

Glicoproteína CRISP3: um bom biomarcador para câncer de próstata?

CRISP3 glycoprotein: a good biomarker for prostate cancer?

Aparecida de Lourdes Carvalho¹; Sebastião A. Pinto²; Wagner G. dos Santos¹

1. Universidade Federal de Jataí (UFJ), Jataí, Goiás, Brasil. 2. Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil.

RESUMO

Introdução: A proteína CRISP3 é expressa em baixos níveis na próstata humana normal, mas superexpressa no câncer de próstata (CaP). Contudo, sua relevância em pacientes com CaP ainda não está clara. O teste de antígeno específico da próstata (PSA) pode proporcionar interpretações erradas em determinadas circunstâncias, resultando em excesso de tratamento para tumores indolentes. Novos biomarcadores são fundamentais para evitar tratamentos desnecessários e melhorar a qualidade de vida do paciente. **Objetivo:** Avaliar se a expressão de CRISP3 poderia ser um bom biomarcador para CaP. **Métodos:** A expressão de CRISP3 foi determinada por imuno-histoquímica em seções de tecido de CaP de 25 pacientes submetidos a prostatectomia radical. O sistema de classificação Gleason foi utilizado como indicador prognóstico, e o estadiamento foi determinado pelo sistema TNM. Parâmetros clínicos e níveis de PSA antes e pós-cirurgia foram determinados. **Resultados:** A expressão de CRISP3 foi forte em 14 (56%) amostras; moderada em quatro (16%) e fraca em sete (28%). Não houve correlação entre a expressão de CRISP3 e PSA pré e pós-tratamento. Quinze (60%) biópsias de CaP apresentaram extensão do tumor primário pT2. Sete pacientes (28%) mostraram escore de Gleason maior que 7; treze (52%), igual a 7; e cinco (20%), menor que 7. Não houve diferenças estatísticas significativas entre o escore de Gleason e a expressão de CRISP3. **Conclusão:** CRISP3 é expresso no CaP em diferentes níveis. Estudos adicionais são necessários para avaliar se CRISP3 realmente pode ser usado como biomarcador.

Unitermos: antígeno prostático específico; imuno-histoquímica; neoplasias da próstata; prostatectomia; patologia molecular.

ABSTRACT

Introduction: Cysteine-rich secretory protein 3 (CRISP3) is expressed at low levels in normal human prostate but often overexpressed in prostate cancer (PCa). The relevance of this overexpression for the malignancy of PCa is still unclear. The prognostic value of the currently used prostate specific antigen (PSA) test can be misleading under certain circumstances, resulting in overtreatment of indolent tumors. New biomarkers are needed to reduce overtreatment and improve quality of life of men. **Objective:** Evaluate if CRISP3 expression could be a good biomarker for PCa. **Methods:** CRISP3 expression was determined by immunohistochemistry in tissue sections of prostate cancer from twenty-five patients subjected to radical prostatectomy. Gleason grading system was used as prognostic indicator and the staging of PCa was defined using the TNM system. Clinical parameters and PSA levels before and after surgery were determined. **Results:** CRISP3 expression was strong in 14 (56%), moderate in four (16%) and weak in seven (28%) specimens. There was no correlation between the intensity of CRISP3 expression and pre- and post-treatment PSA levels. Fifteen (60%) of PCa biopsies showed extension of the primary tumor pT2. Seven patients (28%) showed Gleason score higher than 7; thirteen (52%) equal to 7, and five (20%) lower than 7. There were no significant statistical differences between Gleason score and CRISP3 expression. **Conclusion:** CRISP3 is expressed in prostate cancer at different levels. Additional studies are required to better evaluate if CRISP3 could be used as a biomarker.

Key words: prostate specific antigen; immunohistochemistry; prostatic neoplasms; prostatectomy; pathology molecular.

