capítulo de livro tão referenciado dentro da nossa especialidade no Brasil e dez anos depois, aceitar prontamente o convite para compor a banca de defesa do meu mestrado.

A Regina Tavares, enfermeira e parceira de trabalho de todos os dias, e ao antigo aluno e agora colega de profissão Roberto de Andrade Garcia Filho, pelas contribuições no início do projeto durante as coletas.

RESUMO

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo mais comum de câncer entre a população masculina. Mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 são conhecidas por estarem relacionadas com a evolução do câncer de mama e ovário e vem sendo analisadas quando ao aumento de risco de desenvolvimento de CaP. Produzir informações quanto a caracterização da expressão gênica de BRCA1 e BRCA2, e correlacionar com critérios de gravidade do câncer de próstata se faz importante para detecção precoce de formas mais agressivas deste tumor. Foram coletadas amostras de fragmentos teciduais de biopsia de próstata trans retal de 89 indivíduos. Amostras de oitenta e quatro pacientes foram encaminhadas para realização de técnicas moleculares para obtenção das quantidades relativas da expressão dos transcritos BRCA1 e BRCA2 através de reações em cadeia da polimerase (PCRs). Vinte e seis (30,90%) apresentaram resultado positivo para CaP e estiveram associados a um nível de PSA > 10 ng/ml ($p=0,019$). A mediana de expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 em fragmentos negativos foi maior em casos de pacientes positivos para CaP com $p=0,002$ e $p=0,038$, respectivamente. Não houve diferença estatística na expressão dos genes BRCA1 e BRCA2, conforme classificação de Gleason e valores do PSA. A mediana da expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 foi maior em fragmentos negativos de pacientes com câncer de próstata quando comparados fragmentos de indivíduos não portadores de neoplasia prostática. Compreender a relação entre a expressão dos genes BRCA1 e BRCA2, suas mutações e o desenvolvimento do CaP ainda é um grande desafio, entretanto, a maior expressão destes genes em fragmentos negativos de pacientes com câncer pode inferir a relação destes com o desenvolvimento de um fenótipo maligno, o que pode vir a ser comprovado a partir da análise de um maior número de amostras e, conseqüente correlação com o processo desta doença.

Palavras-chave: gene BRCA1; gene BRCA2; expressão gênica; câncer de próstata; escore de Gleason.

ABSTRACT

Prostate cancer (PCa) is the second most common type of cancer among the male population. The BRCA1 and BRCA2 genes are known to be related to the progression of breast and ovarian cancer. Providing information regarding the characterization of BRCA1 and BRCA2 gene expression, and correlating it with prostate cancer severity criteria, is important for early detection of more aggressive forms of this tumor. Samples of trans-rectal prostate biopsy fragments were collected from 89 individuals. Samples from eighty-four patients were sent for molecular techniques to obtain the relative amounts of BRCA1 and BRCA2 transcript expression through polymerase chain reactions (PCRs). Twenty-six (30.90%) tested positive for PCa and were associated with a PSA level > 10 ng/ml ($p=0.019$). The median expression of BRCA1 and BRCA2 genes in negative fragments was higher in cases of patients positive for PCa with $p=0.002$ and $p=0.038$, respectively. There was no statistical difference in the expression of the BRCA1 and BRCA2 genes, according to Gleason classification and PSA values. The median expression of the BRCA1 and BRCA2 genes is higher in negative fragments from patients with prostate cancer when compared to fragments from individuals without prostate cancer. Understanding the relationship between the expression of the BRCA1 and BRCA2 genes, their mutations, and the development of PCa is still a major challenge, however, the greater expression of these genes in negative fragments of cancer patients can infer their relationship with the development of a phenotype malignant, which can be proven through the analysis of a larger number of samples and, consequently, is transparent with the process of this disease.

Keywords: BRCA1 gene, BRCA2 gene, gene expression, prostate cancer, Gleason Score.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 Próstata	9
2.2 Câncer de próstata	9
2.3 Biópsia de próstata	11
2.4 Histopatologia	12
2.5 Genes BRCA1 e BRCA2	13
3. OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo geral	15
3.2 Objetivos específicos	15
4. REFERÊNCIAS	16
5. ARTIGO CIENTÍFICO	20
6. APÊNDICE A - TCLE	36

1 INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo mais comum de tumor maligno em homens em todo mundo. Em 2018, foram estimados 1,3 milhão de novos casos em todo mundo, sendo a quinta causa mais comum de morte em homens (BRAY et. al., 2018). No Brasil, para cada ano do triênio 2023-2025, estão previstos mais de 71 mil novos casos, correspondendo a um risco estimado de 67,86 casos novos a cada 100 mil homens (INCA, 2023).

Vários subtipos histológicos podem ser encontrados nos diagnósticos de neoplasia de próstata, sendo que o adenocarcinoma acinar é o subtipo mais comum, correspondendo a mais de 99% de todos os tumores (MARCUS et. al., 2012).

Sabe-se que o câncer de próstata se correlaciona fortemente com a hereditariedade, entretanto a capacidade de definir síndromes hereditárias e identificar genes correlatos a este tipo de câncer tem sido limitada (MUCCI et. al., 2016). Algumas populações europeias têm sido estudadas a fim de identificar uma série de genes responsáveis pelo câncer de próstata hereditário (BREYER et. al., 2012).

A progressão do CaP vem sendo associada à desregulação de diversos tipos de genes implicados no controle do crescimento e na estabilidade genética. Neste contexto, os genes BRCA1 e BRCA2 estão sendo amplamente estudados para ajudar a prever o potencial de gravidade dos tumores de próstata, uma vez que a reparação de danos do DNA é uma via essencial para garantir sobrevivência das células normais e tumorais (LANG et. al., 2019).

Deste modo, a proposta desse estudo foi determinar a expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 em pacientes submetidos à biópsia trans retal da próstata em homens atendidos na região sul de Mato Grosso e correlacionar com critérios de gravidade do câncer de próstata e com características anátomo patológicas dos fragmentos retirados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Próstata

A próstata é uma estrutura glandular única que secreta um líquido em sua porção uretral através de diversos ductos e que tem em torno de 20g de peso na idade adulta. (HAMMERICH et. al., 2009). Possui uma base superiormente ao colo vesical, com a uretra e os ductos seminais penetrando na região central da próstata. Inferiormente o ápice da próstata repousa sobre a superfície superior do diafragma urogenital e posteriormente está intimamente relacionada com a superfície anterior do reto e separada deste pela fâscia de Denoviliers (SAMPAIO, 1999).

Com base em diferenças histológicas, o tecido glandular da próstata é dividido em 3 partes fusionadas em uma única estrutura. Essas três porções foram denominadas zona central, zona de transição e zona periférica. A zona central representa cerca de 20% da massa glandular prostática, envolvendo a uretra e os ductos seminais (HAMMERICH et. al., 2009). Na zona transicional, que normalmente corresponde a 5-10 % do volume da próstata, é onde ocorre a hiperplasia prostática benigna (HPB). A zona periférica, região correlacionada a capsula prostática onde se desenvolve a maior parte dos carcinomas, é a maior região da próstata e sua massa constitui cerca de 70% do tecido (FINE et. al., 2012).

A próstata é irrigada pela artéria vesical inferior, ramo da ilíaca interna, que ao aproximar-se da glândula se divide em dois ramos principais: artéria uretral e artéria da cápsula. A artéria uretral penetra na glândula através da junção prostato-vesical, sendo responsável por grande parte da vascularização nos casos de hiperplasia prostática benigna. O plexo venoso periprostático é derivado da veia dorsal profunda do pênis. Entrando na pelve, origina três ramos: o ramo central superficial e dois plexos laterais. Os plexos laterais drenam para a veia ilíaca interna, com comunicações dessas veias com as veias dos ossos pélvicos e com o plexo vertebral, fato que estaria envolvido na disseminação dos tumores prostáticos (BROOKS, 2002).

2.2. Câncer de Próstata

Mundialmente, o câncer de próstata é o quarto mais frequente entre o total de casos de câncer (7,3%). Em 2020, estimou-se 1,4 milhão de casos novos, equivalendo a

15,2% de todos os tipos de câncer entre homens. As maiores taxas de incidência de câncer de próstata foram observadas no Norte da Europa, na Europa Ocidental, no Caribe e na Oceania (FERLAY et. al., 2021). Considerado um câncer da terceira idade, já que cerca de 75% dos casos novos no mundo ocorrem a partir dos 65 anos (WILD et. al., 2020).

