

Expressão imunohistoquímica do marcador tumoral CD34 e P27 como fator prognóstico em adenocarcinoma de próstata clinicamente localizado após prostatectomia radical

Immunohistochemistry expression of tumor markers CD34 and P27 as a prognostic factor of clinically localized prostate adenocarcinoma after radical prostatectomy

AISSAR EDUARDO NASSIF, ACBC-PR¹; RENATO TÂMBARA FILHO²

R E S U M O

Objetivo: Analisar a expressão imunohistoquímica do marcador CD34 e p27, como fator prognóstico em pacientes com neoplasia de próstata localizada. **Métodos:** Análise de 100 casos de pacientes portadores de neoplasia prostática localizada submetida à cirurgia curativa. Realizou-se o preparo histológico habitual, seguido da reação imunohistoquímica para a detecção do acúmulo da proteína CD34 e p27 seguida de análise estatística. **Resultados:** Na avaliação do marcador P27 e na correlação com as variáveis, observou-se diferença significativa no escore de Gleason com expressão positiva (P27 positivo) relacionada com PSA médio mais baixo ($p=0,091$), escore de Gleason mais baixo ($p<0,0001$) e menor área de tumor no CD34 ($p=0,036$). Correlacionando-se o marcador CD34 na área tumoral observou-se quanto menor o CD34 positivo menor é o valor do PSA ($p<0,0001$), e menor é o escore de Gleason ($r=0,5726$; $p<0,0001$) e quanto maior o CD34 positivo maior é o estadiamento ($r=0,3305$; $p<0,0001$) e a chance de recidiva ($p=0,002$). Os pacientes com estadiamento mais alto, também tinham maior área CD34 positivo ($p<0,0001$). **Conclusão:** Os marcadores P27 e CD34 estão associados com os eventos próprios ao câncer de próstata; contudo, apenas o CD34 foi capaz de determinar a possibilidade de recidiva bioquímica.

Descritores: Prostatectomia. Neoplasias da próstata. Produtos do gene rex. Antígenos CD34.

INTRODUÇÃO

O câncer da próstata é a neoplasia maligna visceral mais comum em homens, e a incidência tende a aumentar nas próximas décadas com o aumento da expectativa de vida¹⁻³. Aproximadamente 543 mil novos casos são diagnosticados a cada ano no mundo. No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer previu 49.530 casos novos em 2008, um número que corresponde a risco estimado de 52 novos casos para cada 100 mil homens, sendo o mais comum tumor não cutâneo que vem sendo diagnosticado em todas as regiões do país⁴.

Apesar do ganho de conhecimento epidemiológico e biomolecular no câncer de próstata não se pode prever quais pacientes irão desenvolver a doença clinicamente significativas e quais permanecerão com tumor confinado⁵⁻⁷. A detecção precoce do câncer de próstata com antígeno prostático específico (PSA) tem permitido a muitos pacientes a possibilidade de tratamento radical com intenção curativa. No entanto, até 30% dos pacientes sub-

metidos à prostatectomia radical para a doença clinicamente localizada experimentará recidiva bioquímica. Em alguns casos, recidiva bioquímica representa doença micrometastática, não detectável antes da operação e quase sempre ainda não detectável no momento da recidiva do PSA⁶.

No câncer prostático, a análise histopatológica tem grande relevância clínica^{8,9}. Exames histológicos e sorológicos descrevem grande número de importantes alterações, permitindo o monitoramento da evolução da doença^{10,11}. No entanto, o método imunohistoquímico qualitativo demonstrou grande disparidade e variabilidade de resultados entre diferentes observadores^{1,12,13}. A fim de proporcionar escala numérica e reproduzível de padrões de marcação dos tecidos, aumentando a sensibilidade e análise de controle de qualidade, se tem procurado cada vez mais refinamentos tecnológicos utilizando métodos automatizados morfométricos¹⁴.

A busca de um fator prognóstico ideal no câncer de próstata, que inclua a decisão do paciente sobre o tipo

Este estudo foi desenvolvido no Programa de Pós-Graduação em Princípios de Cirurgia, Hospital de Clínicas / UFPR - Curitiba-PR-Brasil.

