












# Podemos usar a expressão de Ki67 para prever a agressividade do câncer de próstata?

## Can we use Ki67 expression to predict prostate cancer aggressiveness?

RONALDO MAIA<sup>1</sup> ; GABRIEL ARANTES DOS SANTOS<sup>2,3</sup> ; SABRINA REIS<sup>2,4,5</sup> ; NAYARA I VIANA<sup>1</sup> ; RUAN PIMENTA<sup>2,3</sup> ; VANESSA R GUIMARÃES<sup>2</sup> ; SAULO RECUERO<sup>2</sup> ; POLIANA ROMÃO<sup>2</sup> ; KATIA RAMOS MOREIRA LEITE<sup>2</sup> ; MIGUEL SROUGI<sup>2,3</sup> ; CARLO CARMARGO PASSEROTTI<sup>1</sup> .

### R E S U M O

**Introdução:** especialistas precisam biomarcadores que podem discriminar o câncer de próstata indolente de tumores agressivos. Ki67 é um marcador de proliferação, e sua expressão está associada à agressividade de vários tumores. **Objetivo:** analisar a expressão do Ki67 em amostras de câncer de próstata correlacionando com a agressividade da doença. **Métodos:** os níveis de mRNA de Ki67 foram determinados utilizando dados de uma coorte de TCGA (Tumor(n)=492 e controle(n)=52). A expressão da proteína foi determinada em 94 biópsias de pacientes por ensaio imuno-histoquímica. **Resultados:** no mRNA, a superexpressão Ki67 está associada ao tecido canceroso ( $p<0,0001$ ) e à pior sobrevida livre de doença ( $p=0,035$ ). A superexpressão proteica está associada ao aumento do escore ISUP ( $p<0,0001$ ), estágio de câncer ( $p=0,05$ ), recorrência bioquímica ( $p=0,0006$ ) e metástase ( $p<0,0001$ ). Também mostramos uma correlação positiva entre a expressão Ki67 e o escore ISUP ( $r=0,5112$ ,  $p<0,0001$ ) e a estratificação de risco de doença ( $r=0,3388$ ,  $p=0,0009$ ). A expressão Ki67 é um fator independentemente associado à recorrência bioquímica ( $p=0,002$ ) e metástase ( $p<0,0001$ ). Finalmente, os pacientes com alta expressão de Ki67 mostram melhor sobrevivência em relação à recorrência bioquímica ( $p=0,008$ ) e metástase ( $p=0,056$ ). Os pacientes com alta expressão de Ki67 são 2,62 vezes mais propensos a desenvolver recorrência bioquímica ( $p=0,036$ ). **Conclusão:** a superexpressão Ki67 está associada à agressividade do câncer de próstata.

**Palavras-chave:** Biomarcadores Tumorais. Imuno-Histoquímica. Prognóstico.

### INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CP) é um dos cânceres mais prevalentes no mundo e causa a morte de milhares de homens todos os anos<sup>1</sup>. Embora a prostatectomia radical (o tratamento mais comum para CP) tenha bons resultados em geral, ela apresenta alguns efeitos colaterais, como disfunção erétil e incontinência urinária<sup>2</sup>.

Como o tratamento excessivo é um desafio no CP, é fundamental prever quais pacientes precisam de tratamento invasivo, uma vez que abrigam tumores agressivos, e quais teriam doença indolente. Devido à significativa heterogeneidade do câncer de próstata, fatores prognósticos clássicos, como PSA sérico, estadiamento patológico e escore de Gleason não são suficientemente precisos para discriminar, de forma confiável, os cânceres indolentes dos agressivos<sup>3</sup>. Nesse sentido, biomarcadores de prognóstico molecular podem ser ferramentas essenciais no manejo clínico do CP.