Nos Estados Unidos, é a segunda maior causa de morte dentre todos as neoplasias. Espera-se que a incidência aumente para cerca de 1,7 milhão de casos e cause a morte de cerca de 499.000 pessoas até o ano de 2030, apenas pelo envelhecimento da população (FERLAY et. al., 2010).

A idade, é um dos fatores de risco que está correlacionada ao aumento na incidência de CaP. O risco também é maior nas famílias em que um ascendente teve a doença, sendo que quanto mais precoce o diagnóstico maior é o risco atribuído aos descendentes (ZEEGERS et. al., 2003).

Dentre os fatores de risco podemos incluir o histórico familiar da doença, idade, estilo de vida, aspectos hormonais e genéticos. A incidência também é afetada pela raça dos indivíduos. Homens afrodescendentes demonstram maiores taxas de incidência, forma mais agressiva e maiores taxas de mortalidade (TAITT, 2018).

Nas últimas décadas, notou-se uma elevação da incidência do CaP. Tal situação está correlacionada ao envelhecimento populacional, melhor sensibilidade dos métodos diagnósticos e ampliação do rastreamento com Antígeno Prostático Específico (PSA) e do exame digital (LOEB et. al., 2014). Após a introdução sistemática da coleta do PSA observou-se uma redução de 32,5% da mortalidade e 75% do diagnóstico tardio do CaP nos Estados Unidos (ETZIONI et. al., 2008).

A evolução clínica do CaP ainda é incerta, alguns casos são de tumores mais agressivos com crescimento rápido, metastáticos podendo acarretar óbito precoce, enquanto outros possuem comportamento indolente, com crescimento locorregional lento e sem manifestação de sinais ou sintomas (BELL et. al., 2015).

O CaP é uma doença que em suas fases iniciais é assintomático ou oligossintomático. Os sintomas miccionais usualmente estão associados ao componente de hiperplasia benigna da próstata. O advento e introdução na prática clínica do PSA na década de 90, em conjunto com o exame de digital da próstata, possibilitou o diagnóstico

de tumores localizados, levando ao diagnóstico precoce na maioria dos casos (BRAWLEY, 2012).

A correlação entre o aumento da incidência, associado ao diagnóstico precoce devido à investigação de homens assintomáticos e à redução das taxas de mortalidade câncer específica apresentam evidências conflitantes acerca do benefício do rastreamento. Entretanto, o European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC), após 21 anos de acompanhamento, mostrou redução significativa na mortalidade câncer específica na ordem de 27% com o rastreamento feito baseado em PSA e rastreando homens assintomáticos de 55 a 74 anos (DE VOS et al. 2023).

Quando as suspeitas durante os exames de preventivo são fortalecidas, o paciente é encaminhando para o exame de diagnóstico que requer obtenção de tecido prostático, através da biópsia por agulha guiada por ultrasonografia via trans retal. Portanto, níveis elevados de PSA ou toque retal suspeito são as principais indicações de biópsia (ROSS et. al., 2010).

2.3. Biópsia da Próstata

A introdução das biópsias trans retais com agulha fina correlacionada a mensuração dos níveis de PSA sérico revolucionou a detecção precoce deste tipo de tumor, substituindo as biópsias trans perineais e o diagnóstico baseado apenas em alterações detectadas pelo exame digital. Porém, estudos com uma maior amostragem apontaram que a técnica por sextante tinha falso-negativo de 30%, principalmente em próstatas de maior volume (UZZO et. al., 1995).

O paciente é posicionado em decúbito lateral esquerdo e o probe ultrasonográfico trans retal é inserido após lubrificação. O bloqueio periprostático é guiado, sendo injetada xilocaína a 2% nos limites da inserção da vesícula seminal bilateralmente. A biópsia trans retal da próstata é considerado exame doloroso por 96% dos pacientes que o fazem sem anestesia, portanto o procedimento deve ser realizado sob alguma forma de anestesia (ZISMAN et. al., 2001).

A realização do exame sob sedação tem maior custo pois necessita de monitorização cardíaca e oximetria, entretanto promove uma melhor condição para a realização da coleta. O procedimento é contraindicado na presença de prostatite em

atividade, patologias anorretais complicadas, amputação retal, coagulopatia não corrigida e imunossupressão descompensadas (PONTES JR et. al., 2013).

As modificações da técnica foram baseadas na melhora da amostragem da zona periférica, com obtenção dos fragmentos no plano parasagital. Acredita-se que o mínimo de 12 fragmentos, abrangendo preferencialmente a zona periférica, deva ser amostrado em pacientes submetidos à primeira biópsia (REMZI et. al., 2005).

A profilaxia antibiótica está sempre indicada, não havendo consenso sobre o esquema terapêutico. O esquema mais utilizado é ciprofloxacina 500 mg via oral, iniciada na véspera do exame e continuada por três dias após a procedimento. Entretanto, é evidente um aumento da resistência bacteriana às quinolonas com elevação da ocorrência de casos de prostatites pós-biópsia. As taxas de resistência podem variar entre 11% e 23%, portanto a profilaxia com ciprofloxacina pode ser revisada (BATURA et. al., 2010).

2.4. Histopatologia

O número crescente de biópsias associado a coleta de um número maior de fragmentos (entre 12 e 18 por procedimento) eleva a dificuldade de diagnóstico histopatológico. Uma vez que, diversas lesões suspeitas têm sido encontradas em biópsias, aumentando a possibilidade de interpretação diagnóstica equivocada (BOTWICK, et. al. 2008).

O sistema de graduação de Gleason é universalmente aceito para o CaP e consiste na avaliação da arquitetura histológica do tumor, sendo classificada em 5 padrões. Entretanto, a pontuação de Gleason não é confiável para estratificação dos pacientes quanto a presença de variantes patogênicas. Superar essa limitação é particularmente crítico, porque o risco hereditário de câncer de próstata está associado a doenças mais agressivas e resultados piores (NICOLOSI et al., 2019).

Além disso, para fins terapêuticos alguns escores de Gleason foram incorretamente agrupados como se eles tivessem um prognóstico semelhante. A fim de reduzir estas limitações, um novo sistema de classificação foi proposto pela International Society of Urological Pathology (ISUP), resultando em 5 grupos distintos. A classificação simplificou as categorias de pontuações de Gleason de 2 a 10 para grupos de notas de 1 a 5 (VAN LEENDERS et al., 2019).

Após o diagnóstico, tanto o valor de PSA quanto a classificação de Gleason são usados como critérios de gravidade, sendo considerados como tumores de baixo risco aqueles que possuem nível de PSA ≤ 10 ng/mL e escore de Gleason ≤ 6 , com risco intermediário os que apresentam escore de Gleason de 7 ou nível de PSA > 10 e ≤ 20 ng/mL e com tumor de alto risco os que têm nível de PSA > 20 ng/mL ou Gleason ≥ 8 (D'AMICO et. al, 1998).

2.5. Genes BRCA1 e BRCA2

As células do CaP podem apresentar alterações genômicas, como mutações pontuais, deleções, ampliações e translocações. Outras alterações ocorrem durante processo de divisão celular, resultando em modificações diretas na sequência de DNA, incluindo metilação, modificação de histonas, acetilação, interferências de RNA, entre outras (CHAUX et. al., 2011).

Os genes BRCA1 e BRCA2, possuem a função de inibir o crescimento de tumores por meio de reparação das moléculas de DNA danificadas (JUNEJO et. al., 2020). Estes genes, que já são conhecidos por estarem relacionados com câncer de mama e ovário, estão sendo estudados para determinar o potencial de malignidade do câncer de próstata. Mutações deletérias destes genes estão associadas ao alto risco de desenvolvimento destes tumores e têm sido relacionadas a maior suscetibilidade genética para desenvolvimento deste tipo de tumor (KUCHENBAECKER et al., 2017 e NYBERG et al., 2020).

A expressão do gene BRCA1 tem sido relacionada a tumores de próstata mais proliferativos e aneuplóides, sendo mais comum em doença metastática (STOPSACK et al., 2020). Do mesmo modo que, a expressão da proteína 1 associada ao BRCA1, está relacionada a invasão linfovascular, a valores de PSA maior que 10 ng/ml e a tumores T3b (OH et al., 2020).