1. Doutor, Professor Adjunto de Cirurgia da Faculdade Ingá- Maringá/PR-BR; 2. Doutor, Professor Adjunto de Urologia do HC-UFPR - Curitiba/PR-BR.

de tratamento, tem sido um dos grandes desafios da medicina. Quando identificar-se as variáveis biológicas que ajudem a indicar a terapia adjuvante, isto provavelmente reduzirá as taxas de recorrência tumoral¹⁵⁻¹⁸. Muitos estudos têm demonstrado a importância de novos marcadores imunohistoquímicos que possam, no futuro, ser utilizados como preditores do prognóstico e do desenvolvimento de tumoral^{11,12,15-18}.

Este trabalho tem por objetivo analisar a expressão imunohistoquímica do marcador CD34 e p27, como fator prognóstico em pacientes com neoplasia de próstata localizada.

MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e está em conformidade com a legislação nacional e do Comitê Internacional sobre a harmonização das regras de boa prática clínica. (Res. 196/96 CNS-MS e ICH GCP).

Caracterização da amostra

Os pacientes foram identificados usando o banco de mais de 500 amostras de homens com câncer de próstata clinicamente localizado submetidos à prostatectomia radical e linfadenectomia pélvica entre janeiro de 2000 e dezembro de 2006. Depois de anônimos e excluindo os pacientes que receberam no pré-operatório inibidores de 5-alfa-redutase ou terapia neoadjuvante antiandrogênica, 100 pacientes foram selecionados. O seguimento médio foi de 36 meses.

Todos foram diagnosticados com adenocarcinoma da próstata, tipo acinar usual, com estágio clínico pré-operatório de T1c e T2c. A história clínica, exame físico geral e urológico e os exames laboratoriais (geral e específico de avaliação hematológica com PSA) foram sistematicamente analisados pelo mesmo observador.

A avaliação da ultrassonografia transretal e biópsia foram feitas pelo mesmo profissional. Uma biópsia transretal foi realizada de forma ampliada, com amostras da região lateral e na zona de transição, com 12 ou 14 amostras. Os pacientes foram submetidos a testes para estadiamento pré-operatório com cintilografia óssea, radiografia de tórax e tomografia computadorizada ou ressonância magnética da pelve, conforme a necessidade. Eles foram classificados de acordo com a atualização mais recente proposta pela União Internacional contra o Câncer, TNM. Após a confirmação do diagnóstico por biópsia, esperou-se de quatro a seis semanas para a operação. Os espécimes cirúrgicos foram colhidos e analisados no mesmo laboratório e esses blocos e relatórios foram revistos por um uropatologista.

Processamento histológico

Os espécimes cirúrgicos foram submetidos a cortes seriados, compreendendo as fatias com 0,5 cm de espessura em toda a glândula, e obedecer à rotina e ao protocolo. O material foi incluído em tinta nanquim para melhor identificação e avaliação das margens cirúrgicas. As fatias que representam cortes macroscópicos com micrótomo rotativo (American Optical Instruments ®) foram submetidas à inclusão em parafina para fazer cortes histológicos de 3 µm de espessura e corados com hematoxilina-eosina. Uma vez estabelecido o diagnóstico pelo patologista, então, áreas de tumor foram separados os blocos de parafina, a fim de ser estudado.

A lâmina com a melhor representação tumoral foi selecionada para estudo imunohistoquímico. O microscópio utilizado foi uma marca Nikon ®, modelo Eclipse E-400. Todas as lâminas foram avaliadas pelo mesmo uropatologista.

Coloração imunohistoquímica e avaliação microscópica

A graduação histológica foi estabelecida de acordo com os critérios de Gleason. A reação imunohistoquímica foi preparada para detectar o acúmulo de CD34 e p27. Os cortes histológicos foram relavados e hidratados em concentrações decrescentes de etanol e lavado com água destilada. Foi colocado em solução de citrato (pH 6,0) e conduzido a forno de micro-ondas em temperatura médio-máximas de 15 minutos, depois de serem removidos e deixados em repouso à temperatura ambiente por 15 minutos. Depois de adicionar o material em solução tampão PBS (pH = 7,6) foram usados bloqueadores da peroxidase endógena; os cortes foram incubados em solução de peróxido de hidrogênio 3% em metanol por 30 minutos em temperatura ambiente.

