



# HÁ CORRELAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA DO ADENOCARCINOMA COLORRETAL COM A EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO OPN E ABCB5?

*Is there a clinical pathological correlation of colorectal adenocarcinoma with the immunohistochemical expression of OPN and ABCB5?*

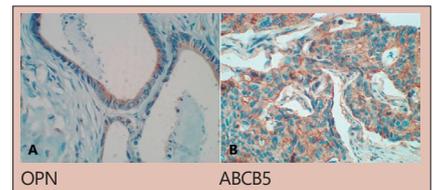
Diogo Francesco **CASTOLDI**<sup>1,8</sup>, Osvaldo **MALAFIA**<sup>1,3,8</sup>, Pedro Helo dos **SANTOS-NETO**<sup>2</sup>, Tatiana Varella **POSTIGLIONI**<sup>2</sup>, Cecília **VASCONCELOS**<sup>4</sup>, Fabiola Past **BREMER**<sup>5</sup>, Leticia Elizabeth Augustin **CZECZKO**<sup>4</sup>, Martin **GASSER**<sup>6</sup>, Ana Maria **WAAGA-GASSER**<sup>7</sup>, Carmen Australia Paredes Marcondes **RIBAS**<sup>1,2</sup>

**RESUMO - Racional:** Estudos com biomarcadores com TMA (tissue microarray) vêm demonstrando resultados importantes em relação à expressão de biomarcadores em câncer de cólon. **Objetivo:** Correlacionar o perfil de expressão dos biomarcadores OPN e ABCB5 com as características epidemiológicas e clinicopatológicas dos pacientes, o impacto na progressão de doença e no evento óbito. **Método:** Foram avaliados 122 pacientes de CCR submetidos à ressecção cirúrgica e à imunomarcagem e relação com os eventos progressão e óbito. **Resultado:** A média de idade encontrada foi de 61,9 (±13,4) anos. Os casos distribuíram-se em 42 (35,9%) no cólon ascendente/transverso, 31 (26,5%) no sigmoide, 27 no reto (23,1%), 17 (14,5%) no cólon descendente. A maioria dos pacientes apresentou doença avançada (estadio III e IV) em 74 casos (60,9%). Houve predomínio de tumor moderadamente diferenciado em 101 amostras (82,8%); apesar disso, o subtipo pouco diferenciado mostrou-se como fator de risco independente para óbito em 70% dos casos. Metástase para o fígado mostrou-se fator de risco independente para óbito em 75% dos casos (18/24), assim como pacientes com tumores primários de reto em 81,5% (22/27). **Conclusão:** A expressão imunohistoquímica dos marcadores OPN e ABCB5 não apresentou associação com as características epidemiológicas e clinicopatológicas. Em relação à progressão de doença e evento óbito, não se conseguiu observar relação de correspondência com os marcadores avaliados.

**DESCRITORES** - ABCB5. Osteopontina. Câncer colorretal. Biomarcadores tumorais.

**ABSTRACT - Background:** Studies with biomarkers in TMA (tissue microarray) have been showing important results regarding its expression in colon cancer. **Aim:** Correlate the expression profile of the OPN and ABCB5 biomarkers with the epidemiological and clinicopathological characteristics of the patients, the impact on the progression of the disease and the death. **Method:** A total of 122 CRC patients who underwent surgical resection, immunomarking and their relationship with progression and death events were evaluated. **Result:** The average age was 61.9 (±13.4) years. The cases were distributed in 42 (35.9%) in the ascending/transverse colon, 31 (26.5%) in the sigmoid, 27 in the rectum (23.1%), 17 (14.5%) in the descending colon. Most patients had advanced disease (stages III and IV) in 74 cases (60.9%). There was a predominance of moderately differentiated tumors in 101 samples (82.8%); despite this, the poorly differentiated subtype proved to be an independent risk factor for death in 70%. Metastasis to the liver proved to be an independent risk factor for death in 75% (18/24), as well as patients with primary rectal tumors in 81.5% (22/27). **Conclusion:** The immunohistochemical expression of the OPN and ABCB5 markers was not associated with epidemiological and clinicopathological characteristics. Regarding the progression of disease and death, it was not possible to observe a correspondence relationship with the evaluated markers.

**HEADINGS** - ABCB5. Osteopontin. Colorectal cancer. Tumor biomarkers.



## Mensagem central

Diversos são os usos para biomarcadores no câncer colorretal, inclusive com relação a casos mais avançados e que se mostram resistentes ao tratamento quimioterápico, como ocorre com OPN e ABCB5.

## Perspectivas

O uso de biomarcadores está em desenvolvimento para avaliação no câncer colorretal. O estudo destes e outros marcadores biológicos, de forma individualizada ou em conjunto, nos moldes de painel genético, podem melhorar os índices de sensibilidade e especificidade tanto para avaliação de progressão de doença em casos avançados, quanto para diagnóstico precoce, através da avaliação de lesões pré-neoplásicas, objetivando maiores índices de cura do paciente.