Um dos fatores de risco mais importantes para desenvolvimento de CaP é a história familiar. Mutações na linhagem germinativa de BRCA2, aumentam o risco de CaP em 8,6 vezes em homens com idade ≤ 65 anos (SONG et al., 2017).

Estudos tem demonstrado que mutações no gene BRCA2 podem estar associadas a risco de câncer de próstata mais agressivo e de alto grau com Gleason > 8 (PATEL et al., 2020), além de aumentar o risco de desenvolvimento de câncer de próstata em 2,5–4,7 vezes (ZHEN et al., 2018).

Ademais, os tumores de próstata com mutações neste gene têm características clínicas mais agressivas, incluindo maior probabilidade de envolvimento nodal, estágio clínico avançado e menor sobrevida (CASTRO et. al., 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar a expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 em pacientes submetidos à biópsia trans retal da próstata em homens atendidos na região sul de Mato Grosso.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar a expressão dos genes entre diferentes grupos;
- Correlacionar a expressão dos genes com as características anátomo patológicas das biópsias de próstata;
- Avaliar a correlação entre a expressão dos genes estudados com os valores do PSA;
- Demonstrar o perfil epidemiológico da população estudada.

4 REFERÊNCIAS

BATURA, D.; RAO, G. G.; NIELSEN, P. B. Prevalence of antimicrobial resistance in intestinal flora of patients undergoing prostatic biopsy: implications for prophylaxis and treatment of infections after biopsy. **BJU International**, v. 106, n. 7, p. 1017-1020, 2010. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.09294.x.

BELL, K. J. L.; DEL MAR, C.; WRIGHT, G.; DICKINSON, J.; GLASZIOU, P. Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies. **International Journal of Cancer**, v. 137, n. 7, p. 1749-1757, 2015. doi: 10.1002/ijc.29538.

BOSTWICK, D. G.; MEIERS, I. Neoplasms of the prostate. *In*: BOSTWICK, D. G.; CHENG, L. (ed.). **Urologic Surgical Pathology**. 2a ed. Philadelphia, PA: Mosby Elsevier, 2008. p. 443-579.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Estimativa 2023 – Incidência de câncer no Brasil**. [Brasília, DF]: Instituto Nacional do Câncer, 2023. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 24 de outubro de 2023.

BRAWLEY, O. W. Trends in Prostate Cancer in the United States. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**. v. 2012, n. 45, p.:152-156, 2012. doi: 10.1093/jncimonographs/lgs035.

BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**. v. 68, n. 6, p. 394–424, 20, 2018. doi: 10.3322/caac.21492.

BREYER, J. P.; AVRITT, T. G.; MCREYNOLDS, K. M.; DUPONT, W. D.; SMITH, J. R. Confirmation of the HOXB13 G84E germline mutation in familial prostate cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v. 21, n. 8, p.1348–1353, 2012. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0495.

BROOKS, J. D.: Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. *In*: KAVOUSSI L. R.; NOVICK, A. C.; PARTIN, A. W.; PETERS, C. A.; WEIN, A. J. (eds.). **Campbell's Urology**. 9th ed. New York: Saunders Elsevier; 2007: p. 38-80.

CASTRO, E.; GOH, C.; OLMOS, D.; SAUNDERS, E.; LEONGAMORNERT, D.; TYMRAKIEWICZ, M. et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. **Journal of Clinical Oncology**. v. 31, n. 14, p. 1748–1757, 2013. doi: 10.1200/JCO.2012.43.1882.

CHAUX, A.; ALBADINE, R.; TOUBAJI, A.; HICKS, J.; MEEKER, A.; PLATZ, E. A.; DE MARZO, A. M.; NETTO, G. J. Immunohistochemistry for ERG expression as a surrogate for TMPRSS2-ERG fusion detection in prostatic adenocarcinomas. **The American Journal of Surgical Pathology**. v. 35, n. 7, p.: 1014-1020, 2011. doi: 10.1097/PAS.0b013e31821e8761.

D'AMICO, A. V.; WHITTINGTON, R.; MALKOWICZ, S. B.; SCHULTZ, D.; BLANK, K.; BRODERICK, G. A.; TOMASZEWSKI, J. E.; RENSHAW, A. A.; KAPLAN, I.; BEARD, C. J.; WEIN, A. 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. doi: 10.1001/jama.280.11.969.

DE VOS, I. I.; MEERTENS, A.; HOGENHOUT, R.; REMMERS, S.; ROOBOL, M. J.; ERSPEC Rotterdam Study Group. A Detailed Evaluation of the Effect of Prostate-specific Antigen-based Screening on Morbidity and Mortality of Prostate Cancer: 21-year Follow-up Results of the Rotterdam Section of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer. **European Urology**. v. 84, n. 4, p.426-434, 2023. doi: 10.1016/j.eururo.2023.03.016.

ETZIONI, R.; GULATI, R.; FALCON, S.; PENSON, D. F. Impact of PSA screening on the incidence of advanced stage prostate cancer in the United States: a surveillance modeling approach. **Medical Decision Making**. v. 28, n. 3, p.:323-31, 2008. doi: 10.1177/0272989X07312719.

FERLAY, J.; SHIN, H. R.; BRAY, F.; FORMAN, D.; MATHERS, C.; PARKIN, D. M. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. **International Journal of Cancer**. v. 127, n. 12, p. 2893-2917, 2010. doi: 10.1002/ijc.25516

FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, PARKIN DM, PIÑEROS M, ZNAOR A, BRAY F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International Journal of Cancer**. v. 149, p.778-789, 2021. doi: 10.1002/ijc.33588.

FINE, S. W; REUTER, V. E. Anatomy of the prostate revisited: implications for prostate biopsy and zonal origins of prostate cancer. **Histopathology**. v. 60, n. 1, p.: 142-152, 2012. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04004.x.

JUNEJO, N. N.; ALKHATEEB, S. S. BRCA2 gene mutation and prostate cancer risk. **Saudi Medical Journal**, 41 n. 1, p.: 9–17, 2020. doi: 10.15537/smj.2020.1.24759.

HAMMERICH, K.; AYALA, G.; WHEELER, T. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. *In*: HRICAK H.; SCARDINO, P. (Eds.). **Prostate Cancer**. Cambridge: Cambridge University Press. 2009. p. 1-14 doi:10.1017/CBO9780511551994.003

KUCHENBAECKER, K. B.; HOPPER, J. L.; BARNES, D. R. et al. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. **JAMA**, v. 317, n. 23, p. 2402-2416, 2017. doi:10.1001/jama.2017.7112.

LANG, S. H.; SWIFT, S. L.; WHITE, H.; MISSO, K.; KLEIJNEN, J.; QUEK, R. G. W. A systematic review of the prevalence of DNA damage response gene mutations in prostate cancer. **Internacional Journal of Oncology**, v. 55, n. 3, p. 597-616, 2019. doi: 10.3892/ijo.2019.4842.

LOEB, S.; BJURLIN, M. A.; NICHOLSON, J.; TAMMELA, T. L.; PENSON, D. F.; CARTER, H. B.; CARROLL, P.; ETZIONI, R. Overdiagnosis and overtreatment of

prostate cancer. **European Urology**. v. 65, n. 6, p. 1046-1055. doi: 10.1016/j.eururo.2013.12.062

MARCUS, D. M.; GOODMAN, M.; JANI, A. B.; OSUNKOYA, A. O.; ROSSI, P. J. A comprehensive review of incidence and survival in patients with rare histological variants of prostate cancer in the United States from 1973 to 2008. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**. v. 15, n. 3, p.: 283–288. doi: 10.1038/pcan.2012.4.

MUCCI, L. A.; HJELMBORG, J. B.; HARRIS, J. R.; CZENE, K.; HAVELICK, D. J.; SCHEIKE, T.; et al. Familial risk and heritability of cancer among twins in Nordic countries. **JAMA**. v. 315, n.1, p. 68–76, 2016. doi:10.1001/jama.2015.17703

NICOLOSI, P.; LEDET, E.; YANG, S.; MICHALSKI, S.; FRESCHI, B.; O'LEARY, E.; ESPLIN, E. D.; NUSSBAUM, R. L.; SARTOR, O. Prevalence of germline variants in prostate cancer and implications for current genetic testing guidelines. **JAMA Oncology**, v. 5, n. 4, p. 523-528, 2019. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.6760.