RESUMEN

Introducción: La proteína rica en cisteína secretora 3 (CRISP3) se expresa en bajos niveles en la próstata humana normal, pero está mayormente expresada en el cáncer de próstata (CaP). Todavía, su relevancia en pacientes con CaP aún no está clara. La prueba de antígeno prostático específico (PSA) puede generar interpretaciones erróneas bajo ciertas circunstancias, acarreando sobretratamiento de tumores indolentes. Nuevos biomarcadores son fundamentales para evitar tratamientos innecesarios y mejorar la calidad de vida del paciente. **Objetivo:** Evaluar si la expresión de CRISP3 podría ser un buen biomarcador de CaP. **Métodos:** Se determinó la expresión de CRISP3 por inmunohistoquímica en cortes de tejido de CaP de 25 pacientes sometidos a prostatectomía radical. La clasificación Gleason fue utilizada como indicador pronóstico, y la estadificación fue determinada por el sistema TNM. Parámetros clínicos y niveles de PSA antes y después de la cirugía fueron determinados. **Resultados:** La expresión de CRISP3 fue fuerte en 14 (56%) muestras; moderada en cuatro (16%) y débil en siete (28%). No hubo relación entre la expresión de CRISP3 y PSA pre y post-tratamiento. Quince (60%) biopsias de CaP tuvieron extensión del tumor primario pT2. Siete pacientes (28%) demostraron escala de Gleason mayor que 7; trece (52%), igual a 7; y cinco (20%), menor que 7. No hubo diferencias estadísticas significativas entre la escala de Gleason y la expresión de CRISP3. **Conclusión:** CRISP3 se expresa en CaP en diferentes niveles. Se necesitan estudios adicionales para evaluar si CRISP3 puede realmente ser usado como biomarcador.

Palabras clave: antígeno prostático específico; inmunohistoquímica; neoplasias de la próstata; prostatectomía; patología molecular.

INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tipo de câncer mais comum entre homens no mundo e a quinta maior causa de morte⁽¹⁾. Estima-se que 1.356.176 novos casos de CaP sejam reportados em todo o mundo em 2020⁽²⁾. No Brasil, 65.840 novos casos desse tipo de câncer por cem mil habitantes são estimados para o ano de 2020, com aproximadamente 15.391 mortes⁽³⁾.

Embora vários estudos tenham focado em compreender a etiologia do CaP, a patogênese da doença permanece desconhecida⁽⁴⁾. Ao mesmo tempo, fatores genéticos, ambientais, e comportamentais têm sido associados ao risco aumentado de CaP⁽⁵⁾. O CaP pode ter muitas vezes um curso indolente e requerer tratamento mínimo ou nenhum tratamento; no entanto, estágios mais avançados desse câncer podem se tornar metastáticos e, por essa razão, monitoramento, vigilância ativa e cirurgia, quimioterapia e radioterapia são necessários⁽⁶⁾.

A detecção precoce do CaP baseia-se no exame digital retal e na detecção de níveis plasmáticos de antígeno prostático específico elevados [(PSA) > 4 ng/ml]. Entretanto, uma vez que homens sem câncer também podem apresentar PSA elevado, a biópsia do tecido prostático é usada para confirmar o diagnóstico⁽⁷⁻⁹⁾.

Os resultados dessa análise ajudam nos parâmetros prognósticos pré-tratamento que incluem escore de Gleason, avaliação da extensão do tumor, PSA pré-cirúrgico e parâmetros clínicos⁽⁶⁾. Muitos estudos questionam o uso do PSA como biomarcador no diagnóstico

de CaP, bem como o aumento do tratamento radical desnecessário, como radioterapia e prostatectomia^(10,11). Adicionalmente, sempre se enfatizou a necessidade de melhores sistemas para discriminar entre tumores indolentes e agressivos, além da busca por biomarcadores novos e mais confiáveis⁽¹²⁾.

A proteína secretora rica em cisteína 3 (CRISP3) é uma proteína expressa no aparelho reprodutor masculino, onde desempenha um papel na função e fertilização de espermatozoides, e no aparelho reprodutor feminino, onde desempenha um papel na receptividade da implantação embrionária^(13, 14). Demonstrou-se que CRISP3 é capaz de inibir o crescimento de subgrupos de linhagens de células de CaP⁽¹⁵⁾. Além disso, a superexpressão de CRISP3 combinada com a expressão de gene relacionado aos ETS (ERG) e fosfatase homóloga à tensina (PTEN) associa-se ao pior prognóstico, sugerindo-se seu uso como marcador prognóstico para CaP⁽¹⁶⁾. O *knockdown* de CRISP3 em células LNCaP não afetou a viabilidade celular, entretanto causou redução de invasividade⁽¹²⁾. Não obstante, várias controvérsias surgem em relação ao pretensão uso dessa proteína como biomarcador de CaP.