[www.facebook.com/abcdrevista](http://www.facebook.com/abcdrevista)



[www.instagram.com/abcdrevista](http://www.instagram.com/abcdrevista)



[www.twitter.com/abcdrevista](http://www.twitter.com/abcdrevista)

Trabalho realizado no <sup>1</sup>Instituto de Pesquisas Médicas, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>2</sup>Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Cirurgia, <sup>4</sup>Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>5</sup>Departamento de Hematologia, <sup>6</sup>Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>7</sup>Departamento de Oncologia, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil; <sup>8</sup>Departamento de Cirurgia, University Hospital Würzburg, Würzburg, Alemanha; <sup>9</sup>Divisão Renal, Hospital Brigham and Woman, Harvard Medical School, Boston, MA, EUA; <sup>10</sup>Hospital Universitário Evangélico Mackenzie, Curitiba, Paraná, Brasil.

Como citar esse artigo: Castoldi DF, Malafía O, Santos-Neto PH, Postiglioni TV, Vasconcelos C, Bremer FP, Czeczko LEA, Gasser M, Waaga-Gasser AM, Ribas CAPM. Há correlação clinicopatológica do adenocarcinoma colorretal com a expressão imunohistoquímica do OPN e ABCB5? ABCD Arq Bras Cir Dig. 2020;33(4):e1569. DOI: [10.1590/0102-672020200004e1569](https://doi.org/10.1590/0102-672020200004e1569)

## Correspondência:

Diogo Francesco Castoldi  
E-mail: [diogocastoldi@gmail.com](mailto:diogocastoldi@gmail.com)

Financiamento: Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e pela Divisão Renal do Brigham and Woman's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 12/08/2020

Aceito para publicação: 09/10/2020

## INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) é a terceira malignidade mais diagnosticada no mundo, considerada uma das principais causas de óbito<sup>15,22,32</sup>. O tratamento consiste em cirurgia, quimioterapia e radioterapia. Todavia, apesar dos avanços no tratamento, o prognóstico nos casos de tumores metastáticos permanece reservado<sup>32,11</sup>.

Os pólipos colorretais são considerados na maioria dos casos os precursores do CCR, de acordo com a sequência de progressão adenoma-adenocarcinoma, existindo variação na velocidade de progressão conforme a característica de cada pólipo<sup>30</sup>. Quando do seu diagnóstico tardio, e operados em quadros de emergência, pode apresentar-se com grandes alterações hidroeletrólíticas agravando o quadro clínico<sup>8</sup>.

Quanto à biologia molecular nota-se grande diversidade, dentre as quais se destacam a instabilidade de microssatélite, mutações em genes de reparo do DNA e alterações genéticas como APC, TP53, SMAD4, PIK3CA, KRAS, SOX9<sup>19</sup>, apenas para citar alguns genes.

Marcadores minimamente invasivos sanguíneos ganharam importância devido à facilidade para triagem e monitoramento de pacientes<sup>3,4,14</sup>. O antígeno carcinoembrionário (CEA) é o mais usado no CCR, porém sua elevação sérica pode sugerir, mas não confirmar o diagnóstico ou metástase do câncer<sup>20,14</sup>.

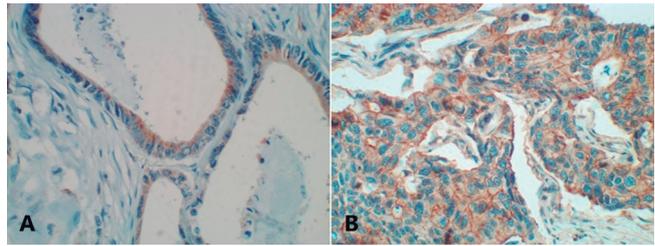
Estudos com biomarcadores em blocos de tissue microarray (TMA) ainda são escassos na literatura; entretanto, vêm demonstrando resultados significativos, como ocorre na expressão de osteoponina (OPN): fraca em células colônicas saudáveis, moderada em adenomas e forte em câncer de cólon<sup>24</sup>. A OPN (Figura 1A) é uma glicofosfoproteína extracelular, multifuncional, encontrada em tecidos mineralizados como matriz extracelular (MEC), tecidos e fluidos corporais, incluindo sangue, leite, urina, saliva, líquido seminal e bile<sup>32,25,17,28</sup>. É produzida em cinco isoformas por células endoteliais, neurais, macrófagos, monócitos, linfócitos T, responsáveis pela regulação de resposta imunitária, regeneração celular, vascularização, migração e motilidade<sup>1,2,26</sup>. Pertence à família Sibling (Small Integrin-Binding Ligand N-linked Glycoprotein), um grupo de proteínas localizada no cromossomo 4, as quais foram observadas em diferentes estádios tumorais, indicando potencial de modulação do comportamento precoce de tumores<sup>7</sup>.