NYBERG, T.; FROST, D.; BARROWDALE, D.; EVANS, D. G.; BANCROFT, E.; ADLARD, J.; et al. Prostate cancer risks for male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: A prospective cohort study. **European Urology**, v. 77, n. 1, p. 24-35, 2020. doi: 10.1016/j.eururo.2019.08.025.

OH, H.; LEE, Y. J.; KANG, S. G.; AHN, B.; KIM, E.; CHAE, Y. S.; LEE, Y.; LEE, J. H.; KIM, C. H. BRCA1-associated protein 1 expression and prognostic role in prostate adenocarcinoma. **Investigative and Clinical Urology**, v. 61, n. 2, p. 166-172, 2020. doi: 10.4111/icu.2020.61.2.166.

PATEL, V. L.; BUSCH, E. L.; FRIEBEL, T. M.; CRONIN, A.; LESLIE, G.; MCGUFFOG, L. Association of genomic domains in BRCA1 and BRCA2 with prostate cancer risk and aggressiveness. **Cancer Research**, v. 80, n. 3, p. 624-638, 2020. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-1840.

PONTES JR., J.; OLIVEIRA, L. C. N. Biópsia de Próstata - capítulo 86. *In*: NARDI, A. C.; ARCHIMEDES, N. JR.; BEZERRA, C. A.; FONSECA, C. E. C. (Org.). capítulo 86 no livro: **Urologia Brasil**. 1ed. São Paulo: Planmark, 2013, v. 1, p. 787-793.

REMZI, M.; FONG, Y. K.; DOBROVITS, M.; ANAGNOSTOU, T.; SEITZ, C.; WALDERT, M.; HARIK, M.; MARIHART, S.; MARBERGER, M.; DJAVAN, B. The Vienna nomogram: validation of a novel biopsy strategy defining the optimal number of cores based on patient age and total prostate volume. **The Journal of Urology**, v. 174, n. 4 pt 1, p. 1256-1260, 2005. doi: 10.1097/01.ju.0000173924.83392.cc.

ROSS, A. E.; LOEB, S.; LANDIS, P.; PARTIN, A. W.; EPSTEIN, J. I.; KETTERMANN, A.; FENG, Z.; CARTER, H. B.; WALSH, P. C. Prostate-specific antigen kinetics during follow-up are an unreliable trigger for intervention in a prostate cancer surveillance program. **Journal of Clinical Oncology**. v. 28, n. 17, p. 2810-2816, 2010. doi: 10.1200/JCO.2009.25.7311.

SAMPAIO, F. J. B.; FAVORITO, L. A.; RODRIGUES, H. C. Anatomia do sistema urinário aplicado à urologia, In: BARATA E CARVALHAL: **Urologia Princípios e Prática**, capítulo 1, Porto Alegre: ArtMed, 1999.

SONG, W. H.; KIM, S. H.; JOUNG, J. Y.; PARK, W. S.; SEO, H. K.; CHUNG, J.; LEE, K. H. Prostate Cancer in a Patient with a Family History of BRCA Mutation: a Case Report and Literature Review. **Journal of Korean Medical Science**, v. 32, n. 2, p. 377-381, 2017. doi: 10.3346/jkms.2017.32.2.377.

STOPSACK, K. H.; GERKE, T.; ZAREBA, P.; PETTERSSON, A.; CHOWDHURY, D.; EBOT, E. M.; FLAVIN, R.; FINN, S.; KANTOFF, P. W.; STAMPFER, M. J.; LODA, M.; FIORENTINO, M.; MUCCI L. A. Tumor protein expression of the DNA repair gene BRCA1 and lethal prostate cancer. **Carcinogenesis**, v.41, n. 7, p. 904-908, 2020. doi: 10.1093/carcin/bgaa061.

TAITT, H. E. Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. **American Journal of Men's Health**, v. 12, n. 6, p. 1807-1823, 2018. doi: 10.1177/1557988318798279.

UZZO, R. G.; WEI, J. T.; WALDBAUM, R. S.; PERLMUTTER, A. P.; BYRNE, J. C.; VAUGHAN, E. D. Jr. The influence of prostate size on cancer detection. **Urology**. v. 46, n. 6, p. 831-836, 1995. doi: 10.1016/s0090-4295(99)80353-7.

VAN LEENDERS, G. J. L. H.; VAN DER KWAST TH, GRIGNON DJ, EVANS AJ, KRISTIENSEN G. The 2019 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Grading of Prostatic Carcinoma. **American Journal Surgical Pathology**, v. 44, n. 8, p. 87-99, 2020.

WILD, C. P.; WEIDERPASS, E.; STEWART, B. W. (ed.) **World cancer report: cancer research for cancer prevention**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001497.

ZEEGERS, M. P.; JELLEMA, A. OSTRER, H. Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: a meta-analysis. **Cancer**. v. 97, n. 8, p. 1894-903, 2003. doi: 10.1002/cncr.11262.

ZHEN, J. T.; SYED, J.; NGUYEN, K. A.; LEAPMAN, M. S.; AGARWAL, N.; BRIERLEY, K. et al. Genetic testing for hereditary prostate cancer: current status and limitations. **Cancer**. v. 124, n. 15, p. 3105–3117, 2018. doi: org/10.1002/cncr.31316 PMID:29669169

ZISMAN, A.; LEIBOVICI, D.; KLEINMANN, J.; SIEGEL, Y. I.; LINDNER, A. The impact of prostate biopsy on patient well-being: a prospective study of pain, anxiety and erectile dysfunction. *The Journal of Urology*. v. 165, n. 2, p. 445-454, 2001. doi: 10.1097/00005392-200102000-00023

5 ARTIGO CIENTÍFICO

EXPRESSÃO DOS GENES BRCA1 E BRCA2 EM PACIENTES SUBMETIDOS A BIÓPSIA TRANSRETAL DE PRÓSTATA

Eduardo Maciel Narvaes¹;

Alyna Araújo e Marcondes¹;

Roberto de Andrade Garcia Filho¹;

Patricia Lemos de Lima Bonfim¹;

Claudinéia de Araújo¹.

¹ Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Rondonópolis (UFR), Rondonópolis, Mato Grosso, Brasil. Edumuarama@yahoo.com.br.

Financiado pela e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Mato Grosso – FAPEMAT 38078.544.21633.23092016.

Agradecimento ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde da Universidade Federal de Rondonópolis.

Resumo

Introdução: O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo mais comum entre a população masculina, sendo uma neoplasia caracterizada por alta heterogeneidade genômica e padrões de expressão gênica ainda pouco estudados. Mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 estão, comprovadamente, relacionados com a evolução do câncer de mama e ovário e sabe-se que homens portadores destas mutações têm maior risco de desenvolver câncer de próstata. Assim, o objetivo deste estudo foi correlacionar aspectos clínicos e anátomo patológicos com a expressão gênica em pacientes submetidos a biópsia trans retal da próstata. **Métodos:** Foram coletados fragmentos de biópsia de próstata trans retal de 89 indivíduos. Amostras de oitenta e quatro pacientes foram encaminhadas para realização de técnicas moleculares para a avaliação da expressão dos transcritos BRCA1 e BRCA2 por meio da técnica RT-qPCR. **Resultados:** Dos 84 casos selecionados, 26 (30,90%) apresentaram resultado positivo para CaP e estiveram associados a um nível de PSA > 10 ng/ml ($p=0,019$). A mediana de expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 em fragmentos negativos foi maior em casos de pacientes positivos para CaP com $p=0,002$ e $p=0,038$, respectivamente. A expressão do gene BRCA1 foi maior em pacientes negativos para CaP quanto comparados aos pacientes portadores desta neoplasia ($p=0,003$). Não houve diferença estatística significativa na expressão dos genes BRCA1 e BRCA2, conforme classificação de Gleason e valores do PSA. **Conclusão:** Os resultados demonstram que a mediana da expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 é maior em fragmentos negativos de pacientes com câncer de próstata, quando comparados fragmentos de indivíduos não portadores de neoplasia prostática.

Palavras-chave: Gene BRCA1, Gene BRCA2, Expressão gênica, Câncer de Próstata, Escore de Gleason.

INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo mais comum entre a população masculina. No Brasil, para cada ano do triênio 2023-2025, estão previstos mais de 71 mil novos casos, correspondendo a um risco estimado de 67,86 casos novos a cada 100 mil homens (INCA, 2023). Os fatores de risco incluem histórico familiar da doença, idade, estilo de vida, aspectos hormonais e genéticos. Homens afrodescendentes demonstram maiores taxas de incidência, forma mais agressiva e maiores taxas de mortalidade (TAITT, 2018).

Estima-se que mais de 1 milhão de casos novos foram diagnosticados no mundo em 2020, sendo o tumor com maior incidência entre os homens na África e América Latina (FERLAY et al., 2021). Na América Central e do Sul, o câncer de próstata deverá ter seu número de casos quase dobrado até o ano de 2030, decorrente do crescimento populacional e do envelhecimento, além do aumento da detecção precoce e de uma maior conscientização do público (DE FREITAS; SOARES, 2020).

Nos casos de CaP, o relatório anátomo patológico deve fornecer a graduação histológica do sistema de Gleason, cujo objetivo é informar sobre a agressividade, provável taxa de crescimento tumoral e sua tendência à disseminação, além de ajudar na determinação do melhor tratamento para o paciente. Entretanto, a pontuação de Gleason não é suficientemente confiável para estratificação dos pacientes quanto a presença de variantes patogênicas (NICOLOSI et al., 2019).

Sabe-se que o risco hereditário de câncer de próstata está associado a doenças mais agressivas. Neste contexto, as mutações deletérias de alguns genes, como BRCA1 e BRCA2, que já foram relacionadas com câncer de mama e ovário, têm sido associadas ao alto risco de desenvolvimento e maior suscetibilidade genética para o câncer de próstata (KUCHENBAECKER et al., 2017 e NYBERG et al., 2020).

Observa-se que a expressão do gene BRCA1 é uma característica de tumores de próstata mais proliferativos e aneuplóides, sendo mais comum em doença metastática (STOPSACK et al., 2020). Do mesmo modo que, a expressão da proteína 1 associada ao BRCA1, está relacionada a invasão linfovascular, a valores de PSA maior que 10 ng/ml e a tumores T3b (OH et al., 2020).

Já as mutações em BRCA2 podem estar associados a risco de câncer de próstata mais agressivo e de alto grau com Gleason > 8 (PATEL et al., 2020). Ademais, mutações na linhagem germinativa de BRCA2, aumentam o risco de CaP em 8,6 vezes em homens com idade ≤ 65 anos (SONG et al., 2017).

Diante do pressuposto de que a detecção precoce de formas mais agressivas desta neoplasia é um desafio complexo e ainda insuficientemente explorado, a proposta desse estudo foi determinar a expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 em pacientes submetidos à biópsia trans retal da próstata em homens atendidos na região sul de Mato Grosso e correlacionar com critérios de gravidade do câncer de próstata e com características anátomo patológicas dos fragmentos analisados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo transversal, prospectivo, do tipo exploratório e quantitativo. Participaram do estudo, pacientes usuários do consórcio regional de saúde do sul do estado de Mato Grosso, com solicitação de coleta de biópsia de próstata atendidos em serviço de urologia, selecionados entre junho de 2019 e outubro de 2020. O universo amostral foi composto por todos os pacientes submetidos a primeira biópsia trans retal de próstata após Consentimento Livre e Esclarecido.

Os dados clínicos deste estudo foram obtidos a partir dos prontuários dos pacientes, enquanto os dados anatomopatológicos foram identificados em laudos emitidos por laboratório de patologia credenciado a rede estadual de saúde. As variáveis avaliadas foram: idade, valor do PSA, dados anatomopatológicos e grau histológico de Gleason/ graduação de ISUP.

Os pacientes foram submetidos a biópsia transretal por sextantes com retirada de no mínimo 18 fragmentos, 12 deles para estudo histopatológico e 6 destinados para análises moleculares. Os procedimentos foram realizados sob sedação e anestesia local. Os fragmentos teciduais obtidos foram armazenados em criotubos conservados em nitrogênio líquido a -196°C .

As amostras de tecido de próstata foram descongelados, pesados e colocados em solução de trizol e homogeneizadas usando o aparelho Turrax N10. Após tratamento com clorofórmio o RNA total foi precipitado com uso de álcool isopropílico. Para eliminar contaminantes de DNA foi realizado o tratamento com DNase por 15 minutos a temperatura ambiente seguidos de mais 10 minutos a 65° .

Para a amplificação de mRNA, o RNA (0,5-1 μg) foi transcrito reversamente usando *random primers* e a transcriptase SuperScript II RNAase H, de acordo com as instruções do manufaturado (Invitrogen).

Para obtenção das quantidades relativas da expressão dos transcritos BRAC1 e BRAC2, as reações em cadeia da polimerase quantitativas (qPCR) foram realizadas utilizando kit Power SYBR green máster mix (Promega).

A qPCR foi realizada com concentração de $4\text{ng}/\mu\text{l}$ de cDNA em um volume final de $10\ \mu\text{l}$ em placa de 96 poços. Todas as amostras de cDNA foram previamente

quantificadas. O gene GAPDH foi utilizado como normalizador para a quantificação da expressão dos genes de interesse. As condições básicas da reação de termociclagem foram: 50°C por 2 minutos, 95°C por 10 minutos e 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 50° por 30 segundos e 60° C por 60 segundos (SCHAYEK et. al., 2009).

Os dados da expressão gênica foram gerados usando um termociclador CFX96 da empresa Bio-rad e a expressão gênica relativa foi determinada usando o $\Delta\Delta CT$ (LIVAK, SCHMITTGEN, 2001).

Os dados foram coletados e digitados em planilhas do Excel for Windows e em seguida transferidos para o programa estatístico Stata versão 16.0 (*StataCorp LP, College Station, Estados Unidos*) para análise.

Para análise de dados, foi realizado teste de qui-quadrado de Fisher para verificar associação das variáveis categorizadas, idade, PSA e ISUP entre os grupos. Também foram calculadas média e mediana das variáveis idade e PSA, assim como a frequência das variáveis cidade de origem e profissão.

Para verificar diferenças nas medianas das expressões gênicas entre os grupos foi realizado o Teste de Mann-Whitney, devido ausência de distribuição normal dos dados. A correlação foi verificada através do teste de Spearman entre as variáveis PSA, BRCA1, BRCA2 e ISUP. Adotou-se p-valor <0,05 para significância estatística.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM/UFMT sob o parecer nº 1543035/2016 – CAAE: 54636016.1.0000.5541. Todos os pacientes que participaram da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), autorizando a sua participação na pesquisa, bem como a utilização do material biológico para a as análises moleculares.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 89 pacientes que realizaram biópsia trans retal da próstata. Para determinar as suspeitas clínicas de neoplasia de próstata, todas as amostras foram encaminhadas para estudo histopatológico. Destas, 20% (n=18) foram confirmados como adenocarcinoma usual de próstata e 19% (n=17) apresentavam resultado inconclusivo, necessitando de análise imuno-histoquímica. Portanto, 61% das biópsias realizadas tinham resultado histopatológico negativo para neoplasia de próstata.

Para a análise imuno-histoquímica, 5 dos 17 pacientes com resultado patológico inconclusivo foram excluídos. Um deles por óbito antes da liberação do resultado e 4 por conta de falha no registro de dados nos prontuários. Dos 12 pacientes avaliados, 8 tiveram resultado positivo para adenocarcinoma usual de próstata. Portanto, após avaliação dos resultados patológicos e imuno-histoquímicos, 30,90% (n=26) dos pacientes foram confirmados com diagnóstico de câncer de próstata (CaP).

A mediana da idade foi 65 anos, sendo que 72,62% (n=61) da população estudada tinha mais de 60 anos. A média do PSA foi de 14,11 ng/ml (IC 95% = [9,68–18,61]), enquanto a mediana foi de 7,74 ng/ml. Os pacientes provenientes do município de Rondonópolis, corresponderam a 73,80% dos casos (n=62) e os aposentados configuraram 41,66% da amostra (n=35).

Dos 84 casos selecionados, 58 (69,10%) apresentaram resultado negativo para CaP. Na Tabela 1 são apresentadas as características da amostra estudada, conforme idade, valor de PSA e graduação de ISUP, conforme os casos positivo e negativo. Entre os grupos, os casos de CaP estiveram associados a um nível de PSA > 10 ng/ml (p=0,019). Quanto ao grau de gravidade dos casos de CaP (ISUP), a maior frequência esteve na categoria intermediária 42,3% (n=11).