A proteína Ki67, amplamente utilizada como marcadora de proliferação, é expressa em todas as fases do ciclo celular, exceto G0 e G1<sup>4</sup>. Por isso, o seu potencial como biomarcador prognóstico é avaliado em diversos tipos de câncer, como de mama, pulmão, bexiga, gástrico e de próstata<sup>5-9</sup>. Além disso, o uso da Ki67 é potencialmente aplicável, pois é tecnicamente acessível e de fácil interpretação<sup>10</sup>.

Considerando que há necessidade de novos biomarcadores moleculares para classificar o CP, neste trabalho avaliamos se a expressão de Ki67 pode prever a agressividade da doença.

### MÉTODO

#### Ética

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de

1 - Hospital Alemão Oswaldo Cruz, Center for Robotic Surgery - São Paulo - SP - Brasil 2 - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), Urologia - São Paulo - SP - Brasil 3 - D'Or Institute for Research and Education (IDOR) - São Paulo - SP - Brasil 4 - Hospital Moriah - São Paulo - SP - Brasil 5 - Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG) - Passos - MG - Brasil

Medicina da Universidade de São Paulo, sob o número 3.407.345. Todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido e foram informados sobre segurança em termos de integridade.

### Grupo TCGA

Usamos dados de RNA-seq dos conjuntos de dados de CP do The Cancer Genome Atlas (TCGA). A coorte consistiu de 492 amostras de adenocarcinoma de próstata e 52 amostras pareadas de tecido normal.

Todas as análises foram feitas usando o banco de dados online Gene Expression Profiling Interactive Analysis (GEPIA)<sup>11</sup>. A unidade de expressão gênica foi Transcrições por Milhão. Todas as imagens são originais da GEPIA, com pequenos ajustes de estilo.

### Pacientes

Utilizamos 94 biópsias de pacientes com câncer de próstata, tratados cirurgicamente em 1998, 1999, 2006 e 2007 no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Para obtenção dos dados clínicos e etiológicos, avaliamos os prontuários eletrônicos. As características dos pacientes estão resumidas na Tabela 1.

**Tabela 1** - Características dos Pacientes.

Idade (anos)	62,88 (±6,95)
PSA (ng/ml)	10,19 (±13,12)
ISUP (n)	
1	23
2	16
3	20
4	23
5	12
Estágio (n)	
pT2	50
pT3	44
Recidiva bioquímica (n)	
Não	58
Sim	25
Sem registro	11

Idade (anos)	62,88 (±6,95)
Metástase (n)	
Não	64
Sim	12
Sem registro	18
Estratificação de Risco (n)	
Muito baixo	0
Baixo	15
Intermediário favorável	8
Intermediário desfavorável	11
Alto	60

### Ensaio imuno-histoquímico

A expressão proteica foi avaliada por imuno-histoquímica, com a construção de um Tissue Microarray.

O ensaio imuno-histoquímico foi realizado simultaneamente em cinco lâminas contendo as amostras de CP, permitindo homogeneidade nas avaliações. Primeiramente, a desparafinização das lâminas do Tissue Microarray foi realizada em estufa a 60-65°C por uma hora e lavada com Xilol e diluições decrescentes de álcool, seguida de lavagem com água destilada. Em seguida, o antígeno foi recuperado por aquecimento em tampão universal de recuperação de antígeno Diva (1:100) e aquecido por 10 minutos a 110° C em panela de pressão elétrica (Decloacker).

Em seguida, as lâminas foram resfriadas em temperatura ambiente por 20 minutos e incubadas durante a noite a 4°C com o anticorpo monoclonal Ki67 (Orb7758, Biobyte). O sistema LSAB foi usado para imunocoloração (LSAB; Dako Cytomation, CA, EUA). A coloração foi realizada utilizando uma solução de substrato 3,3'-diaminobenzidina-cromogênio, seguida de contracoloração com hematoxilina de Harris. As lâminas foram então desidratadas, montadas com lamínulas e observadas em microscópio óptico por um patologista experiente.

### Análise de resultados

Os gráficos e a análise estatística foram realizados no software GraphPad Prism 8 SPSS (23.0).

Para o teste de hipóteses, utilizamos o teste t de Student para dois grupos e o ANOVA one-way com correção de Bonferroni para três ou mais grupos.