Em seguida, procedeu-se a um ciclo de lavagem com água destilada e o material foi incubado por 30 minutos em solução contendo 4% de soro normal em PBS. A produção de anticorpos específicos (DO-7, Dako A / S, Dinamarca), foram preparadas com diluição 1:50 em PBS e incubadas com as secções de 12 horas em câmara úmida. Depois de um novo ciclo de lavagens, os cortes foram novamente colocados em câmara úmida para incubação de 30 minutos com o anticorpo secundário anti-mouse IgG biotina (Vectastain, Vector Lab., CA, EUA) diluído 1:600 em PBS. Depois outra rodada de lavagens, o material foi incubado em câmara úmida por 60 minutos com o complexo avidina/biotina (*Streptococcus* ABC, Vectastain, Vector Lab CA, E.U.A.) com diluição de 1:800 em PBS. A cor da reação de imunoperoxidase foi realizada por imersão, por oito minutos em solução contendo o cromógeno DAB (tetra-cloridrato de 3,5-diaminobenzidina) e peróxido de hidrogênio. Após a lavagem em água corrente, foi realizada contra a coloração com hematoxilina de Harris (Merck, Darmstadt, Alemanha) por dois minutos.

Cada grupo de seções foi submetido à análise e também foram incluídos controles positivos e negativos. A leitura da reação foi feita em microscópio óptico e foram observados os critérios de positividade para p27 utilizado por outros autores, sendo a percentagem mínima de neoplasia com 40% ou mais de células tumorais coradas por um campo de grande aumento (X400). O estudo patológico de círculos idênticos nas lâminas coradas pelo CD34+, garantem que as mesmas áreas foram contados em cada lâmina. O método de contagem foi a forma modificada pelo protocolo descrito por Weidner *et al.*¹⁹ a mesma área foi cercada na lâmina e nas outras consecutivas para ter certeza de que os vasos na mesma área foram contados. Em seguida, a contagem foi realizada em 10 campos separados, usando ampliação de 400X (microscópio Olympus® BH2). Todas as células endoteliais coradas ou do agrupamento de células foram contadas como um microvaso. Se dois ou mais focos positivos parecessem pertencer a um mesmo vaso, único e contínuo, eles eram contados como um microvaso. A MVD (densidade microvascular) contada foi definida como a soma das três maiores contagens.

Análise estatística

A correlação entre as expressões CD34 e p27 e as características clínico-patológicas foram avaliadas por testes paramétricos t de Student e não paramétrico Mann-Whitney; comparação entre duas proporções através do software Primer of Biostatistics, Chi - quadrado e exato de Fisher (Epi-Info). O nível de significância adotado foi menor que 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Avaliação demográfica

Foram avaliados 100 pacientes com câncer de próstata, com idade média de $63,7 \pm 6,8$ anos, variando de 44,0 a 75,0 anos com maior concentração para a faixa etária de 60 a 69 anos (58,0%). O PSA desses pacientes foi de $7,8 \pm 4,5$ ng/dl (mediana de 6,5) variando de 2,3 a 24,0 ng/dL, sendo que a maioria dos pacientes (70,0%)

tinha PSA variando entre 4,0 e 9,9 ng/dL. Foi observado maior proporção de escore de Gleason até 6 (72,0%); o estágio patológico predominante foi pT2c (65,0%)

Expressão do marcador P27

Com o marcador P27 foi observado, em geral, maior proporção de expressão positiva (60,0%) contra a negativa (40%) ($p < 0,0007$).

Na avaliação do P27 e na correlação com as variáveis observou-se diferença significativa no escore de Gleason, independente de conjunto de valores, onde pacientes com expressão positiva (P27 Positivo) apresentaram maior proporção de escore igual ou inferior a 6 ($p=0,015$). Na comparação das variáveis do marcador P27, foi observado que os pacientes com expressão positiva (P27 Positivo), também apresentaram PSA médio mais baixo ($p=0,091$), escore de Gleason mais baixo ($p < 0,0001$) e menor área de tumor no CD34 ($p=0,036$). (Tabela 1)

Expressão do marcador CD34

Correlacionou-se o CD34 na área tumoral e observou-se quanto menor o CD34 menor é o valor do PSA ($p < 0,0001$), menor o CD34 menor é o escore de Gleason ($r=0,5726$; $p < 0,0001$), indicando que quanto maior o CD34 maior é o estadiamento ($r=0,3305$; $p < 0,0001$) e a chance de recidiva ($p=0,002$). Os pacientes com estadiamento mais alto, também tinham maior área CD34 ($p < 0,0001$) (Tabela 2).