Tabela 1. Caracterização da amostra estudada, resultados positivos e negativos para câncer de próstata (CaP)

Variáveis	Resultado		p-valor*
	Negativo CaP n=58(69,1%)	Positivo CaP n=26(30,9%)	
Idade (anos)[‡]			
43-65	28(66,7)	14(33,3)	0,406
66-83	30(71,4)	12(28,6)	
PSA baseline (ng/ml)[£]			0,019
<10	44(75,9)	13(21,4)	
≥10	14(53,8)	13(46,2)	
Grau ISUP^Ω			n/a
Baixo (1)	-	8(30,8)	
Intermediário (2 e 3)	-	11(42,3)	
Alto (4 e 5)	-	7(26,9)	

* Qui-quadrado de Fisher.

[‡] Categorizado conforme mediana da idade: 65 anos.

[£] PSA: Prostate-specific antigen.

^Ω International Society of Urological Pathology.

Para análise da expressão gênica, apenas uma amostra de paciente com resultado negativo para CaP foi excluído por ausência de material suficiente para realização da etapa de extração.

Na Figura 1 observa-se que na análise da expressão do gene BRCA2, não houve diferença significativa ($p=0,786$) entre as medianas dos grupos com resultados negativo e positivo para CaP. Entretanto, conforme demonstrado na Figura 2, foi identificada uma maior expressão do gene BRCA1 significativa ($p=0,003$) no grupo de pacientes com resultado negativo para CaP.

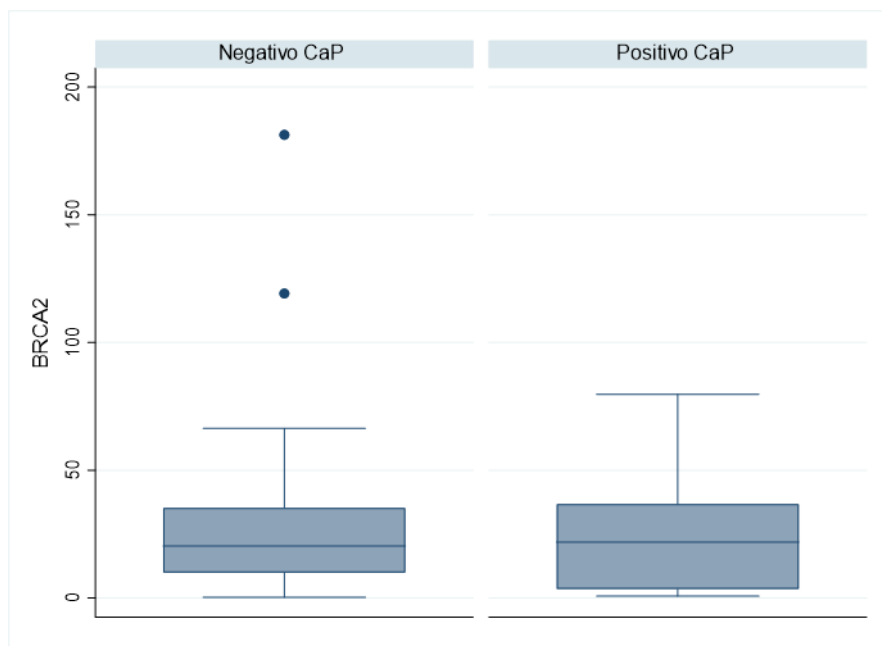


Figura 1 Expressão gênica do BRCA2 entre pacientes com CaP e negativo CaP.
Teste de Mann-Whitney ($p=0,786$).

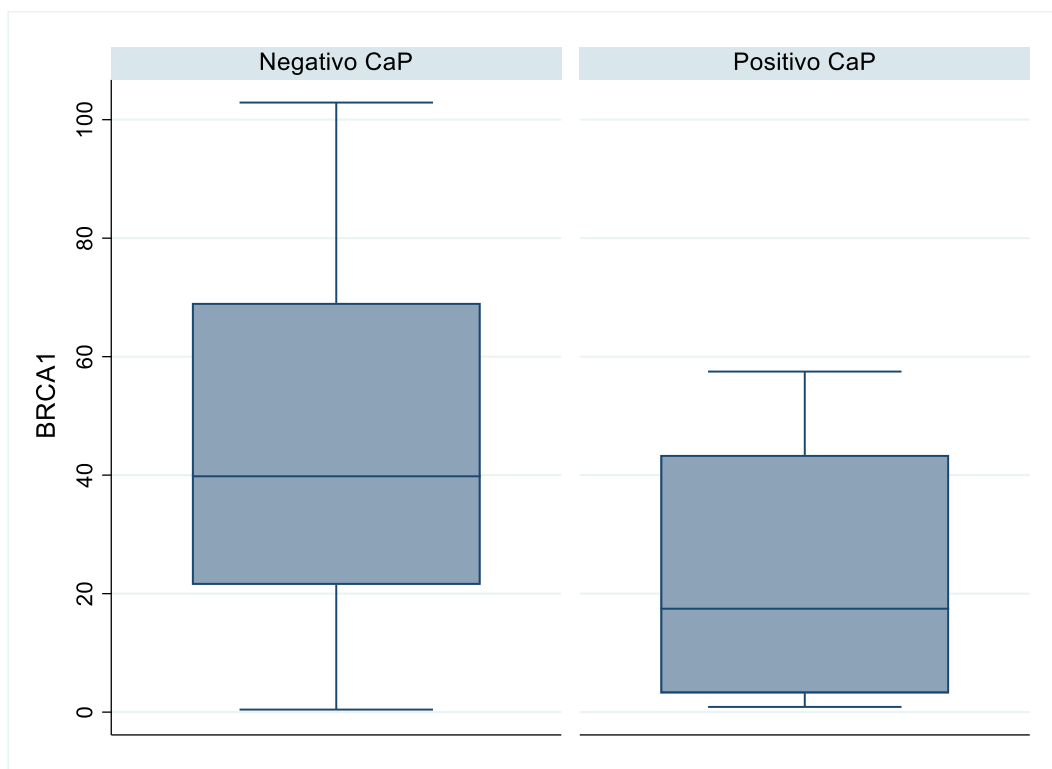


Figura 2 Expressão gênica do BRCA1 entre pacientes com CaP e negativo.
Teste de diferença de medianas Mann-Whitney ($p=0,003$).

Quando estratificados os pacientes com CaP conforme classificação de Gleason, o grupo de pontuação 7 (ISUP 2 e 3) apresentou medianas maiores que o Gleason 6 (ISUP 1) e que os pacientes negativos para CaP, conforme tabelas 2 e 3, respectivamente. Entretanto, não foi identificada diferença estatística entre os grupos.

Tabela 2 - Resultados da Expressão Gênica de BRCA1 e BRCA2, mediana conforme escore de Gleason em casos de CaP

	Resultado		p-valor*
	Gleason 6 (ISUP 1) n=8	Gleason 7 (ISUP 2 e 3) n=11	
BRCA1	15,22 ^µ	39,81 ^µ	0,128
BRCA2	18,48 ^µ	35,81 ^µ	0,310

*Teste de Mann-Whitney.

^µMediana.

Tabela 3 - Resultados da Expressão Gênica de BRCA1 e BRCA2, mediana conforme Gleason 7 e pacientes negativos para CaP

	Resultado		p-valor*
	Pacientes negativos CaP n=57	Gleason 7 (ISUP 2 e 3) n=11	
BRCA1	39,81 ^µ	39,81 ^µ	0,403
BRCA2	20,35 ^µ	35,81 ^µ	0,178

*Teste de Mann-Whitney.

^µMediana.

Quando comparadas as medianas da expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 conforme valores de PSA (até 10 ng/ml e maior que 10 ng/ml), não foi identificada diferença entre os grupos.

Ao verificar a expressão dos genes em fragmentos negativos, identificamos medianas maiores em fragmentos de pacientes positivos para CaP com resultados estatisticamente significantes (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultados da Expressão Gênica de BRCA1 e BRCA2, mediana em fragmentos negativos de casos de CaP e pacientes negativos para CaP

	Resultado Fragmentos negativos de pacientes com CaP n=60	Pacientes CaP n=57	negativos	p- valor*
BRCA1	58,33 ^µ	39,81 ^µ		0,002
BRCA2	29,34 ^µ	20,35 ^µ		0,038

*Teste de Mann-Whitney.