Sua expressão é regulada por estímulos e vias associadas à progressão e metástase do CCR. Quando derivada das células do hospedeiro induz à imunidade celular e pode reforçar a proteção antitumoral por linfócitos T citotóxicos. Quando elevada pode promover a progressão tumoral e a sobrevivência celular, neoangiogênese e metástase. Esta alta expressão induzida de OPN em células normais é observada como indutora de comportamento semelhante ao das células neoplásicas, incluindo invasão celular *in vitro* e metástase *in vivo*<sup>25</sup>.

Os genes ABC constituem a maior família de proteínas transmembranas, cuja função é o transporte de moléculas com consumo de ATP<sup>6</sup>. O gene ABCB5 (Figura 1B), pertence à superfamília ABC<sup>31</sup>, localizado no cromossomo 7, braço curto, loci 14<sup>6</sup>, apresenta expressão variada em tecidos como melanócitos, epitélio pigmentado da retina e mama<sup>12</sup>, e expressão aumentada em câncer de mama, colorretal e melanoma maligno<sup>12,9,23</sup>. A maioria dos genes ABC transportam substâncias do citoplasma para o exterior celular ou para compartimentos intracelulares<sup>6</sup>, através do mecanismo de efluxo de drogas, apresentado efeito protetor das células-tronco cancerígenas contra o ataque dos agentes quimioterápicos, por exemplo.

Dados norte-americanos mostram sobrevida em cinco anos de 88,1% e 12,6% para os estádios I e IV da doença, respectivamente<sup>5</sup>. Considerando o exposto acima, a avaliação da expressão por imunistoquímica das proteínas OPN e ABCB5 em tecido através da TMA de CCR pode auxiliar no melhor prognóstico e detecção precoce destes tumores. Estratégias

diagnósticas e terapêuticas são necessárias, o que exige maior compreensão dos mecanismos moleculares do CCR e utilização de biomarcadores com a finalidade de melhorar o prognóstico através da detecção precoce destes tumores<sup>11,20</sup>.



**FIGURA 1** – Adenocarcinoma de cólon: A) OPN mostrando positividade citoplasmática e em marrom observa-se a região de marcação dele na membrana citoplasmática; B) ABCB5 mostrando positividade da membrana citoplasmática e em marrom observa-se a região de sua marcação no interior e membrana citoplasmática (400x)

Objetivo deste estudo foi correlacionar o perfil de expressão dos biomarcadores OPN e ABCB5 com as características epidemiológicas e clinicopatológicas dos pacientes, o impacto na progressão de doença e no evento óbito.

## MÉTODOS

Trata-se de um estudo analítico observacional, retrospectivo e unicêntrico, do tipo caso-controle. A pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná sob nº. 1.999.670.

### Pacientes e tecidos

Foram incluídos pacientes procedentes do Hospital Universitário Evangélico Mackenzie em Curitiba, PR, Brasil, de ambos os gêneros, maiores de 18 anos, com diagnóstico de adenocarcinoma colorretal, atendidos e submetidos a tratamento durante o período de 2010 e 2015, cujos blocos de parafina confirmaram o diagnóstico. Estes blocos deveriam ser passíveis de novo fracionamento para avaliação por TMA, e o prontuário estar disponível no hospital. Esses blocos e lâminas foram enviados para confirmação histológica de um segundo patologista, sendo posteriormente encaminhados para imunomarcção.

Os critérios de exclusão foram: idade menor de 18 anos; diagnóstico de câncer colorretal não adenocarcinoma; blocos de parafina não puderam ser encontrados ou manipulados; ausência de dados clínicoepidemiológicos nos prontuários.

A aplicação dos critérios de inclusão e exclusão resultou em 122 pacientes, sendo esta a amostragem final do estudo.

### Definição de grupos

A partir da coleta de dados os pacientes foram divididos em três grupos distintos, associados aos marcadores OPN e ABCB5 como negativos (controle), positivos (caso 1) e inconclusivos (caso 2) para sua expressão. A partir desta divisão também subdividiu-se os pacientes em portadores de doença local e avançada.