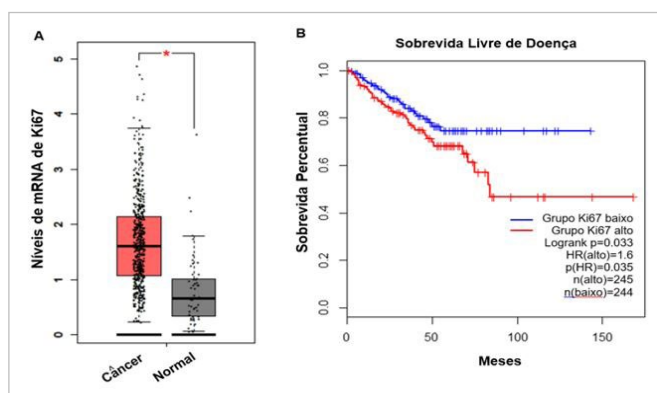
A análise de correlação utilizou o teste r de Pearson para o teste de hipóteses. Aplicamos regressão logística para avaliar se a expressão de Ki67 está independentemente associada a fatores prognósticos. Para todas as análises estatísticas, estabelecemos um nível de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

### A sobre-expressão do mRNA Ki67 está associada ao início e progressão do câncer de próstata

Para analisar a transcrição de Ki67 no câncer de próstata, utilizamos conjuntos de dados de CP do TCGA. Quando comparamos a expressão do mRNA de Ki67 entre câncer e tecido normal, observamos uma sobre-expressão significativa ( $p < 0,01$ ) na doença (Figura 1A).

Em seguida, separamos os tumores de acordo com a expressão de mRNA e observamos que pacientes com a pior sobrevida livre de doença apresentavam super-expressão de Ki67 (HR=1,6,  $p=0,035$ ) (Figura 1B).



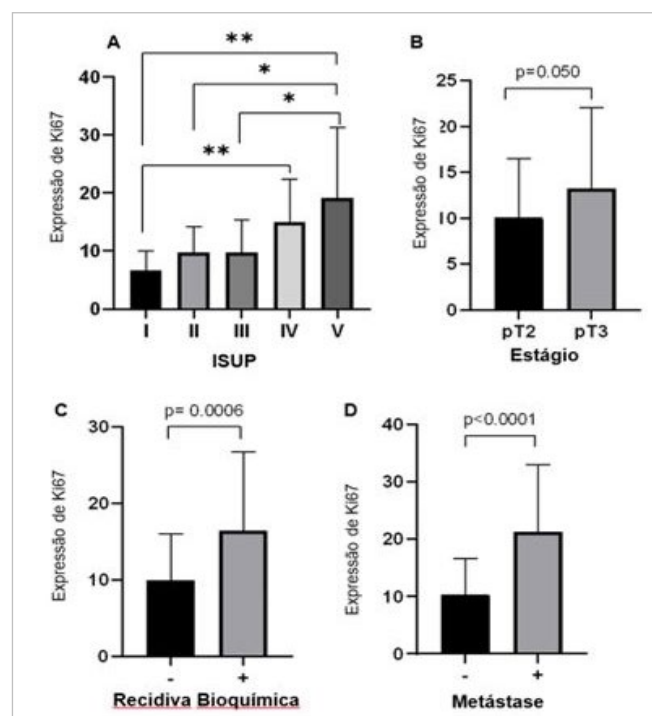
**Figura 1.** Níveis de mRNA de Ki67 no câncer de próstata. A: sobre-expressão de Ki67 no câncer (Limiar Log 2 Fold Change = 0,9); B: sobre-expressão de Ki67 associada à pior sobrevida livre de doença. \* $p < 0,01$ ; HR= Relação de Risco.