OBJETIVO

Nosso objetivo foi investigar o nível da expressão de CRISP3 em um painel de CaP e tentar correlacionar essa expressão com parâmetros clínicos e patológicos, como valores PSA, escore de Gleason e estadiamento TNM.

MÉTODOS

Amostras teciduais

Vinte cinco biópsias de próstata de pacientes submetidos a prostatectomia radical diagnosticados com adenocarcinoma no período de 2009 a 2013 foram fornecidas ao laboratório de Patologia e Citopatologia do Centro de Prevenção de Jataí, Goiás, Brasil. O protocolo experimental usado neste trabalho foi aprovado pelo comitê ético em pesquisa humana da Universidade Federal de Goiás, número de protocolo 1.500.280.

Preparação e processamento dos tecidos

Exame macroscópico e determinação de tamanho e peso foram feitos nos espécimes cirúrgicos de tecido prostático, vesículas seminais e linfonodos obturadores direitos e esquerdos. Os tecidos foram fixados em formol 10% e cortes de 4-5 mm de espessura foram obtidos com um bisturi descartável Leica. Inclusão e obtenção de cortes de tecidos de próstata em blocos de parafina foram feitos de acordo com protocolo padrão descrito por Michalany (1980)⁽¹⁷⁾. Cortes de 4 µm de espessura foram obtidos usando um micrótomo American Optical 820 e transferidos para lâminas de microscópio Dako Flex IHC. A desparafinização foi realizada a 50°C por 30 min, seguida de reidratação e então os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE) ou submetidos a imuno-histoquímica. As lâminas foram montadas com capas de vidro e examinadas com microscópio óptico Olympus C×21 a 40×, 200× e 400× de magnificação para confirmar a hipótese clínica de acordo com os achados histopatológicos e determinar o escore de Gleason e o estadiamento.

Imuno-histoquímica

A imuno-histoquímica foi realizada em um sistema autostainer Link 48 automatizado Dako, seguindo as instruções do fabricante. O anticorpo policlonal CRISP3 (coelho, Abcam) foi utilizado para a detecção da expressão de CRISP3. A ligação do anticorpo primário foi visualizada usando o *kit* EnVision Dako (Dako, Dinamarca) e a coloração foi avaliada de acordo com dois parâmetros: intensidade da coloração e fração de células tumorais positivas registradas para cada local de tecido. A intensidade foi classificada seguindo um sistema de quatro níveis: sem coloração (0); somente visível em alta magnificação ou coloração fraca (1+); visível em baixa magnificação ou coloração moderada (2+); e coloração acentuada em baixa magnificação ou coloração forte (3+). O escore final construído com base nesses dois parâmetros foi: negativo – ausência de coloração; fraco – intensidade de 1+

em ≤ 70% de células tumorais ou intensidade de coloração de 2+ em ≤ 30% das células tumorais; moderado – intensidade de 1+ em > 70% de células tumorais, ou intensidade de coloração de 2+ em > 30%, mas ≤ 70% de células tumorais ou intensidade de coloração de 3+ em ≤ 30% células tumorais; forte – intensidade de coloração de 2+ em > 70% de células tumorais ou intensidade de coloração de 3+ em > 30% de células tumorais. A análise foi realizada por um patologista qualificado.

Parâmetros químicos

Registros médicos foram usados para avaliar a descrição demográfica e os parâmetros clínicos, tais como níveis de PSA antes e depois da cirurgia, assim como informação histológica das biópsias de prostatectomia.

Análise estatística

Diferenças na expressão de CRISP3 e variáveis clinicopatológicas foram determinadas pelo teste qui-quadrado de Pearson. A associação entre expressão de CRISP3 e níveis de PSA nas mesmas amostras foi analisada pela análise de variância (Anova). Diferenças estatisticamente significativas foram consideradas para um nível de $p < 0,05$.

RESULTADOS

A média de idade dos pacientes analisados foi 65,8 (± 6,5) anos (variação 54-80). A maior parte dos valores de PSA pré-tratamento variou de 4 a 10 ng/ml (36%), seguidos de níveis de PSA entre 10 e 20 ng/ml (24%). Esses valores não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao escore de Gleason (**Tabela 1**). Monitoramentos pós-tratamento variaram de 2-80 meses, com uma média de 30 meses, e a maioria dos pacientes (60%) mostrou valores de PSA abaixo do valor de referência para a recorrência da doença.