### Confecção dos blocos e imunistoquímica

Utilizou-se o aparelho manual Tissue Tek Quick-Array<sup>TM</sup> para confecção dos blocos multiamostrais, o qual contém pinças acopladas cujos diâmetros variam de 1,0 mm à 3,0 mm, responsáveis pela extração da área desejada para a realização da imunistoquímica. Estes blocos permitiram a obtenção de até 60 fragmentos de tecido tumoral neoplásico. A partir deste ponto, foram submetidos a técnica da imunoperoxidase, realizada

em instrumento Benchmark UltraTM, com processamento 3 em 1 integrado, compreendendo a desparafinação, reidratação e recuperação antigênica, com tampões Cell Conditioning 1 (pH alto) e Cell Conditioning 2 (pH baixo). A incubação com anticorpos do marcador ABCB5 (clone 5H3C6 fabricante Genetex) na diluição 1:100 e do marcador OPN (policlonal, fabricante Medaysis) na diluição 1:20, durou entre 16-20 min em temperatura ambiente. A amplificação foi realizada por Ultraview Universal DAB Detection Kit<sup>®</sup>. O processamento foi todo realizado em plataforma automatizada Ventana Benchmark UltraTM. Controles positivos internos e externos atestaram a fidelidade das reações. Após a marcação dos anticorpos primários a leitura foi feita através de um amplificador. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram marcação pelo anticorpo e negativas aquelas não marcadas.

#### Coleta de dados

Após a seleção dos casos procedeu-se o levantamento de informações clínicas. Para tanto foram utilizadas as seguintes bases de dados: sistema eletrônico de prontuários (PAGU), prontuário ambulatorial físico, guias de liberação de quimioterapia (APACs, quando existentes) e laudo anatomopatológico oficial dos tumores colorretais. Seguiu-se contato telefônico para informações adicionais, quando possível. Os dados foram distribuídos em tabela Excel conforme o seguinte protocolo padronizado: idade, gênero, data do diagnóstico, laudo da anatomia patológica, estadiamento, tratamentos empregados (cirurgia, quimioterapia e/ou radioterapia), presença e local de metástases linfonodal ou à distância, existência de progressão de doença, data da última consulta e/ou óbito.

#### Análise estatística

Os dados foram analisados pelo programa computacional Stata/SE v.14.1. StataCorpLP, USA. As variáveis quantitativas foram descritas por médias, desvios-padrão, medianas, valores mínimos e valores máximos. Já as variáveis categóricas foram descritas por frequências e percentuais. Para analisar os fatores relacionados ao tempo até a progressão da doença (Pevent) foram ajustados modelos de Fine e Gray considerando-se o óbito como risco competitivo. Após o ajuste, a medida de associação estimada foi a subdistribuição hazard ratio (SHR). Para a análise de sobrevida foram ajustados modelos de regressão de Cox e estimados os valores de hazard ratio. Para ambos os modelos o teste de Wald foi usado para avaliar a significância das variáveis. Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística.

## RESULTADOS

A média de idade encontrada foi de  $61,9 \pm 13,4$  anos. Na amostra total houve relação masculino/feminino de 1,06:1, com maior prevalência de doença na quinta e sexta década de vida (56,6%). A incidência de câncer de acordo com a topografia foi de 42 casos (35,9%) no cólon ascendente/transverso, 31 (26,5%) no sigmóide, 27 no reto (23,1%), 17 (14,5%) no cólon descendente e cinco indeterminado. Quanto ao grau de diferenciação, houve predomínio de tumor moderadamente diferenciado em 101 amostras (82,8%), pouco diferenciado em 10 (8,2%), bem diferenciados em oito (6,6%), e três (2,4%) de indeterminados. O local mais comum de metástase ao diagnóstico foi no fígado ( $n=24$ , 19,7%), peritônio ( $n=9$ , 7,4%), pulmão ( $n=5$ , 4,1%) e outro órgão ( $n=11$ , 9%).

Os pacientes foram classificados de acordo com seu estadiamento clínico, de 0 a IV, respeitando a classificação da 6ª edição do Manual de Estadiamento de Câncer (AJCC) de 2002, conforme utilizada na época quando os pacientes foram atendidos (Tabela 1), com predomínio dos casos mais avançados, estadios III e IV com 74 casos (60,9%).

TABELA 1 - Distribuição conforme estadiamento clínico

UICC	n	%
0	1	0,8
I	14	11,5
II	33	27
III	39	32
IV	35	28,7
Total	122	100

O grupo controle de ABCB5 foi de 14 (11,5%), caso 1 de 74 pacientes (60,7%) e caso 2 de 34 (27,8%), enquanto no grupo OPN o controle foi de 53 (43,4%), caso 1 de 41 (33,6%) e caso 2 de 28 (23,3%, Tabela 3). Não foi observada significância estatística na presença ou ausência dos marcadores ABCB5 e OPN em relação à idade, ao momento do diagnóstico dos pacientes, ao gênero, ao grau de diferenciação, ao estadiamento clínico ou metástases em qualquer sítio. A avaliação da concordância entre os marcadores ABCB5 e OPN (Tabela 2) mostrou-se fraca, com 24,6% de concordância em ambos positivos ( $n=30$ ) e 5,7% ( $n=7$ ) em ambos negativos.