### A sobre-expressão da proteína Ki67 está associada à agressividade do câncer de próstata

Em seguida, por meio de ensaio imuno-histoquímico, verificamos se os níveis da proteína Ki67 estavam associados à agressividade do CP primário em

amostras clínicas da doença. O aumento progressivo de Ki67 está associado ao aumento do escore da International Society of Urological Pathology (ISUP) ( $p < 0,0001$ ) (Figura 2A). Em particular, os tumores ISUP 4 e ISUP 5 apresentam a maior expressão, com diferenças significativas entre ISUP 1 e ISUP 4 ( $p=0,0009$ ) e entre ISUP 5 e ISUP 1, 2 e 3 ( $p < 0,0001$ ,  $p=0,0046$  e  $p=0,0027$ , respectivamente).

A sobre-expressão de Ki67 também foi associada a doença não confinada (Figura 2B) e a presença de recidiva bioquímica (Figura 2C) e metástase (Figura 2D) ( $p=0,05$ ,  $p=0,0006$  e  $p < 0,0001$ , respectivamente). Não foi encontrada associação entre os níveis de PSA e a expressão de Ki67 (dados não apresentados).



**Figura 2.** Associação entre a expressão da proteína Ki67 e a agressividade do câncer de próstata. A: aumento progressivo de Ki67 com o aumento do escore ISUP; B: sobre-expressão de Ki67 associada à doença extraprostática; C e D: sobre-expressão de Ki67 associada à presença de recidiva bioquímica e metástase, respectivamente. \*\* $p < 0,001$ , \* $p < 0,01$ .

### A análise quantitativa mostrou que a sobre-expressão de Ki67 se correlaciona com um pior prognóstico para o câncer de próstata

Para uma possível aplicação da expressão de Ki67 na prática clínica do CP, precisamos avaliá-la quantitativamente. Para isso, categorizamos nossos pacientes levando em consideração o escore ISUP e a

estratificação de risco para câncer de próstata (Diretriz AUA/ASTRO/SUO<sup>3,12</sup>), e realizamos uma análise de correlação. O aumento de Ki67 correlacionou-se positivamente com o

pior prognóstico da doença, considerando tanto o escore ISUP ( $r=0,5112$ ,  $p<0,0001$ ) quanto a estratificação de risco ( $r=0,3388$ ,  $p=0,0009$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2** - Correlação entre expressão de Ki67 e fatores prognósticos.

Pearson r	ISUP	Estratificação de risco
R	0,5112	0,3388
Intervalo de confiança de 95%	0,3433 a 0,6475	0,1451 a 0,5075
p-valor	<0,0001	0,0009

Além disso, realizamos uma regressão logística para identificar se a expressão de Ki67 está independentemente associada a fatores prognósticos. Neste resultado, observamos que a expressão de Ki67 foi um fator independentemente associado a recidiva bioquímica ( $p=0,002$ ) e metástase ( $p<0,0001$ ).

Por fim, categorizamos a expressão de Ki67 em sua mediana. Em seguida, realizamos curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier e análise de Cox para analisar se valores acima da mediana estão relacionados a recidiva bioquímica e metástase. Pacientes com menor expressão de Ki67 apresentaram melhor curva de sobrevivência considerando a recidiva bioquímica (Figura 3A,  $p=0,0008$ ). Em relação a metástase, a alta expressão de Ki67 foi associada a pior curva de sobrevivência, mas com p-valor marginal, o que indica uma tendência (Figura 3B,  $p=0,056$ ).

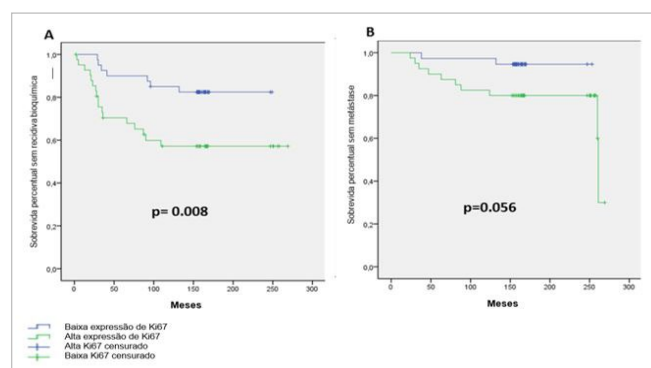
**Tabela 3** - Análise de Cox.