Cortes de tecido de todos os 25 pacientes mostraram expressão da proteína CRISP3 determinada por imuno-histoquímica. Catorze (56%) mostraram forte coloração; quatro (16%), coloração moderada; e sete (28%), coloração fraca. A **Figura 1** mostra imagens representativas de tecido prostático com coloração com HE e os parâmetros padronizados usados na classificação da expressão de CRISP3. Não houve correlação entre os níveis de PSA e a intensidade de coloração de CRISP3 em pré ou pós-tratamento ($R = 0,09$, $p = 0,4593$ e $p = 0,4072$, respectivamente) (**Figura 2**).

TABELA 1 – Parâmetros clínicoepidemiológicos de pacientes submetidos a prostatectomia radical no período de 2009 a 2013 analisados neste estudo

Parâmetros clínicoepidemiológicos	n (%)
Idade (anos)	
< 60	5 (20)
60 a 70	15 (60)
> 70	5 (20)
Níveis de PSA pré-tratamento	
< 4	3 (12)
4 a 10	9 (36)
10 a 20	6 (24)
> 20	2 (8)
Níveis de PSA pós-tratamento	
< 0,2	15 (60)
≥ 0,2	7 (28)

PSA: antígeno prostático específico.

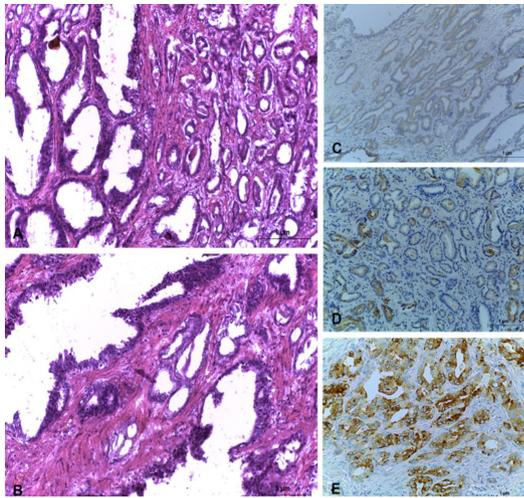


FIGURA 1 – Análise histológica e imuno-histoquímica do tecido de câncer de próstata
A e B) coloração com HE; C) coloração fraca de CRISP3; D) coloração moderada de CRISP3; E) coloração forte de CRISP3.
Magnificação 200x. Fotomicrografia tirada com uma câmera Leica, modelo DS750.
HE: hematoxilina e eosina; CRISP3: proteína secretora rica em cisteína 3.

A análise histológica dos espécimes de tecido mostrou que a maioria 24/25 (96%) foi adenocarcinoma acinar e um foi tipo mucinoso (coloide). Somente oito pacientes (32%) apresentaram comprometimento da vesícula seminal e 12 (48%) mostraram margem cirúrgica positiva. Entre os pacientes prostatectomizados, 13 (52%) tiveram escore de Gleason igual a 7. Para sete (53,3%) desses 13 pacientes, esse escore foi resultado da soma do escore 3 mais 4 (grupo grau 2). O sistema de estadiamento TNM mostrou que 15 (60%) pacientes apresentaram extensão do tumor primário (pT2) (Tabela 2). Não houve diferença significativa entre o nível de expressão de CRISP3 e os parâmetros clinicopatológicos dos pacientes com CaP analisados. Sete pacientes tiveram