TABELA 2 - Concordância entre os marcadores

OPN	ABCB5			Total
	Negativo	Positivo	Inconclusivo	
Negativo	7	37	9	53
	5,70%	30,30%	7,40%	
Positivo	6	30	5	41
	4,90%	24,60%	4,10%	
Inconclusivo	1	7	20	28
	0,80%	5,70%	16,40%	
Total	14	74	34	122

Casos concordantes=57 (46,7%); casos discordantes=65 (40,2%); coeficiente de concordância de Kappa: 0,22 (concordância fraca)

O marcador ABCB5 em casos de doença local foi mais associado ao óbito no grupo caso 1 [26/54 vs. 6/10;  $p=0,161$  (IC 95% 0,21–1,29)], grupo caso 2 [13/23 vs. 6/10;  $p=0,631$  (IC 95% 0,3–2,08)] e pacientes com doença avançada, tanto no grupo caso 1 [14/20 vs. 4/4;  $p=0,509$  (IC 95% 0,22–2,13)] quanto grupo caso 2 [5/11 vs. 4/4;  $p=0,122$  (IC 95% 0,09–1,32)], todos estatisticamente não significativos (Tabela 3).

TABELA 3 – Relação da expressão dos marcadores com estadiamento clínico

		ABCB5				
Variável	Classif	n	% de óbitos	p*	HR	IC 95%
Estadio 0/I/II	Negativo (ref)	10	6 (60,0)			
	Positivo	54	26 (48,1)	0,161	0,52	0,21 – 1,29
	Inconclusivo	23	13 (56,5)	0,631	0,79	0,30 – 2,08
Estadio III/IV	Negativo (ref)	4	4 (100)			
	Positivo	20	14 (70,0)	0,509	0,68	0,22 – 2,13
	Inconclusivo	11	5 (45,4)	0,122	0,35	0,09 – 1,32

\*Modelo de regressão de Cox e teste de Wald,  $p < 0,05$

		OPN				
Variável	Classif	n	% de óbitos	p*	HR	IC 95%
Estadio 0/I/II	Negativo (ref)	40	20 (50,0)			
	Positivo	29	14 (48,3)	0,844	0,93	0,47 – 1,86
	Inconclusivo	18	11 (61,1)	0,240	1,57	0,74 – 3,32
Estadio III/IV	Negativo (ref)	13	10 (76,9)			
	Positivo	12	9 (75,0)	0,949	1,03	0,41 – 2,60
	Inconclusivo	10	4 (40,0)	0,865	0,90	0,27 – 2,96

\*Modelo de regressão de Cox e teste de Wald,  $p < 0,05$

Com relação ao marcador OPN obteve-se dados semelhantes na doença local associada ao grupo caso 2, em comparação ao grupo controle [20/40 vs. 11/18;  $p=0,24$  (IC 95% 0,74–3,32)]. Já em pacientes com doença avançada, obteve-se maior taxa de óbito no grupo controle com relação ao grupo caso 1 [9/12 vs. 10/13;  $p=0,949$  (IC 95% 0,41–2,6)] e grupo caso 2 [4/10 vs. 10/13;  $p=0,865$  (IC 95% 0,27–2,96)], todos estatisticamente não significativos (Tabela 3).

Na comparação de grupos com relação a progressão de doença do marcador ABCB5, ocorreram maiores taxas de progressão entre pacientes do grupo caso 1 [30/74 vs. 2/14;  $p=0,141$  (IC 95% 0,69–13,7)] e grupo caso 2 [11/34 vs. 2/14;  $p=0,229$  (IC 95% 0,54–12,8)], contudo não resultaram em estatisticamente significantes. Com relação ao marcador OPN, também houve maiores taxas no grupo caso 1 [16/41 vs. 17/53;  $p=0,541$  (IC 95% 0,63–2,41)] e grupo caso 2 [10/28 vs. 17/53;  $p=0,404$  (IC 95% 0,64–3,03)], também não apresentando resultados estatisticamente significativos (Tabela 4).

**TABELA 4** – Análise das variáveis em relação à progressão de doença

Variável	Classificação	n	% de			
			casos com progressão	p*	SHR	IC 95%
ABCB5	Negativo (ref)	14	2 (14,3)			
	Positivo	74	30 (40,5)	0,141	3,08	0,69 – 13,7
	Inconclusivo	34	11 (32,2)	0,229	2,64	0,54 – 12,8
OPN	Negativo (ref)	53	17 (32,1)			
	Positivo	41	16 (39,0)	0,541	1,23	0,63 – 2,41
	Inconclusivo	28	10 (35,7)	0,404	1,39	0,64 – 3,03

SHR=subdistribution hazard ratio; IC95%=95% confidence interval; \*=modelo de Fine e Gray e teste de Wald,  $p<0,05$

Na avaliação de fatores associados ao óbito para o marcador ABCB5, observou-se maior taxa de evolução no grupo de controle em relação ao caso 1 [40/74 vs. 10/14;  $p=0,089$  (IC 95% 0,27–1,1)] e grupo caso 2 [18/34 vs. 10/14;  $p=0,239$  (IC 95% 0,29–1,36)], ambos não estatisticamente significativos. Obteve-se resultados semelhantes no marcador OPN, com taxas maiores no grupo controle em relação ao grupo caso 1 [23/41 vs. 30/53;  $p=0,982$  (IC 95% 0,58–1,74)] e grupo caso 2 [15/28 vs. 30/53;  $p=0,403$  (IC 95% 0,7–2,46)], sem significância estatística (Tabela 5).