	Recidiva bioquímica		
	Relação de risco	p-valor	IC 95%
PSA	3.475	0,006	1,442-8,378
Ki67	2,62	0,036	1,066-6,438
Estágio	1.469	0,413	0,585-3,693
ISUP	1.032	0,845	0,751-1,418
	Metástase		
	Relação de risco	p-valor	IC 95%
PSA	3.238	0,063	0,936-11,2
Ki67	2.966	0,178	0,61-14,412
Estágio	2.632	0,194	0,612-11,327
ISUP	1.121	0,629	0,704-1,785

## DISCUSSÃO

Normalmente, a detecção precoce do câncer está associada a melhores resultados, mas para pacientes com CP, isso também pode resultar em sobrediagnóstico e sobretratamento, reforçando a necessidade de novos biomarcadores que possam prever a agressividade da doença<sup>13</sup>. Nesse sentido, o uso de marcadores moleculares pode aprimorar a medicina personalizada, melhorando o manejo clínico de pacientes com CP<sup>14</sup>. Neste trabalho, analisamos se a expressão de Ki67, um clássico marcador de proliferação de câncer, pode ser usada para prever a agressividade do CP.

Um estudo recente reavaliou o uso de fatores prognósticos clássicos do CP (escore de Gleason, PSA etc) para o estadiamento da neoplasia e, apesar de demonstrar resultados importantes, apontou como limitação a não utilização de biomarcadores moleculares<sup>15</sup>. A mais recente diretriz da ASCO para biomarcadores moleculares



**Figura 3.** Curvas de Sobrevivência. A: associação entre a expressão de Ki67 e o período sem recidiva bioquímica; B: associação entre a expressão de Ki67 e o período sem metástase.

Em seguida, mostramos que a categorização da expressão de PSA e Ki67 poderia prever a recidiva bioquímica (Tabela 3,  $p=0,006$  e  $p=0,036$ , respectivamente). Nenhuma das variáveis analisadas pode prever metástase com significância estatística.

em câncer de próstata localizado afirma que, embora a expressão de Ki67 possa oferecer informações sobre o diagnóstico/prognóstico da doença, atualmente não há evidências suficientes para apoiar seu uso clínico<sup>16</sup>.

Considerando os níveis de mRNA, analisamos os conjuntos de dados do TCGA e mostramos que a sobre-expressão de Ki67 está associada a tecido maligno e pior sobrevida livre de doença. Isto sugere que a Ki67 tem um papel no início da carcinogênese e na progressão do câncer.

Embora o TCGA já tenha fornecido dados críticos sobre a biogênese do CP, na rotina, os ensaios imuno-histoquímicos são mais acessíveis, pois mostram a expressão proteica do biomarcador e já são utilizados pela maioria dos patologistas<sup>17</sup>. Usando esta técnica, descobrimos que a sobre-expressão de Ki67 está associada a escore ISUP mais alto, doença extraprostática, recidiva bioquímica e metástase. Curiosamente, não encontramos associação entre os níveis de PSA e a expressão de Ki67; alguns autores discutem que, embora o PSA seja importante para o rastreamento da doença, o valor prognóstico dos níveis de PSA é baixo e tem sido associado a uma alta taxa de sobre-diagnóstico/sobretratamento em ensaios clínicos<sup>18-20</sup>. O uso da expressão de Ki67 pode ajudar a discriminar quando o aumento do PSA é clinicamente significativo.