^µMediana.

A correlação foi verificada através do teste de Spearman entre as variáveis PSA, BRCA1, BRCA2 e ISUP. No teste de Spearman, o PSA não esteve correlacionado com a expressão dos genes BRCA1 ($p=0,771$) e BRCA2 ($p=0,435$). O nível de PSA também não apresentou correlação com a medida de gravidade grau ISUP ($p=0,108$).

DISCUSSÃO

Neste estudo, foram utilizados fragmentos de biópsia trans retal da próstata como material biológico para análise da expressão dos genes BRCA1 e BRCA2. Após avaliação dos resultados patológicos e imuno-histoquímicos, 30,9% dos pacientes foram confirmados com diagnóstico de CaP. Esta taxa de positividade é muito maior do que a apresentada por Segal *et. al.* (2020), que realizou biópsias de próstata em pacientes com mutações em BRCA1 ou BRCA2 e obtiveram positividade em 8,5% dos procedimentos.

Contudo, a taxa de biópsias com resultado positivo para CaP foi muito semelhante ao encontrado por Rabiau *et. al.* (2011), em torno de 31%. Entretanto, apenas 7,2% dos casos de CaP apresentavam Escore de Gleason >7. No nosso estudo, 26,9% das amostras positivas para CaP tinham Gleason 8, 9 ou 10. Tais achados sugerem, que as solicitações das coletas de material foram corretamente indicadas. Porém, provavelmente, de forma tardia, uma vez que o diagnóstico de tumores mais agressivos ocorreu em mais de 25% dos pacientes.

A mediana da idade encontrada, foi de 65 anos. Já a média do PSA foi de 14,11 ng/ml. Valores semelhantes aos encontrados por Ibrahim *et. al.* (2018), que avaliaram 102 homens portadores de mutação em BRCA1 ou BRCA2 e obtiveram 13 casos de CaP com mediana da idade foi de 68 anos e a média do PSA foi de 14,37 ng/ml.

Na comparação do valor de PSA entre os grupos, os casos de CaP estiveram associados a um nível de PSA > 10 ng/ml ($p=0,019$). Em artigo publicado por Rabiau *et. al.* (2011) que examinaram 98 pacientes submetidos a biópsia de próstata, 20 dos 67 pacientes negativos para CaP apresentavam PSA > 10 ng/ml, enquanto 54,8% dos pacientes com CaP tinham PSA > 10 ng/ml.

Em nossas análises, não houve diferença nas medianas de expressão do gene BRCA 2 quando comparados os grupos com resultados negativo e positivo para CaP. Entretanto, uma maior expressão do gene BRCA1, foi verificada no grupo de pacientes com resultado negativo para CaP ($p=0,003$). Este achado, provavelmente é decorrente do fato que outros resultados anatomopatológicos como neoplasia intraepitelial (PIN), prostatites e proliferação atípicas de pequenos ácinos (ASAP), foram agrupados no grupo negativo para CaP após laudos de estudo imuno histoquímico.

Rabiau *et. al.* (2011), encontraram uma super expressão do gene BRCA1 em 26 dos 57 pacientes com resultados anatomopatológicos diferentes de CaP, incluindo PIN e negativos para malignidade, enquanto no grupo positivo para adenocarcinoma da próstata este achado foi encontrado em 38,7% dos indivíduos.

Quando estratificados os pacientes com CaP de acordo com a classificação de Gleason, o grupo de pontuação 7 (ISUP 2 e 3) apresentou medianas maiores na expressão para os genes BRCA1 e BRCA2, quando comparadas ao grupo Gleason 6 (ISUP 1) e aos pacientes negativos para CaP. Tal achado, sugere que uma maior expressão destes genes pode estar relacionada a uma gravidade maior da doença. Entretanto, não foi identificada diferença estatística entre os grupos que possivelmente ocorreu pelo pequeno número de pacientes nos grupos. Tal situação, ocorreu devido o período de coleta coincidir com o início da pandemia de Covid-19.

Em estudo coorte publicado por Ansi *et. al.* (2020), foram avaliados 188 pacientes com CaP. Destes 26,1% apresentavam expressão para BRCA1, 22,9% expressaram BRCA2 e 7,4% tinham expressão dos dois genes. O escore de Gleason >7 foi associado à expressão de BRCA1 e BRCA2 ($p=0,013$; $p=0,041$, respectivamente).

Já Ibrahim *et. al.* (2018), avaliaram 102 homens portadores de mutações deletérias de BRCA1 e BRCA2. O CaP foi o tumor mais comumente diagnosticado, encontrado em 13 pacientes, 11 dos quais eram positivos para BRCA2. Esses tumores tinham pontuações do escore de Gleason mais altas e níveis elevados de PSA.

Stopack *et. al.* (2020), conduziram estudo com 575 pacientes com CaP não metastático avaliando a associação entre a expressão de BRCA1 e desenvolvimento de doença letal (metástase ou morte específica por câncer) durante o acompanhamento de longo prazo. Tumores com escores de Gleason 8–10 tiveram positividade maior para BRCA1 do que aqueles com pontuações de Gleason < 7.

O valor de PSA não esteve correlacionado com a expressão dos genes BRCA1 ($p=0,771$) e BRCA2 ($p=0,435$). Achado divergente ao encontrado do Oh *et. al.* (2020), que avaliaram 68 peças de prostatectomia radical. A expressão da proteína 1 associada a BRCA1 estava correlacionada a um alto nível pré-operatório do PSA ($p=0,014$). Entretanto, Chen *et. al.* (2022) que conduziram estudo retrospectivo com 172 indivíduos portadores de CaP, não encontraram diferença significativa nos valores de PSA ($p=0,623$)

e escore de Gleason ($p=0,362$) entre pacientes com e sem mutação para BRCA1 e BRCA2.

É interessante observar que ao avaliar a expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 em fragmentos negativos, identificamos medianas maiores em fragmentos de pacientes positivos para CaP, com $p=0,002$ e $p=0,038$, respectivamente. Tal achado, sugere que mesmo com resultado anátomo patológico negativo, fragmentos que expressam tais genes podem indicar um diagnóstico despercebido ou um caso que ainda pode evoluir para CaP. Tal achado não foi encontrado anteriormente na literatura e evidencia um caminho a ser estudado no que diz respeito ao diagnóstico precoce.

Este estudo apresenta limitações pois avaliou apenas as expressões dos genes BRCA1 e BRCA2, desconsiderando presença de mutações. Os achados anatomopatológicos, como PIN, ASAP e prostatites foram agrupados em um único grupo, negativo para neoplasia de próstata. Os fragmentos submetidos à análise molecular não foram os mesmos utilizados na avaliação histológica. Realizamos avaliação da mediana da expressão e não foram consideradas as faixas de expressão dentro dos grupos. Além disso, obtivemos um número reduzido de indivíduos nos grupos já que boa parte do período de coleta de amostras, coincidiu com início da pandemia do Covid-19, o que limitou o acesso dos pacientes dos serviços oncológicos.

Embora a expressão dos genes BRCA1 e BRCA2 em fragmentos de biopsia trans retal da próstata não pareça ter relação com gravidade de CaP, a maior expressão destes genes em fragmentos negativos deve ser considerada como alerta de uma doença que está sem diagnóstico ou para um possível caso em desenvolvimento inicial. Dessa forma, recomenda-se a realização de novos estudos que mantenham o seguimento destes pacientes a longo prazo.

REFERÊNCIAS

AMSI, P. T.; YAHAYA, J. J.; KALUNGI, S.; ODIDA, M. Immunohistochemical expression of BRCA1 and BRCA2 in a cohort of Ugandan men with prostate cancer: an analytical cross-sectional study. **African Journal of Urology**. v. 26, n. 71, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12301-020-00079-w>

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). **Estimativa 2023 – Incidência de câncer no Brasil**. [Brasília, DF]: Instituto Nacional do Câncer, 2023. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 24 de outubro de 2023.