Correlação CD34 e P27

A análise de correlação demonstrou que os pacientes com expressão positiva para o P27 apresentaram menor área CD34 ($p=0,036$) (Tabela 3).

DISCUSSÃO

A proliferação celular e a progressiva aquisição do fenótipo especializado mostram processos de desenvolvimento que podem ser influenciados por uma série de variáveis, incluindo parâmetros físicos, componentes da matriz extracelular, moléculas de adesão celular e com-

Tabela 1 - Correlação dos dados em relação ao P27 em 100 pacientes portadores de adenocarcinoma de próstata.

Dados	Correlação(r)	P	Significância
Estádio Patológico	+ 0,1367	0,175	NS
Escore de Gleason			
· Valor 1	- 0,2027	0,043	S
· Valor 2	- 0,2239	0,025	S
· Total	- 0,3000	0,002	S
Tempo de Follow-up (meses)	- 0,0235	0,816	NS
PSA (ng/dL)	- 0,1351	0,180	NS
Evolução do PSA (Cura / Recidiva)	- 0,0745	0,462	NS

Nota: Análise de correlação.

Tabela 2 - Correlação dos dados em relação ao CD34 e área tumoral.

Dados	Correlação(r)	P	Significância
Idade (anos)	- 0,0724	0,474	NS
PSA (ng/dL)	+ 0,6307	<0,0001	S
Escore de Gleason			
* Valor 1	+ 0,2153	0,031	S
* Valor 2	+ 0,5115	<0,0001	S
* Total	+ 0,5726	<0,0001	S
Estádio Patológico	+ 0,3305	<0,0001	S
Tempo de Follow-up (meses)	+ 0,1179	0,243	NS
CD34 - área normal	+ 0,1936	0,054	NS

Nota: Análise de correlação.

Tabela 3 - Estatística descritiva da evolução do PSA, estadiamento patológico, P27 em relação ao CD34 e área tumoral.

CD34 Área Tumor	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Mediana	Valor de p ⁽¹⁾
PSA (ng/dl)						0,002	
* Cura	74	42,1	15,8	18,0	84,0	39,0	
* Recidiva	26	57,2	21,2	19,0	91,0	62,0	
Estadiamento							<0,0001 ⁽²⁾
* 1a	08	31,9	8,6	21,0	46,0	-	
* 2a	18	32,5	8,8	19,0	58,0	-	
* 2b	04	45,8	12,0	30,0	59,0	-	
* 2c	65	50,7	19,1	18,0	91,0	-	
* 3a / 3b	05	57,6	17,5	38,0	84,0	-	
* 3a	01	38,0	-	-	-	-	
* 3b	04	62,5	15,8	48,0	84,0	-	
Marcador P27							0,036
* Negativo	40	51,2	19,1	18,0	84,0	47,0	
* Positivo	60	42,7	17,4	19,0	91,0	39,0	

Nota: Desvio-padrão muito elevado, recomenda-se utilizar a mediana(1) Mann-Whitney; (2) Análise de variância (ANOVA one way).

plexos de junção entre as células da membrana apicais. O crescimento exponencial das células tumorais também requer suporte de vasos sanguíneos nutrientes²⁰. Ao nível celular o aparecimento de neovascularização aumenta o crescimento tumoral através de perfusão e efeitos parácrinos. Mostra-se que há maior densidade de microvasos no centro do tumor de próstata do que na periferia, sugerindo que os promotores angiogênicos têm maior atividade no centro do câncer^{20,21}.

De uma perspectiva clínica, a neovascularização permite aos tumores crescer e metastatizar, por isso que a angiogênese é fator importante na progressão e aumento na neoplasia sólida. Recentes estudos de bexiga, útero e colo do útero, melanoma e câncer de mama têm mostrado que a vascularização tumoral em neoplasias invasivas tem indicador muito significativo e preciso em prever prognóstico global e livre de recidiva^{20,22,23}.