Em uma abordagem mais quantitativa, demonstramos uma correlação positiva entre a expressão de Ki67 e o escore ISUP e a estratificação de risco da doença. Isso é importante porque ambas as classificações são recentes e consideram curvas de sobrevida doença-específica<sup>3,21</sup>. Existe um consenso

entre os urologistas de que a recidiva bioquímica está associada a prognóstico ruim e metástase, com pior evolução do CP (e potencialmente fatal). Mostramos que a regulação positiva de Ki67 é um preditor independente desses dois fatores<sup>22</sup>. Pacientes com alta expressão de Ki67 apresentam as piores curvas de sobrevida em relação a recidiva bioquímica e metástase. Além disso, em nossa coorte, os pacientes com alta expressão de Ki67 tiveram 2,62 vezes mais chances de desenvolver recidiva bioquímica, sugerindo que essa proteína pode ser um preditor de agressividade.

A expressão de Ki67 não mostrou associação com o prognóstico do CP em um estudo relativamente antigo<sup>23</sup>. Apesar disso, estudos mais recentes geralmente concordam que a sobre-expressão de Ki67 está associada ao agravamento da doença. Um artigo mostrou que a expressão de Ki67 prediz recidiva bioquímica e morte por CP<sup>24</sup>. Ademais, um estudo multicêntrico confirmou que a Ki67 é um preditor independente de recidiva bioquímica após prostatectomia radical<sup>25</sup>. Por fim, um artigo com mais de 1.000 peças cirúrgicas de CP concluiu que a alta expressão de Ki67 esteve fortemente associada a maior escore de Gleason, estágio do câncer, invasão da vesícula seminal, extensão extracapsular e maior probabilidade de recidiva da doença<sup>26</sup>.

Em resumo, pelos níveis de mRNA e proteína, mostramos que a sobre-expressão de Ki67 está associada à agressividade do CP. Nossos resultados corroboram observações semelhantes na literatura e, com isso, propomos que o ensaio imuno-histoquímico Ki67 seja incorporado à avaliação prognóstica do câncer de próstata<sup>9,27-30</sup>.

## ABSTRACT

**Introduction:** specialists have an urge for biomarkers that can discriminate indolent prostate cancer from aggressive tumors. Ki67 is a proliferation marker, and its expression is associated with the aggressiveness of several cancers. **Objective:** analyze the expression of Ki67 in prostate cancer samples correlating with the aggressiveness of the disease. **Methods:** Ki67 mRNA levels were determined utilizing data from a TCGA cohort (Tumor(n)=492 and control(n)=52). The protein expression was determined on 94 biopsies from patients by immunohistochemical assay. **Results:** in mRNA, the Ki67 upregulation is associated with cancer tissue ( $p < 0.0001$ ) and worst disease-free survival ( $p = 0.035$ ). The protein upregulation is associated with increase of the ISUP score ( $p < 0.0001$ ), cancer stage ( $p = 0.05$ ), biochemical recurrence ( $p = 0.0006$ ) and metastasis ( $p < 0.0001$ ). We also show a positive correlation between Ki67 expression and ISUP score ( $r = 0.5112$ ,  $p < 0.0001$ ) and disease risk stratification ( $r = 0.3388$ ,  $p = 0.0009$ ). Ki67 expression is a factor independently associated with biochemical recurrence ( $p = 0.002$ ) and metastasis ( $p < 0.0001$ ). Finally, the patients with high Ki67 expression shows better survival regarding biochemical recurrence ( $p = 0.008$ ) and metastasis ( $p = 0.056$ ). Patients with high Ki67 expression are 2.62 times more likely to develop biochemical recurrence ( $p = 0.036$ ). **Conclusion:** Ki67 upregulation is associated with prostate cancer aggressiveness.