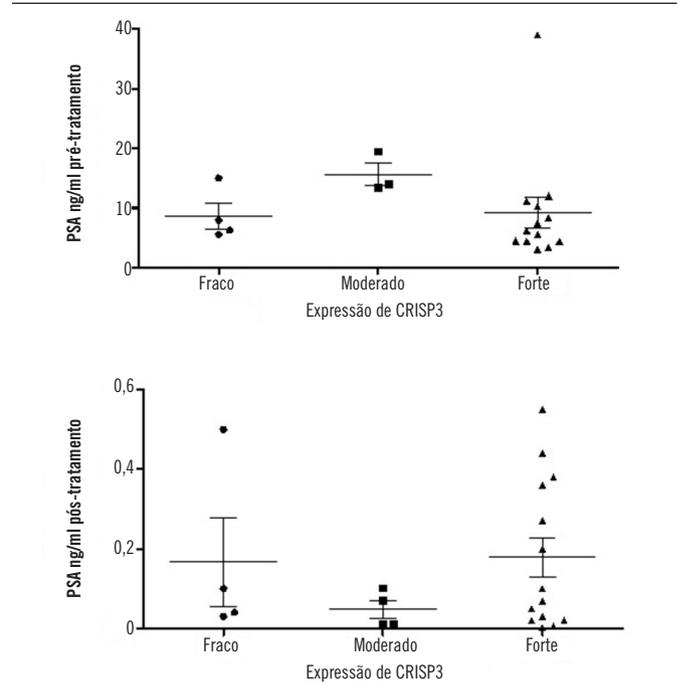


FIGURA 2 – Comparação de níveis de PSA pré e pós-prostatectomia radical com intensidade de expressão de CRISP3 determinada por imuno-histoquímica. Não foram observadas diferenças significativas entre grupos

PSA: antígeno prostático específico; CRISP3: proteína secretora rica em cisteína 3.

TABELA 2 – Parâmetros clinicopatológicos de espécimes de tumor obtidos de pacientes submetidos a prostatectomia radical e associação com a intensidade de coloração positiva de CRISP3

Parâmetros clinicopatológicos	CRISP3				Valor de p
	n (%)	Fraco n (%)	Moderado n (%)	Forte n (%)	
Avaliação histológica					
Acinar usual	24 (96)	6 (25)	4 (16,66)	14 (58,33)	p = 0,7471
Mucinoso (coloide)	1 (4)	1 (100)	0	0	
Invasão da vesícula seminal					
Presente	8 (32)	2 (25)	2 (25)	4 (50)	p = 0,3128
Ausente	19 (76)	5 (29,41)	2 (11,76)	10 (58,83)	
Invasão da borda cirúrgica					
Presente	12 (48)	1 (48)	4 (33,33)	7 (58,4)	p = 0,2896
Ausente	13 (52)	6 (52)	0	7 (58,9)	
Escore de Gleason					
< 7	7 (28)	2 (28,57)	0	5 (71,43)	p = 0,1297
= 7	13 (52)	3 (23,08)	3 (23,08)	7 (53,84)	
3 + 4	6 (24)	1 (16,6)	1 (16,66)	4 (66,66)	
4 + 3	7 (28)	2 (28,57)	2 (28,57)	3 (42,86)	
> 7	5 (20)	2 (40)	1 (20)	2 (40)	
Categoria pT (AJCC)					
pT1	2 (8)	1 (50)	0	1 (50)	p = 0,3852
pT2	15 (60)	4 (26,66)	2 (13,33)	9 (60)	
pT3	7 (28)	2 (28,57)	2 (28,57)	3 (42,86)	
pT4	1 (4)	0	0	1 (100)	

AJCC: American Joint Committee on Cancer 2010.

um escore de Gleason menor que 7; entre eles, dois pacientes (28,57%) mostraram baixa expressão de CRISP3 e cinco (71%), alta expressão. Dos treze pacientes com escore de Gleason igual a 7, três (23,08%) mostraram fraca expressão de CRISP3; três (23,08%), expressão moderada; e sete (53,3%), expressão alta. Cinco pacientes tiveram escore de Gleason maior que 7; entre eles, dois (40%) mostraram expressão fraca de CRISP3; um (20%), expressão moderada; e dois (40%), expressão alta. A análise estatística não mostrou diferenças significativas entre o escore de Gleason e a expressão de CRISP3 nas amostras de CaP analisadas (Tabela 2, **Figura 3**).