A densidade de microvascular no câncer de próstata foi descrita em 1993²⁰. A primeira observação foi a significativa diferença em MVD (densidade de microvasos)

comparando as áreas benignas e áreas tumorais. Outros autores mostraram que a densidade microvascular em tumores de pacientes em quem a doença metastática se desenvolveu foi significativamente maior do que naqueles sem metástases^{24,25}. Na análise multivariada, a densidade microvascular foi um importante preditor de doença metastática e preditor independente de progressão da doença após prostatectomia radical^{20,22,26}. Sabe-se que a MDV está associada com a recorrência, mas não há um ponto de corte definido para esta avaliação^{24,26}. A biomarcador CD34 pode ser usado para quantificar a densidade microvascular do câncer de próstata e estratificar os pacientes que correm maior risco de recorrência após prostatectomia radical²⁰.

A importância da angiogênese no câncer de próstata está bem estabelecida. Muitos estudos têm demonstrado agora a sua correlação direta com escore de Gleason, estágio do tumor, progressão, metástase e sobrevida²⁷⁻³¹. Além da MDV, há outros biomarcadores como VEGF, MMP-2, MMP-9, HIF-1 que estão associados com CD34,

estágio do tumor e grau de doença e sobrevida específica em pacientes com câncer de próstata^{20,22,24,32,33}.

O PSA sérico, o escore de Gleason e estágio clínico e patológico foram utilizados individualmente e em conjunto para melhorar a previsão de recidiva sorológica e clínica após prostatectomia radical³⁰. A MVD pode ser usada para prever com mais precisão o retorno em especial naqueles pacientes que são classificados como de risco intermediário de Gleason pré-operatório e estágio patológico^{20,30,33}. Neste estudo o biomarcador CD34 esteve associado significativamente com a contagem e grau nuclear, com a soma do escore de Gleason e estágio patológico, e a densidade microvascular (MVD) permaneceu significativa em prever a recorrência.

O gene P27, cujo produto protéico é um regulador negativo do ciclo celular, e um supressor tumoral potencial, pertence à família Cip/Kip inibidores da proteína quinase dependente de ciclina, que promovem diminuição na proliferação celular. Níveis baixos de P27 estão associados com pior prognóstico em pacientes com câncer de mama, câncer de cólon, astrocitoma cerebral, pulmão, carcinoma epidermóide oral, linfoma e câncer de ovário, e vem sendo considerado um dos marcadores mais promissores na próstata câncer³⁴⁻³⁸.

A baixa expressão do marcador P27 é considerada um preditor independente de mau prognóstico em câncer de próstata. Sua avaliação nas biópsias e amostras de espécimes de prostatectomia radical podem ajudar a distinguir entre doença potencialmente agressiva e potencialmente não-doença agressiva no rastreamento do câncer da próstata³⁹. Ela está associada a alterações na apoptose e na expressão de diferentes marcadores como: Caderinas, Ki-67, BCL-2, a expressão da proteína p53 na bexiga e da próstata, Akt/proteína quinase B, Skp2 (fase S proteína quinase), modificações nas histonas^{37,39,40}. Vários autores descreveram a correlação entre o P27 e parâmetros pré e pós-operatório como escore de Gleason, extensão extra capsular, envolvimento das vesículas seminais, gânglios linfáticos metástase pélvica, margens cirúrgicas positivas, a coexistência de neoplasia intra-epitelial prostática de alto grau, tamanho do tumor, o volume da próstata e níveis de PSA⁴¹⁻⁴⁴.

Além disso, está relacionado diretamente para prever maior risco de recorrência e sobrevida doença-

específica e é útil como um potencial alvo molecular para novos agentes sistêmico no câncer de próstata recorrente^{37,39,40,41,43}. Neste estudo observou-se correlação entre o marcador P27 e o escore de Gleason e os valores de PSA.

Roy *et al.*⁴³ analisando o papel dos inibidores da quinase dependente de ciclina, descreveu que a menor expressão da proteína P27 em tecidos de câncer de próstata é frequentemente associada com mau prognóstico, e os marcadores P21 e P27 mostraram maior densidade microvascular e sua expressão aumentada, tem funções compensatória em células de câncer de próstata avançado, e ablação ou para modulação de ambas as moléculas essencialmente aumentando o fenótipo agressivo carcinoma da próstata. Estes resultados são semelhantes aos encontrados neste trabalho, onde as principais áreas de MVD/CD34 estão associadas à menor expressão da proteína P27.