**Keywords:** Biomarkers, Tumor, Prognosis, Immunoassay.

## REFERÊNCIAS

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*. 2020;70(1):7-30. doi: 10.3322/caac.21590.
2. Mottet N BJ, Briers E, Bolla M, Cornford P, De Santis M. European Association of Urology Prostate Cancer Guidelines 2020 [Available from: <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-Prostate-Cancer-2015-v2.pdf>]
3. Sanda MG, Cadeddu JA, Kirkby E, Chen RC, Crispino T, Fontanarosa J, et al. Clinically Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline. Part I: Risk Stratification, Shared Decision Making, and Care Options. *J Urol*. 2018;199(3):683-90. doi: 10.1016/j.juro.2017.11.095.
4. Cher ML, Chew K, Rosenau W, Carroll PR. Cellular proliferation in prostatic adenocarcinoma as assessed by bromodeoxyuridine uptake and Ki-67 and PCNA expression. *Prostate*. 1995;26(2):87-93. doi: 10.1002/pros.2990260205.
5. Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM, Hayes MM, Gelmon KA. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol*. 2010;11(2):174-83. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70262-1.
6. Grant L, Banerji S, Murphy L, Dawe DE, Harlos C, Myal Y, et al. Androgen Receptor and Ki67 Expression and Survival Outcomes in Non-small Cell Lung Cancer. *Horm Cancer*. 2018;9(4):288-94. doi: 10.1007/s12672-018-0336-7.
7. He Y, Wang N, Zhou X, Wang J, Ding Z, Chen X, et al. Prognostic value of ki67 in BCG-treated non-muscle invasive bladder cancer: a meta-analysis and systematic review. *BMJ Open*. 2018;8(4):e019635. doi: 10.1136/bmjopen-2017-019635.
8. Böger C, Behrens HM, Röcken C. Ki67--An unsuitable marker of gastric cancer prognosis unmasks intratumoral heterogeneity. *J Surg Oncol*. 2016;113(1):46-54. doi: 10.1002/jso.24104.
9. Lobo J, Rodrigues Â, Antunes L, Graça I, Ramalho-Carvalho J, Vieira FQ, et al. High immunoreexpression of Ki67, EZH2, and SMYD3 in diagnostic prostate biopsies independently predicts outcome in patients with prostate cancer. *Urol Oncol*. 2018;36(4):161.e7-.e17. doi: 10.1016/j.urolonc.2017.10.028.
10. Hayes DF, Allen J, Compton C, Gustavsen G, Leonard DG, McCormack R, et al. Breaking a vicious cycle. *Sci Transl Med*. 2013;5(196):196cm6. doi: 10.1126/scitranslmed.3005950.
11. Tang Z, Li C, Kang B, Gao G, Zhang Z. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. *Nucleic Acids Res*. 2017;45(W1):W98-W102. doi: 10.1093/nar/gkx247.
12. Sanda MG, Cadeddu JA, Kirkby E, Chen RC, Crispino T, Fontanarosa J, et al. Clinically Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline. Part II: Recommended Approaches and Details of Specific Care Options. *J Urol*. 2018;199(4):990-7. doi: 10.1016/j.juro.2018.01.002.
13. Miyamoto DT, Lee RJ, Stott SL, Ting DT, Wittner BS, Ulman M, et al. Androgen receptor signaling in circulating tumor cells as a marker of hormonally responsive prostate cancer. *Cancer Discov*. 2012;2(11):995-1003. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0222.
14. Di Sanzo M, Cipolloni L, Borro M, La Russa R, Santurro A, Scopetti M, et al. Clinical Applications of Personalized Medicine: A New Paradigm and Challenge. *Curr Pharm Biotechnol*. 2017;18(3):194-203. doi: 10.2174/1389201018666170224105600.
15. Dess RT, Suresh K, Zelefsky MJ, Freedland SJ, Mahal BA, Cooperberg MR, et al. Development and Validation of a Clinical Prognostic Stage Group System for Nonmetastatic Prostate Cancer Using Disease-Specific Mortality Results From the International Staging Collaboration for Cancer of the Prostate. *JAMA Oncol*. 2020;6(12):1912-1920. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.4922.
16. Eggener SE, Rumble RB, Armstrong AJ, Morgan TM, Crispino T, Cornford P, et al. Molecular Biomarkers in Localized Prostate Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol*. 2020;38(13):1474-94. doi: 10.1200/JCO.19.02768.
17. Kristiansen G. Markers of clinical utility in the differential diagnosis and prognosis of prostate cancer. *Mod Pathol*. 2018;31(S1):S143-55. doi: 10.1038/modpathol.2017.168.
18. Hugosson J, Carlsson S, Aus G, Bergdahl S, Khatami A, Lodding P, et al. Mortality results from the Göteborg randomised population-based prostate-cancer