CHEN, W.; XIA, W.; XUE, S.; HUANG, H.; LIN, Q.; LIU, Y.; LIU, T.; ZHANG, Y.; ZHANG, P.; WANG, J.; YANG, Y.; DONG, B.; YU, Z. Analysis of BRCA Germline Mutations in Chinese Prostate Cancer Patients. *Frontiers in Oncology*, v. 12, n. 12p. 7461-7502, 2022. doi: 10.3389/fonc.2022.746102.

DE FREITAS, C. S. M.; SOARES, A. N. Efficacy of Leuprorelide acetate (Eligard®) in daily practice in Brazil: a retrospective study with depot formulations in patients with prostate cancer. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 46, n. 3, p. 383-389, 2020. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2019.0212.

FERLAY J, COLOMBET M, SOERJOMATARAM I, PARKIN DM, PIÑEROS M, ZNAOR A, BRAY F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. **International Journal of Cancer**. v. 149, p.778-789, 2021. doi: 10.1002/ijc.33588.

IBRAHIM, M.; YADAV, S.; OGUNLEYE, F.; ZAKALIK, D. ale BRCA mutation carriers: clinical characteristics and cancer spectrum. **BMC Cancer**. v. 18, n. 1, p. 179, 2018. doi: 10.1186/s12885-018-4098-y.

KUCHENBAECKER, K. B.; HOPPER, J. L.; BARNES, D. R. et al. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. **JAMA**, v. 317, n. 23, p. 2402-2416, 2017. doi:10.1001/jama.2017.7112.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001. doi: 10.1006/meth.2001.1262.

NICOLOSI, P.; LEDET, E.; YANG, S.; MICHALSKI, S.; FRESCHI, B.; O'LEARY, E.; ESPLIN, E. D.; NUSSBAUM, R. L.; SARTOR, O. Prevalence of germline variants in prostate cancer and implications for current genetic testing guidelines. **JAMA Oncology**, v. 5, n. 4, p. 523-528, 2019. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.6760.

NYBERG, T.; FROST, D.; BARROWDALE, D.; EVANS, D. G.; BANCROFT, E.; ADLARD, J.; *et al.* Prostate cancer risks for male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: A prospective cohort study. **European Urology**, v. 77, n. 1, p. 24-35, 2020. doi: 10.1016/j.eururo.2019.08.025.

OH, H.; LEE, Y. J.; KANG, S. G.; AHN, B.; KIM, E.; CHAE, Y. S.; LEE, Y.; LEE, J. H.; KIM, C. H. BRCA1-associated protein 1 expression and prognostic role in prostate

adenocarcinoma. **Investigative and Clinical Urology**, v. 61, n. 2, p. 166-172, 2020. doi: 10.4111/icu.2020.61.2.166.

PATEL, V. L.; BUSCH, E. L.; FRIEBEL, T. M.; CRONIN, A.; LESLIE, G.; MCGUFFOG, L. Association of genomic domains in BRCA1 and BRCA2 with prostate cancer risk and aggressiveness. **Cancer Research**, v. 80, n. 3, p. 624-638, 2020. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-1840.

RABIAU, N.; DÉCHELOTTE, P.; ADJAKLY, M.; KEMENY, J. L.; GUY, L.; BOITEUX, J. P.; KWIATKOWSKI, F.; BIGNON, Y. J.; BERNARD-GALLON, D. BRCA1, BRCA2, AR and IGF-I expression in prostate cancer: Correlation between RT-qPCR and immunohistochemical detection. **Oncology Reports**. v. 26, n. 3, p. 695-702, 2011.

SCHAYEK, H.; HAUGK, K.; SUN, S.; TRUE, L. D.; PLYMATE, S. R.; WERNER, H. Tumor suppressor BRCA1 is expressed in prostate cancer and controls IGF-I receptor (IGF-IR) gene transcription in an androgen receptor-dependent manner. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 5, p. 1558-1565, 2009. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1440.

SEGAL, N.; BER, Y.; BENJAMINOV, O.; TAMIR, S.; YAKIMOV, M.; KEDAR, I.; ROSENBAUM, E.; SELA, S.; OZALVO, R.; SHAVIT-GRIEVINK, L.; KEDER, D.; BANIEL, J.; MARGEL, D. Imaging-based prostate cancer screening among BRCA mutation carriers: results from the first round of screening. **Annals of Oncology**. v. 31, n. 11, p. 1545-1552, 2020. doi: 10.1016/j.annonc.2020.06.025.

SONG, W. H.; KIM, S. H.; JOUNG, J. Y.; PARK, W. S.; SEO, H. K.; CHUNG, J.; LEE, K. H. Prostate Cancer in a Patient with a Family History of BRCA Mutation: a Case Report and Literature Review. **Journal of Korean Medical Science**, v. 32, n. 2, p. 377-381, 2017. doi: 10.3346/jkms.2017.32.2.377.

STOPSACK, K. H.; GERKE, T.; ZAREBA, P.; PETTERSSON, A.; CHOWDHURY, D.; EBOT, E. M.; FLAVIN, R.; FINN, S.; KANTOFF, P. W.; STAMPFER, M. J.; LODA, M.; FIORENTINO, M.; MUCCI L. A. Tumor protein expression of the DNA repair gene BRCA1 and lethal prostate cancer. **Carcinogenesis**, v.41, n. 7, p. 904-908, 2020. doi: 10.1093/carcin/bgaa061.

TAITT, H. E. Global Trends and Prostate Cancer: A Review of Incidence, Detection, and Mortality as Influenced by Race, Ethnicity, and Geographic Location. **American Journal of Men's Health**, v. 12, n. 6, p. 1807-1823, 2018. doi: 10.1177/1557988318798279.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A Clínica UROLASER e a Universidade Federal de Rondonópolis - UFR, neste ato representada pelo Curso de Medicina, estão desenvolvendo uma parceria de pesquisa científica para o estudo, descrição e análise do processo saúde e doença relacionado ao Câncer de Próstata. O objetivo é o de fornecer dados importantes para cientistas interessados em melhorar o prognóstico, diagnóstico e/ou o tratamento de pacientes com câncer. Assim sendo, se o senhor aceitar que uma amostra retirada no momento da sua biópsia seja encaminhada para análise nesta pesquisa, deve assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Este termo foi criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa, bem como dos pesquisadores em sua integridade e dignidade e contribuir com o desenvolvimento da pesquisa em nossa região, dentro dos padrões éticos necessários. Informamos também que, caso seja necessário, suas informações clínicas serão consultadas no prontuário médico e laudos pelos pesquisadores envolvidos. Importante salientar que, essas informações, assim como os resultados obtidos poderão ser utilizados para publicações em encontros, congressos e revistas científicas. Se isso ocorrer, o pesquisador principal e sua equipe garantem total sigilo e a confidencialidade das suas informações, ressaltando que os pesquisadores receberão os dados do participante de maneira anônima. Sua participação neste projeto é **totalmente voluntária**, não havendo remuneração pessoal ou institucional por sua participação. Seu consentimento em participar desta pesquisa pode ser retirado a qualquer momento pelo senhor ou por outra pessoa pelo senhor indicada, sem precisar justificar e sem sofrer qualquer prejuízo. **Qualquer recusa em conceder os seus dados ou amostra biológica, não influenciará em seu tratamento atual ou futuro.** Se o senhor tiver quaisquer dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, poderá entrar em contato com os pesquisadores responsáveis através dos contatos mencionados abaixo.

Consentimento pós-informação

Eu, _____,
fui informado sobre a relevância desta pesquisa e a necessidade da minha colaboração, sendo assim eu concordo em participar deste projeto.

Assinatura do participante ou representante legal

Data ___ / ___ / ___

DADOS DOS COORDENADORES DA PESQUISA:

Dr^a Claudinéia de Araújo - Docente do Curso de Medicina - UFR

Eduardo Maciel Narvaes - Médico Urologista da Clínica Urolaser

Telefone: (66) 3410 4004

Assinatura: _____ Data ___ / ___ / ___

Observação: Este TCLE será preenchido em duas vias, sendo que uma delas deverá ficar com o participante e a outra com o pesquisador responsável.

DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Rondonópolis pelo telefone (66) 3410-4153 ou através do seguinte endereço: Avenida dos Estudantes, nº 5055, Bairro Sagrada Família – Câmpus Universitário de Rondonópolis – Bloco Administrativo, CEP: 78735-901, Rondonópolis – Mato Grosso.