**TABELA 5** - Análise das variáveis em relação ao evento óbito

Variável	Classificação	n	% de óbitos	p*	HR	IC 95%
ABCB5	Negativo (ref)	14	10 (71,4)			
	Positivo	74	40 (54,1)	0,089	0,54	0,27–1,10
	Inconclusivo	34	18 (52,9)	0,239	0,63	0,29–1,36
OPN	Negativo (ref)	53	30 (56,6)			
	Positivo	41	23 (56,1)	0,982	1,01	0,58–1,74
	Inconclusivo	28	15 (53,6)	0,403	1,31	0,70–2,46

\*=Modelo de regressão de Cox e teste de Wald,  $p<0,05$ ; variável Evento de progressão foi incluída como tempo-dependente

## DISCUSSÃO

O tempo de seguimento foi mais longo nos pacientes estadios II e menor nos em estadios 0/I. Esse contexto pode ser explicado pela perda de seguimento, pela alta taxa de cura, ou até mesmo por abandono do acompanhamento partindo do próprio paciente. Os menores períodos de seguimento foram estadios III/IV, pela evolução natural da doença seguido de óbito.

Aventou-se a possibilidade de que os níveis de OPN em amostras sanguíneas ou espécime tumoral poderiam ser valiosos para prever o prognóstico de carcinomas. Este fato motivou a realização de metanálise para avaliar a expressão do OPN tanto na progressão, quanto no prognóstico e constatou-se a utilidade dele como biomarcador prognóstico, além de potencial alvo terapêutico no CCR<sup>32</sup>.

Previamente foi demonstrado que o alto nível de expressão do RNAm do OPN possuía significado clinicopatológico e prognóstico no CCR. Foi avaliado nível de expressão da proteína OPN em células de CCR e de amostras de tecido normal do cólon correspondentes. Seus resultados indicaram que a regulação negativa da OPN poderia suprimir tanto a proliferação in vitro como a tumorigenicidade in vivo<sup>15</sup>. A expressão do OPN em célula do CCR neste estudo mostrou-se positiva em 39% dos casos de progressão e 56,1% dos óbitos. Contudo, tal dado não apresentou significância estatística.

Em estudo com 84 pacientes de CCR constatou-se que o nível de transcrição de OPN e sua superexpressão foram responsáveis por induzir quimiorresistência ao tratamento com oxaliplatina. Esta superexpressão relacionava-se à metástase e diminuição da taxa de sobrevida<sup>27</sup>. Nesta amostra observou-se taxa de 39% de progressão de doença e 56,1% de casos de óbitos, que apesar de não apresentarem significância estatística acredita-se estar relacionada com os casos mais avançados e que apresentaram algum tipo de quimiorresistência ao tratamento oferecido. Em 59,7% (46/77) das vezes em que a quimioterapia foi opção de tratamento, a oxaliplatina foi fornecida tanto na neoadjuvância quanto na adjuvância e palição.

Em um grupo de mais de 200 pacientes CCR estágio II, notou-se que o nível de OPN no tecido tumoral era útil na detecção do CCR, mas não relacionava com prognóstico<sup>21</sup>. Nesta pesquisa, observou-se 33 casos estadios II (27%), dos quais 10 (30,3%) apresentaram progressão de doença e 15 (45,4%) com evolução para óbito. Apesar de ausência de significância estatística, são números que não podem ser desprezados.

Likui et al. relatou que o nível de expressão de RNAm do OPN em células ou tecidos com CCR era significativamente maior do que nas células epiteliais não tumorais do cólon<sup>15,18</sup>. Também foi relatado que o valor da expressão do RNAm do OPN no CCR potencializa achados clinicopatológicos e/ou prognósticos. Além disso, mostrou-se que o nível de expressão do RNAm do OPN em células de CCR estava significativamente associado à metástase linfonodal, invasão linfática, invasão venosa e consequentemente ao estadiamento TNM (estadios avançados – III/IV)<sup>16</sup>. Esse aumento de expressão do OPN foi observado nesta pesquisa, com predomínio nos casos de doença local (estadio 0/I/II), mas sem significância estatística.