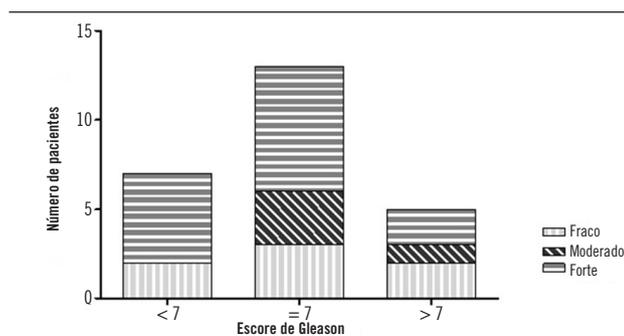


FIGURA 3 – Distribuição de pacientes de acordo com os escores de Gleason e a intensidade de coloração imuno-histoquímica positiva de CRISP3

A análise estatística do teste do qui-quadrado (χ^2) de Pearson foi realizada usando GraphPad Prism versão 5.0. Não foi encontrada diferença significativa considerando $p < 0,05$.

CRISP3: proteína secretora rica em cisteína 3.

DISCUSSÃO

A marcação imuno-histoquímica de CRISP3 em tecido prostático tem sido associada a CaP^(7, 18). Nossos resultados mostraram que todas as amostras de CaP analisadas foram positivas para presença dessa glicoproteína, embora alguns relatos na literatura mostrem taxas de positividade variando entre 19% e 96% no tecido neoplásico da próstata^(8, 9, 19, 20).

A alta positividade de CRISP3 observada no presente estudo não se deveu a possíveis artefatos técnicos, já que os controles apropriados foram usados em cada procedimento de coloração. Além disso, controle interno representado por falta de coloração em tecido epitelial normal adjacente ao tumor foi evidente em cada corte de tecido analisado. O anticorpo usado em nosso estudo foi capaz de detectar CRISP3 em um bom nível de sensibilidade. A marcação positiva de células de câncer sugere a possibilidade de usar CRISP3 como biomarcador diagnóstico para CaP. Entretanto, o nível de expressão não poderia estar associado com a agressividade do tumor neste estudo provavelmente devido ao pequeno número

de pacientes analisado. Curiosamente, Volpert *et al.* (2018)⁽²¹⁾ demonstraram que CRISP3 pode induzir migração e invasão de células de CaP *in vitro*. A deleção do gene de codificação de CRISP3 atrasou a transição de neoplasia intraepitelial prostática a carcinoma *in situ* bloqueando a transição para a doença invasiva.

Adicionalmente, os resultados mostrados aqui não são suficientes para fundamentar a hipótese de que CRISP3 pode ser utilizado para diferenciar tumores metastáticos e indolentes. Estudos adicionais, incluindo um grande estudo de coorte compreendendo tipos agressivos e indolentes de CaP são necessários. Apesar disso, a detecção da expressão de CRISP3 pode ser uma ferramenta adicional na vigilância ativa, já que pode ajudar na avaliação do tecido tumoral, especialmente no momento da biópsia de agulha e na hora de escolher o melhor tratamento, considerando a situação clinicopatológica de cada paciente⁽²²⁾. Isso evitaria que pacientes se expusessem a tratamentos radicais desnecessários, como a prostatectomia, o que pode resultar em sérios efeitos colaterais como incontinência urinária, disfunção erétil e morbidade associada a anestesia e complicações cirúrgicas^(23, 24). Zhang *et al.* (2016)⁽²⁵⁾, com o objetivo de identificar potenciais biomarcadores para diagnóstico acurado de CaP, demonstraram que um painel de três proteínas, incluindo CRISP3 urinária, além de PF4V1 sérica e PSA, foi capaz de identificar CaP de hiperplasia benigna de próstata (HBP). Esse painel mostrou maior habilidade discriminatória que PSA isoladamente.

Nas últimas décadas, a neoplasia de próstata tem sido diagnosticada mais cedo graças às recomendações de rastreio aumentadas da doença com base no exame de sangue PSA. Desse modo, a detecção de tumores latentes que podem nunca progredir para um fenótipo agressivo também aumentaram significativamente. Portanto, aumentou o diagnóstico e o tratamento de homens que não necessariamente precisariam ser tratados já que não têm doença letal, mas por outro lado sofrem os efeitos colaterais e a piora na qualidade de vida⁽⁴⁾. Por essas razões, há uma necessidade urgente de um sistema de avaliação de risco que incorpore novos biomarcadores para melhor determinar o risco de recorrência e ajudar pacientes a tomar decisões informadas sobre o tratamento.