Aqui investigou-se o valor clínico preditivo da expressão alterada P27 e do CD34 em pacientes tratados de câncer de próstata localizado. Estes dados revelaram que a expressão alterada (negativa) do P27 é um evento biológico comum, que sugerem que eles podem ter papel na patogênese do câncer de próstata, e seu valor clínico preditivo parece limitado em comparação com a PSA e escore de Gleason. A observação de que a diminuição da expressão de P27 está alterada é comparável com os relatos publicados do P27 em outros grupos^{40,42,44}. Na presente análise, entretanto, não se observou a forte correlação entre a queda do P27 e expressão de resultados clínicos.

Os marcadores tumorais P27 e CD34 são comuns eventos biológicos no câncer de próstata, mas o P27 parece limitado em comparação com os fatores prognósticos-padrão. Por outro lado, a angiogênese pode ser clinicamente útil como fator prognóstico no carcinoma de próstata e a medida da densidade micro-vascular usando imunohistoquímica de CD34 é um fator prognóstico associado à sobrevida livre de recorrência na prostatectomia radical.

Os marcadores P27 e CD34 estão associados com os eventos próprios ao câncer de próstata; contudo, apenas o CD34 foi capaz de determinar a possibilidade de recidiva bioquímica.

A B S T R A C T

Objective: to analyze the immunohistochemical expression of P27 and CD34 markers as prognostic factors in patients with localized prostate cancer. **Methods:** analysis of 100 patients with localized prostate cancer submitted to curative surgery. We carried out the usual histological preparation, followed by immunohistochemistry to detect the accumulation of P27 and CD34 protein followed by statistical analysis. **Results:** in the evaluation of P27 marker and on the correlation with the variables we found significant difference in Gleason score with positive expression (positive P27) related to lower mean PSA ($p = 0.091$), lower Gleason score ($p < 0.0001$) and smaller tumor area in CD34 ($p = 0.036$). Regarding the CD34 marker at the tumor area, it was observed that the smaller the positive CD34, the lower the PSA value ($p < 0.0001$) and lower the Gleason score ($r = 0.5726$, $p < 0.0001$), and the higher the positive CD34, the higher the staging ($r = 0.3305$, $p < 0.0001$) and the chance of recurrence ($p = 0.002$). Patients with higher stage also displayed larger positive CD34 areas ($p < 0.0001$). **Conclusion:** the markers CD34 and P27 are associated with events specific to prostate cancer, however, only CD34 was able to determine the possibility of biochemical recurrence.

Key words: Prostatectomy. Neoplasms of the prostate. Rex gene products. CD34 antigens.