Ao analisar os dados relacionados à presença do marcador ABCB5, identificou-se sua positividade em 60,7% ( $n=74$ ) dos casos de um total de 122 pacientes. Apesar desta alta incidência de expressão positiva de ABCB5 isolada, ocorreu fraca concordância entre ABCB5 e OPN, com apenas 24,6% de casos positivos.

A amostra não apresentou significância estatística para os dados epidemiológicos relacionados ao ABCB5; entretanto, notou-se correlação entre positividade deste marcador com diagnóstico de CCR e óbito. Quando avaliada a relação de positividade do ABCB5 com doença local ou avançada, viu-se maior positividade do marcador com estadios III e IV (doença mais avançada), novamente sem significância estatística. Foram aventadas duas possibilidades por Kugimiya et al. que ajudam a justificar este achado: a primeira, seria a sobrevivência de células de CCR tratadas com 5-FU e que mostravam-se com alta expressão de ABCB5; a outra, seria que o uso de 5-FU aumenta a expressão do marcador em algumas células, e com isso elas possam manter-se vivas<sup>13</sup>.

Verificou-se que nos casos que necessitaram de quimioterapia, 100% foram tratados com fluoropirimidina em algum momento, e apresentaram 40,5% de progressão de doença e 54,1% de óbito. Notou-se concordância nos achados acima e na literatura, sobretudo em situações nas quais o marcador funciona como um mediador de resistência à múltiplos fármacos, como 5-FU<sup>10</sup>, e em especial quando utilizado em monoterapia<sup>29</sup>.

## CONCLUSÃO

A expressão imunistoquímica dos marcadores OPN e ABCB5 não apresentou associação com as características epidemiológicas

e clinicopatológicas. Em relação à progressão da doença e do óbito, não se conseguiu observar relação de correspondência com os marcadores avaliados.