Há controvérsia sobre o uso do teste sanguíneo PSA para diagnosticar CaP em homens sem sintomas da doença. Entretanto, o teste PSA é útil para detectar o CaP em estágio inicial, particularmente em homens com muitos fatores de risco associados. Em contrapartida, o resultado desse teste pode indicar outras condições que não câncer em adição a cânceres de crescimento muito lento que não seriam uma ameaça à vida desses homens. Portanto, a triagem por PSA às vezes pode fazer

homens decidirem por cirurgia e outros tratamentos que podem não ser necessários⁽¹¹⁾. Nesse contexto, um novo biomarcador que diferenciaria CaP de crescimento lento de tumores metastáticos agressivos seria de grande interesse. Valores de PSA pré e pós-tratamento não se correlacionaram diretamente com a expressão de CRISP3 no nosso estudo. Entretanto, Noh *et al.* (2016)⁽²⁶⁾ demonstraram que a alta expressão de CRISP3 associada à baixa expressão de PTEN, uma proteína supressora de tumor, caracteriza um subgrupo de pacientes com prognóstico ruim para recorrência bioquímica. Também foi mostrado que CRISP3 é capaz de regular a expressão de PSA, assim como genes relacionados com invasão celular. Ademais, tem sido demonstrado que o gene promotor *CRISP3* é epigeneticamente regulado pelo receptor androgênico⁽¹²⁾. Sabe-se que diferenciação e função prostática, assim como CaP, são dependentes de receptor androgênico. Assim, melhor compreensão da interação entre receptor de androgênio e CRISP3 poderia jogar luz sobre o papel de CRISP3 na progressão e malignidade de CaP.

Finalmente, embora CRISP3 seja altamente expressa em tecido prostático neoplásico, estudos adicionais ainda precisam ser realizados antes que ela seja usada como biomarcador no diagnóstico de CaP, tanto isoladamente como com outras proteínas. De modo alternativo, CRISP3 poderia ser uma ferramenta de vigilância ativa para ajudar na triagem de CaP se for provado que níveis de expressão podem diferenciar entre tumor indolente e agressivo.

CONCLUSÃO

A proteína CRISP3 é expressa em CaP, mas nossos dados não são capazes de fundamentar seu uso como biomarcador de estratificação de pacientes com CaP indolente e agressivo. Estudos adicionais com um grupo maior de pacientes precisam ser realizados para melhor avaliar seu valor prognóstico como marcador.

REFERÊNCIAS

1. Rawla P. Epidemiology of prostate cancer. *World J Oncol.* 2019; 10(2): 63-89.
2. Ferlay JEM, Lam F, Colombet M, et al. Global cancer observatory: cancer tomorrow. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer [Internet]. 2018. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/tomorrow>. [Acessado em: 28 mar 2020].
3. Inca-Instituto Nacional de Câncer. Estimativa de câncer no Brasil, 2020 [Internet]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>. [Acessado em: 28 mar 2020].
4. Benedettini E, Nguyen P, Loda M. The pathogenesis of prostate cancer: from molecular to metabolic alterations. *Diag Histopathol.* 2008; 14(5): 195-201.
5. Sierra MS, Soerjomataram I, Forman D. Etiology of prostate cancer (C61) in Central and South America. In: *Cancer in Central and South America*. Lyon: International Agency for Research on Cancer [Internet]. 2016. Disponível em: http://www-dep.iarc.fr/CSU_resources.htm. [Acessado em: 28 mar 2020].
6. Grupp K, Kohl S, Sirma H, et al. Cysteine-rich secretory protein 3 overexpression is linked to a subset of PTEN-deleted ERG fusion-positive prostate cancers with early biochemical recurrence. *Mod Pathol.* 2013; 26: 733-42.
7. Kosari F, Asmann YMW, Cheville JC, Vasmatzis G. Cysteine-rich secretory protein-3: a potential biomarker for prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 1419-26.
8. Bjartell A, Johansson R, Bjork T, et al. Immunohistochemical detection of cysteine-rich secretory protein 3 in tissue and in serum from men with cancer or benign enlargement of the prostate gland. *Prostate.* 2006; 66: 591-603.
9. Bjartell A, Al-Ahmadie H, Serio AM, et al. Association of cysteine-rich secretory protein 3 and beta-microseminoprotein with outcome after radical prostatectomy. *Clin Cancer Res.* 2007; 13: 4130-38.
10. Qaseem A, Barry MJ, Denberg TD, et al. Screening for prostate cancer: a guidance statement from the Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians. *Ann Intern Med.* 2013; 158: 761.
11. Sohn E. Screening: diagnostic dilemma. *Nature.* 2015; 528: S120-22. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/528S120a>.
12. Pathak BR, Breed AA, Apte S, Acharrya K, Mahale SD. Cysteine-rich secretory protein 3 plays a role in prostate cancer cell invasion and affects expression of PSA and ANXA1. *Mol Cell Biochem.* 2016; 411: 11-21.
13. Volpert M, Mangum JE, Jamsai D, D'Sylva R, O'Bryan MK, McIntyre P. Eukaryotic expression, purification and structure/function analysis of native, recombinant CRISP3 from human and mouse. *Scientific Rep.* 2014; 4: 4217. doi: 10.1038/srep04217.
14. Da Ros VG, Muñoz MW, Battistone MA, et al. From the epididymis to the egg: participation of CRISP proteins in mammalian fertilization. *Asian J Androl.* 2015; 17(5): 711-15. doi: 10.4103/1008-682X.155769.