REFERÊNCIAS

1. Ercole B, Marietti SR, Fine J, Albertsen PC. Outcome following active surveillance of men with localized prostate cancer diagnosed in the prostate specific antigen era. *J Urol.* 2008;180(4):1336-9; discussion 1340-1. Epub 2008 Aug 15.
2. Kuo NW, Lin HC, Lee HC. Physician clinical experience and inappropriate prostate specific antigen screening: evidence from an Asian country. *J Urol.* 2008;180(5):1954-8; discussion 1958. Epub 2008 Sep 17.
3. Wilt TJ, MacDonald R, Rutks I, Shamliyan TA, Taylor BC, Kane RL. Systematic review: comparative effectiveness and harms of treatments for clinically localized prostate cancer. *Ann Intern Med.* 2008;148(6):435-48. Epub 2008 Feb 4. Erratum in: *Ann Intern Med.* 2008;148(1):888.
4. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Estimativa 2008 - Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2008.
5. Klein EA, Bianco F, Serio AM, Eastham JA, Kattan MW, Pontes JE, et al. Surgeon experience in strongly associated with biochemical recurrence after racial prostatectomy for all preoperative risk categories. *J Urol.* 2008;179(6):2212-7. Epub 2008 Apr 18.
6. Neal DE. Can we accurately identify men with low risk prostate cancer? *J Urol.* 2008;180(4):1217-18. Epub 2008 Aug 15.
7. Simone NL, Singh AK, Cowan JE, Soule BP, Carolli PR, Litwin MS. Pretreatment predictors of death from other causes in men with prostate cancer. *J Urol.* 2008; 180(6):2447-51; discussion 2451-2. Epub 2008 Oct 19.
8. Billis A, Guimarães MS, Freitas LLL, Meirelles L, Magna LA, Ferreira U. The impact of the 2005 international society of urological pathology consensus conference on standard Gleason grading of prostatic carcinoma in needle biopsies. *J Urol.* 2008; 180(2):548-52; discussion 552-3. Epub 2008 Jun 11.
9. Liska J, Repiska V, Polak S, Varga I, Blasko M, Macejova D, et al. Prostate tumors-histological classification and molecular aspects of prostate tumorigenesis. *Endocr Regul.* 2007;41(1):45-57.
10. Arlen PM, Bianco F, Dahut WL, D'amico A, Figg WD, Freedland SJ, et al. Prostate specific antigen working group guidelines on prostate specific antigen doubling time. *J Urol.* 2008;179(6):2181-5; discussion 2185-6. Epub 2008 Apr 18.
11. Freedland SJ, Moul JW. Prostate specific antigen recurrence after definitive therapy. *J Urol.* 2007;177(6):1985-91.
12. Doganavsargil B, Simsir A, Boyacioglu H, Cal C, Hekimgli M. A comparison of p21 and p27 immunorexpression in benign glands, prostatic intraepithelial neoplasia and prostate adenocarcinoma. *BJU Int.* 2006;97(3):644-8.
13. Rhodes DR, Sanda MG, Otte AP, Chinnaiyan AM, Rubin MA. Multiplex biomarkers approach for determining risk of prostate-specific antigen-defined recurrence of prostate cancer. *J Nat Cancer Inst.* 2003;95(9):661-8.
14. Dhir R. Prostate cancer biobanking. *Curr Opin Urol.* 2008;18(3):309-14.
15. Concato J, Jaind D, Li WW, Risch HA, Uchio EM, Wells CK. Molecular markers and mortality in prostate cancer. *BJU Int.* 2007;100(6):1259-63. Epub 2007 Sep 10.
16. Grignon DJ, Caplan R, Sarkar FH, Lawton CA, Hammond EH, Pilepich MV, et al. p53 status and prognosis of locally advanced prostatic adenocarcinoma: a study based on RTOG 8610. *J Nat Cancer Inst.* 1997;89(2):158-65.
17. Jin S. p53. Autophagy and tumor suppression. *Autophagy.* 2005;1(3):171-3. Epub 2005 Oct 21.
18. Mohaptra S, Chu B, Zhao X, Pledger WJ. Accumulation of p53 and reductions in XIAP abundance promote the apoptosis of prostate cancer cells. *Cancer Res.* 2005;65(17):7717-23.
19. Weidner N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J. Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol.* 1993; 143(2):401-9.
20. Bettencourt MC, Bauer JJ, Sesterhenn IA, Connelly RR, Moul JW. CD34 immunohistochemical assessment of angiogenesis as a prognostic marker for prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Urol.* 1998;160(2):459-65.
21. Bono AV, Celato N, Cova V, Salvadore M, Chinetti S, Novario R. Microvessel density in prostate carcinoma. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2002;5(2):123-7.
22. Izawa JI, Dinney CP. The role of angiogenesis in prostate and other urologic cancer: a review. *CMAJ.* 2001;164(5):663-70.
23. Charlesworth PJ, Harris AL. Mechanisms of disease: angiogenesis in urologic malignancies. *Nat Clin Prac Urol.* 2006;3(3):157-69.
24. Taille A, Katz AE, Bagiella E, Buttyan R, Sharir S, Olsson CA, et al. Microvessel density as a predictor of PSA recurrence after radical prostatectomy. *Am J Clin Pathol.* 2000;113(4):555-62.
25. Arakawa A, Soh S, Chakraborty S, Scardino PT, Wheeler TM. Prognostic significance of angiogenesis in clinically localized prostate cancer (staining for factor VIII-related antigen and CD34 antigen). *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 1997;1(1):32-8.
26. Pang RW, Poon RT. Clinical implication of angiogenesis in cancers. *Vasc Heal Risk Manag.* 2006;2(2):97-108.
27. Hall MC, Troncoso P, Pollack A, Zhou HY, Zagars GK, Chung LW, et al. Significance of tumor angiogenesis in clinically localized prostate carcinoma treated with external beam radiotherapy. *Urology.* 1994;44(6):869-75.
28. Borre M, Offersen BV, Nerstrøm B, Overgaard J. Microvessel density predicts survival in prostate cancer patients subjected to watchful waiting. *Br J Cancer.* 1998; 78(7):940-4.
29. Halvorsen O, Haukaas S, Høisaeter P, Akslen LA. Independent prognostic importance of microvessel density in clinically localized prostate cancer. *Anticancer Res.* 2000;20(5C):3791-9.
30. Rubin MA, Buyyounouski M, Bagiella E, Sharir S, Neugut A, Benson M, et al. Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade, pathologic stage, and clinical outcome. *Urology.* 1999;53(3):542-7.
31. Strohmeier D, Rössing C, Strauss F, Bauerfeind A, Kaufmann O, Loening S. Tumor angiogenesis is associated with progression after radical prostatectomy in pT2/pT3 prostate cancer. *Prostate.* 2000;42(1):26-33.
32. Gettman MT, Pacelli A, Slezak J, Bergstralh EJ, Blute M, Zincke H, Bostwick DG. Role of microvessel density in predicting recurrence in pathologic Stage T3 prostatic adenocarcinoma. *Urology.* 1999;54(3):479-85.
33. Krupski T, Petroni GR, Frierson HF Jr, Theodorescu JU. Microvessel density, p53, retinoblastoma, and chromogranin A immunohistochemistry as predictors of disease-specific survival following radical prostatectomy for carcinoma of the prostate. *Urology.* 2000;55(5):743-9.
34. Barbareschi M. p27 expression, a cyclin dependent kinase inhibitor in breast carcinoma. *Adv Clin Path.* 1999;3(4):119-27.
35. Tsuchiya A, Zhang GJ, Kanno M. Prognostic impact of cyclin-dependent kinase inhibitor p27kip1 in node-positive breast cancer. *J Surg Oncol.* 1999;70(4):230-4.
36. Catzavelos C, Tsao MS, DeBoer G, Bhattacharya N, Shepherd FA, Slingerland JM. Reduced expression of the cell cycle inhibitor p27Kip1 in non-small cell lung carcinoma: a prognostic factor independent of Ras. *Cancer Res.* 1999;59(3):684-8.
37. Vis AN, Noordzij MA, Fitoz K, Wildhagen MF, Schröder FH, van der Kwast TH. Prognostic value of cell cycle proteins p27 (kip1) and MIB-1, and the cell adhesion protein CD44s in surgically treated patients with prostate cancer. *J Urol.* 2000;164(6):2156-61.
38. Yang RM, Naitoh J, Murphy M, Wang HJ, Phillipson J, DeKernion JB, et al. Low p27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. *J Urol.* 1998;159(3):941-5.
39. Yu DS. Apoptosis-related markers for predicting progression of prostate cancer. *J Chin Med Assoc.* 2007;70(1):3.
40. Nguyen PL, Lin DI, Lei J, Fiorentino M, Mueller E, Weinstein MH, et al. The impact of Skp2 overexpression on recurrence-free survival following radical prostatectomy. *Urol Oncol.* 2009 May 16. [Epub ahead of print]
41. Revelos K, Petraki C, Gregorakis A, Scorilas A, Papanastasiou P, Tenta R, Koutsilieris M. p27(kip1) and Ki-67 (MIB1) immunohistochemical expression in radical prostatectomy specimens of patients with clinically localized prostate cancer. *In Vivo.* 2005;19(5):911-20.