## REFERÊNCIAS

- Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, Sanchirico ME, Jansson M, Zawaideh S, et al. Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. *Science*. 2000 Feb;287(5454):860-4.
- Bandopadhyay M, Bulbule A, Butti R, Chakraborty G, Ghorpade P, Ghosh P, et al. Osteopontin as a therapeutic target for cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2014 Aug;18(8):883-95.
- Barchi LC, Ramos MFKP, Dias AR, Andreollo NA, Weston AC, Lourenço LG, et al. II Brazilian Consensus on Gastric Cancer Association. *ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo)* [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 26];33(2). Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-67202020000200306&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-67202020000200306&tlng=en)
- Coimbra FJF, Torres OJM, Alihanov R, Agarwal A, Pessaux P, Fernandes E de SM, et al. Brazilian Consensus on Incidental Gallbladder Carcinoma. *ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo)* [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 26];33(1). Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-67202020000100306&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-67202020000100306&tlng=en)
- Cronin KA, Lake AJ, Scott S, Sherman RL, Noone AM, Howlader N, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, part I: National cancer statistics. *Cancer*. 2018 Jul 1;124(13):2785-800.
- Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res*. 2001;42(7):1007-17.
- Fisher LW, Jain A, Tayback M, Fedarko NS. Small integrin binding ligand N-linked glycoprotein gene family expression in different cancers. *Clin Cancer Res*. 2004 Dec;10(24):8501-11.
- Freire EG, Albuquerque JCS, Leal IP, Sousa NA, Graça JRV da, et al. Effect of chronic renal dysfunction on the permeability of the colon to water and electrolytes: experimental study on rats. *ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo)* [Internet]. 2019 [cited 2020 Aug 27];32(4). Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-67202019000400306&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-67202019000400306&tlng=en)
- Gambichler T, Petig AL, Stockfleth E, Stücker M. Expression of SOX10, ABCB5 and CD271 in melanocytic lesions and correlation with survival data of patients with melanoma. *Clin Exp Dermatol*. 2016;41(7):709-16.
- Guo Q, Grimmig T, Gonzalez G, Giobbie-Hurder A, Berg G, Carr N, et al. ATP-binding cassette member B5 (ABCB5) promotes tumor cell invasiveness in human colorectal cancer. Downloaded from: 2018; Available from: <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.RA118.003187>
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*. 2009;59(4):225-49.
- Kleffel S, Lee N, Lezcano C, Wilson BJ, Sobolewski K, Saab KR, et al. ABCB5-Targeted Chemoresistance Reversal Inhibits Merkel Cell Carcinoma Growth. *J Invest Dermatol*. 2016;136(4):838-46.
- Kugimiya N, Nishimoto A, Hosoyama T, Ueno K, Enoki T, Li T, et al. The c-MYC-ABCB5 axis plays a pivotal role in 5-fluorouracil resistance in human colon cancer cells. *J Cell Mol Med*. 2015;19(7):1569-81.
- Lee IK, Kim DH, Gorden DL, Lee YS, Sung NY, Park G-S, et al. Prognostic value of CEA and CA 19-9 tumor markers combined with cytology from peritoneal fluid in colorectal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2009 Apr;16(4):861-70.
- Likui W, Hong W, Shuwen Z, Yuangang Y, Yan W. The potential of osteopontin as a therapeutic target for human colorectal cancer. *J Gastrointest Surg*. 2011 Apr;15(4):652-9.
- Likui W, Hong W, Shuwen Z. Clinical significance of the upregulated osteopontin mRNA expression in human colorectal cancer. *J Gastrointest Surg*. 2010 Jan;14(1):74-81.
- Mack PC, Redman MW, Chansky K, Williamson SK, Farneth NC, Lara PNJ, et al. Lower osteopontin plasma levels are associated with superior outcomes in advanced non-small-cell lung cancer patients receiving platinum-based chemotherapy: SWOG Study S0003. *J Clin Oncol*. 2008 Oct;26(29):4771-6.
- Mole DJ, O'Neill C, Hamilton P, Olabi B, Robinson V, Williams L, et al. Expression of osteopontin coregulators in primary colorectal cancer and associated liver metastases. *Br J Cancer*. 2011 Mar;104(6):1007-12.
- Muzny DM, Bainbridge MN, Chang K, Dinh HH, Drummond JA, Fowler G, et al. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* [Internet]. 2012;487(7407):330-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature11252>
- Ng L, Wan TM-H, Lam CS-C, Chow AK-M, Wong SK-M, Man JH-W, et al. Post-operative plasma osteopontin predicts distant metastasis in human colorectal cancer. *PLoS One*. 2015;10(5):e0126219.
- Nitsche U, Rosenberg R, Balmert A, Schuster T, Slotta-Huspenina J, Herrmann P, et al. Integrative marker analysis allows risk assessment for metastasis in stage II colon cancer. *Ann Surg*. 2012 Nov;256(5):763-71; discussion 771.
- Overgaard J, Eriksen JG, Nordmark M, Alsner J, Horsman MR. Plasma osteopontin, hypoxia, and response to the hypoxia sensitizer nimorazole in radiotherapy of head and neck cancer: results from the DAHANCA 5 randomised double-blind placebo-controlled trial. *Lancet Oncol*. 2005 Oct;6(10):757-64.
- Schatton T, Murphy GF, Frank NY, Yamaura K, Waaga-Gasser AM, Gasser M, et al. Identification of cells initiating human melanomas. [cited 2017 Apr 28]; Available from: <https://www.nature.com/nature/journal/v451/n7176/pdf/nature06489.pdf>
- Valcz G, Sipos F, Krenács T, Molnár J, Patai Á V., Leiszter K, et al. Elevated osteopontin expression and proliferative/apoptotic ratio in the colorectal adenoma-dysplasia-carcinoma sequence. *Pathol Oncol Res*. 2010 Dec;16(4):541-5.
- Wai PY, Kuo PC. Osteopontin: regulation in tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2008 Mar;27(1):103-18.
- Weber GF, Ashkar S, Cantor H. Interaction between CD44 and osteopontin as a potential basis for metastasis formation. *Proc Assoc Am Physicians*. 1997 Jan;109(1):1-9.
- Weber GF. The cancer biomarker osteopontin: combination with other markers. *Cancer Genomics Proteomics*. 2011;8(6):263-88.
- Wei R, Wong JPC, Kwok HF. Osteopontin -- a promising biomarker for cancer therapy. *J Cancer*. 2017;8(12):2173-83.
- Wilson BJ, Schatton T, Zhan Q, Gasser M, Ma J, Saab KR, et al. ABCB5 identifies a therapy-refractory tumor cell population in colorectal cancer patients. *Cancer Res August* [Internet]. 2011 [cited 2018 Apr 6];71(15):5307-16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3395026/pdf/nihms302813.pdf>
- Yang C-Y, Tseng J-Y, Chen C-F, Chou T-Y, Gao H-W, Hua C-L, et al. Genome-wide copy number changes and CD133 expression characterized distinct subset of colon polyps: differentiation between incidental polyps and cancer-associated polyps. *Int J Colorectal Dis* [Internet]. 2015 Dec 24 [cited 2019 Jul 10];30(12):1617-26. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00384-015-2319-2>
- Yao J, Yao X, Tian T, Fu X, Wang W, Li S, et al. ABCB5-ZEB1 Axis Promotes Invasion and Metastasis in Breast Cancer Cells. *Oncol Res Featur Preclin Clin Cancer Ther*. 2017;25(3):305-16.
- Zhao M, Liang F, Zhang B, Yan W, Zhang J. The impact of osteopontin on prognosis and clinicopathology of colorectal cancer patients: a systematic meta-analysis. *Sci Rep*. 2015 Aug;5:12713.