15. Eynde AV, Litovkin K, Bollen M. Growth Inhibition properties of the putative prostate cancer biomarkers PSP94 and CRISP3. *Asian J Androl.* 2011; 13: 205-6.
16. Al Bashir S, Alshalalfa M, Hegazy SA, Dolph M, Donnelly B, Bismar TA. Cysteine-rich secretory protein 3 (CRISP3), ERG and PTEN define a molecular subtype of prostate cancer with implication to patients' prognosis. *J Hematol Oncol.* 2014; 7: 21. doi:10.1186/1756-8722-7-21.
17. Michalany J. Técnica histológica em anatomia patológica. São Paulo, EPU Brazil. 1980; 276.
18. Asmann YW, Kosari F, Wang K, Cheville JC, Vasmtzis G. Identification of differentially expressed genes in normal and malignant prostate by electronic profiling of expressed sequence tags. *Cancer Res.* 2002; 62: 3308-14.
19. Ernst T, Hergenbahn M, Kenzelmann M, et al. Decrease and gain of gene expression are equally discriminatory markers for prostate carcinoma: a gene expression analysis on total and microdissected prostate tissue. *Am J Pathol.* 2002; 160: 2169-80.
20. Dahlman A, Rexhepaj E, Brennan DJ, et al. Evaluation of the prognostic significance of MSMB and CRISP 3 in prostate cancer using automated image analysis. *Mod Pathol.* 2011; 24: 708-19.
21. Volpert M, Hu J, Rebello R, O'Bryan M, Furic L. Cysteine-rich-secretory protein 3 regulates progression from in situ to invasive prostate cancer. *ESMO Open.* 2018; 3(Suppl 2): A1-A463.
22. Hoogland AM, Dahlman A, Vissers KJ, et al. Cysteine-rich secretory protein 3 and β -microseminoprotein prostate cancer needle biopsies do not have predictive value for subsequent prostatectomy outcome. *BJU International.* 2011; 108: 1356-62.
23. Stanford JL, Feng Z, Hamilton AS, et al. Urinary and sexual function after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: the prostate cancer outcomes study. *JAMA.* 2000; 283(3): 354-60. doi:10.1001/jama.283.3.354.
24. Gomes CR, Eduardo AH, Mosteiro-Diaz MP, Pérez-Paniagua J, Napoleão AA. Nursing interventions for urinary incontinence and sexual dysfunction after radical prostatectomy. *Acta Paul Enferm.* 2019; 32(1): 106-12.
25. Zhang M, Chen L, Yuan Z, et al. Combined serum and EPS-urine proteomic analysis using iTRAQ technology for discovery of potential prostate cancer biomarkers. *Discov Med.* 2016; 22(122): 281-95.
26. Noh BJ, Sung JY, Kim YW, Chang SG, Park YK. Prognostic value of ERG, PTEN, CRISP3 and SPINK1 in predicting biochemical recurrence in prostate cancer. *Oncol Lett.* 2016; 11(6): 3621-30.

AUTOR CORRESPONDENTE

Wagner Gouvea dos Santos  0000-0001-9110-6350
e-mail: wagner_santos@ufg.br



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.