42. Zheng XY, Ding W, Xie LP, Chen ZD. [Correlation of Skp2 and P27kip1 protein expression and clinicopathological features of prostate cancer]. *Ai Zheng*. 2004; 23(2):215-8.
43. Roy S, Singh RP, Agarwal C, Siriwardana S, Sclafani R, Agarwal R. Downregulation of both p21/Cip1 and p27/Kip1 produces a more aggressive prostate cancer phenotype. *Cell Cycle*. 2008;7(12):1828-35. Epub 2008 Jun 30.
44. Drobnyak M, Melamed J, Taneja S, Melzer K, Wieczorek R, Levinson B, et al. Altered expression of p27 and Skp2 proteins in prostate cancer of African-American patients. *Clin Can Res*. 2003;9(7):2613-9.

Recebido em 29/07/2009

Aceito para publicação em 30/09/2009

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: CAPES/CNPq

Como citar este artigo:

Nassif AE, Tâmbara Filho R. Expressão imunohistoquímica do marcador tumoral CD34 e p27 como fator prognóstico em adenocarcinoma de próstata clinicamente localizado após prostatectomia radical. *Rev Col Bras Cir*. [periódico na Internet] 2010; 37(5). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

Aissar Eduardo Nassif

E-mail: aenassif@gmail.com