- screening trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(8):725-32. doi: 10.1016/S1470-2045(10)70146-7.
19. Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL, Buys SS, Chia D, Church TR, et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med.* 2009;360(13):1310-9. doi: 10.1056/NEJMoa0810696.
  20. Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med.* 2009;360(13):1320-8. doi: 10.1056/NEJMoa0810084.
  21. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA, et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(2):244-52. doi: 10.1097/PAS.0000000000000530.
  22. Artibani W, Porcaro AB, De Marco V, Cerruto MA, Siracusano S. Management of Biochemical Recurrence after Primary Curative Treatment for Prostate Cancer: A Review. *Urol Int.* 2018;100(3):251-62. doi: 10.1159/000481438.
  23. Nariculam J, Freeman A, Bott S, Munson P, Cable N, Brookman-Amis N, et al. Utility of tissue microarrays for profiling prognostic biomarkers in clinically localized prostate cancer: the expression of BCL-2, E-cadherin, Ki-67 and p53 as predictors of biochemical failure after radical prostatectomy with nested control for clinical and pathological risk factors. *Asian J Androl.* 2009;11(1):109-18. doi: 10.1038/aja.2008.22.
  24. Desmeules P, Hovington H, Nguilé-Makao M, Léger C, Caron A, Lacombe L, et al. Comparison of digital image analysis and visual scoring of Ki-67 in prostate cancer prognosis after prostatectomy. *Diagn Pathol.* 2015;10:67. doi: 10.1186/s13000-015-0294-0.
  25. Mathieu R, Shariat SF, Seitz C, Karakiewicz PI, Fajkovic H, Sun M, et al. Multi-institutional validation of the prognostic value of Ki-67 labeling index in patients treated with radical prostatectomy. *World J Urol.* 2015;33(8):1165-71. doi: 10.1007/s00345-014-1421-3.
  26. Tretiakova MS, Wei W, Boyer HD, Newcomb LF, Hawley S, Auman H, et al. Prognostic value of Ki67 in localized prostate carcinoma: a multi-institutional study of >1000 prostatectomies. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2016;19(3):264-70. doi: 10.1038/pcan.2016.12.
  27. Byun SS, Lee M, Hong SK, Lee H. Elevated Ki-67 (MIB-1) expression as an independent predictor for unfavorable pathologic outcomes and biochemical recurrence after radical prostatectomy in patients with localized prostate cancer: A propensity score matched study. *PLoS One.* 2019;14(11):e0224671. doi: 10.1371/journal.pone.0224671.
  28. Fantony JJ, Howard LE, Csizmadi I, Armstrong AJ, Lark AL, Galet C, et al. Is Ki67 prognostic for aggressive prostate cancer? A multicenter real-world study. *Biomark Med.* 2018;12(7):727-36. doi: 10.2217/bmm-2017-0322.
  29. Wilkins AC, Gusterson B, Szijgyarto Z, Haviland J, Griffin C, Stuttle C, et al. Ki67 Is an Independent Predictor of Recurrence in the Largest Randomized Trial of 3 Radiation Fractionation Schedules in Localized Prostate Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2018;101(2):309-15. doi: 10.1016/j.ijrobp.2018.01.072.
  30. Lindsay CR, Le Moulec S, Billiot F, Lorient Y, Ngo-Camus M, Vielh P, et al. Vimentin and Ki67 expression in circulating tumour cells derived from castrate-resistant prostate cancer. *BMC Cancer.* 2016;16:168. doi: 10.1186/s12885-016-2192-6.

Recebido em: 01/10/2021

Aceito para publicação em: 06/04/2022

Conflito de interesses: não.

Fonte de financiamento: nenhuma.

#### Endereço para correspondência:

Gabriel Arantes dos Santos

E-mail: arantes\_gabriel@hotmail.com

