



# CARACTERIZAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO NO CÂNCER DE BEXIGA URINÁRIA NÃO-MÚSCULO INVASIVO

**Palavras-Chave:** Câncer de bexiga urinária; Fosforilação oxidativa; Glicólise; Metabolismo Energético

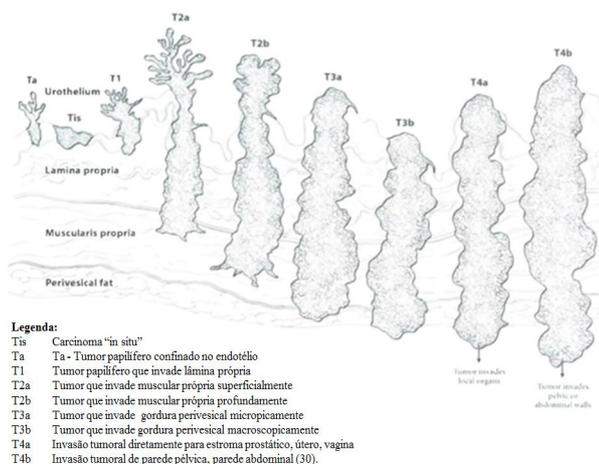
Fernanda Oliveira Demarchi – PUC Campinas

Dr. Wagner Eduardo Matheus – FCM – UNICAMP

Prof. Dr. Ubirajara Ferreira – FCM – UNICAMP

## INTRODUÇÃO:

Os carcinomas de bexiga (CB) são a segunda neoplasia mais comum do trato urinário, ocorrendo mais comumente em idosos e mais frequentemente em homens, representando 7% de todos os tumores e 4% de todas as mortes por câncer nos homens. O subtipo histológico mais comum



**Legenda:**  
Tis Carcinoma "in situ"  
Ta Tumor papilífero confinado no endotélio  
T1 Tumor papilífero que invade lâmina própria  
T2a Tumor que invade muscular própria superficialmente  
T2b Tumor que invade muscular própria profundamente  
T3a Tumor que invade gordura perivesical micropscopicamente  
T3b Tumor que invade gordura perivesical macroscopicamente  
T4a Invasão tumoral diretamente para estroma prostático, útero, vagina  
T4b Invasão tumoral de parede pélvica, parede abdominal (30).

Figura 1: Estadiamento Tumoral (30).

é o carcinoma de células transicionais, representando 90% dos casos e, ao diagnóstico, aproximadamente 70% dos CB são superficiais, ou seja, tumores não músculo invasivos (CBNMI). Esse tipo de tumor pode ser dividido em pTa de baixo grau, pTa de alto grau e pT1, que seria o mais agressivo dentre os demais. Os tumores de baixo grau recorrem em 50-70% e progredem em somente 5% dos casos, diferentemente dos T1 de alto grau que recorrem em mais de 80% e progredem em 50% nos primeiros 3 anos.

O comportamento biológico dos CB de baixo e alto grau são muito distintos, alterações cromossômicas causadas por oxidação nas cadeias de DNA, oncogenes e genes supressores tumorais, geram diferenças entre eles. O

CB de baixo grau tem uma tendência a ser superficial, papilífero e indolente, já o de alto grau tende a recorrer e progredir para músculo invasivo.

Tendo isso em vista é possível dizer que as células neoplásicas enfrentam dois grandes desafios: atender as demandas bioenergéticas e biossintéticas do crescimento e proliferação celulares aumentados, e empreender estratégias de adaptação metabólica para sobreviver a flutuações ambientais de disponibilidade de nutrientes e oxigênio quando o crescimento tumoral ultrapassa a capacidade de abastecimento da vascularização existente.

Esses fatos tornam o estudo da associação do CBNMI com o metabolismo energético de especial relevância, já que se enquadra como um dos cânceres mais prevalentes na população masculina e, uma vez que o paciente é diagnosticado e tratado, tem boas taxas de sobrevivência.

## METODOLOGIA:

No trabalho foram utilizadas 15 amostras de tecido da bexiga urinaria de pacientes com idade entre 60 a 90 que possuíam diagnóstico de lesões uroteliais, obtidas no Serviço de Urologia do Hospital Amaral Carvalho de Jaú-SP. Uma amostra vesical proveniente de necropsia de paciente sem diagnóstico de lesão urotelial e/ou doença urológica foi utilizada para caracterização da morfologia vesical normal. Contudo não foi possível obter amostras suficientes para realização das técnicas de imunohistoquímica e Western Blotting. Os pacientes com tumor de bexiga foram divididos em 3 grupos: Grupo Não-Músculo Invasivo pTa baixo grau (5 amostras); Grupo Não-Músculo Invasivo pTa alto grau (5 amostras) e Grupo Não- Músculo Invasivo pT1 (5 amostras).

As amostras foram obtidas no Serviço de Urologia do Hospital Amaral Carvalho de Jaú-SP e analisadas no Laboratório do Hospital das Clínicas da UNICAMP. Com essa finalidade, as amostras foram submetidas a análises histopatológicas, imunohistoquímicas e Western-Blotting. Para avaliar os parâmetros quantificados nas análises imunohistoquímicas foi empregado o teste de proporção, sendo o erro tipo-I de 1% (fraca imunorreatividade) considerado significativo e, para a análise estatística de Western Blotting foi empregada a variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey post hoc com nível de significância também de 1%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os resultados das amostras foram divididos com base no grau do carcinoma, suas vias metabólicas e pelo índice bioenergético celular (IBEC). Os CBNMI pTa de baixo grau apresentaram metabolismo energético com predomínio da Via de Fosforilação Oxidativa com imunorreatividade mais intensa para  $\beta$ -F1-ATPase, HADHSC e PDH e para CS quando comparados aos outros grupos carcinomatosos. Em contrapartida, os CBNMI pTa de alto grau e os pT1 apresentaram metabolismo energético com predomínio da Via Glicolítica. Entre eles, o Carcinoma pTa de alto grau apresentou intensa imunorreatividade para o GLUT1 e GAPDH enquanto o Carcinoma pT1 revelou moderada imunorreatividade à essas proteínas. No que diz respeito a PFK e proteína LDH, ambos demonstraram intensa imunorreatividade. Além disso, foi observado uma diminuição da atividade da AMPK nos tumores de alto grau em relação aos tumores de baixo grau.

Pacientes	
Total No. (n)	15
Homem/mulher	9/6
Idade (anos) (mediana)	63,4 (42-86)
Estadio Tumoral	
pTa baixo grau	5/15 (33,3)
pTa alto grau	5/15 (33,3)
pT1	5/15 (33,3)
Controle	
Total No. (n)	1
Homem/mulher	1/0
Idade (anos)	72

Figura 2: Características clínicas e demográficas da amostra

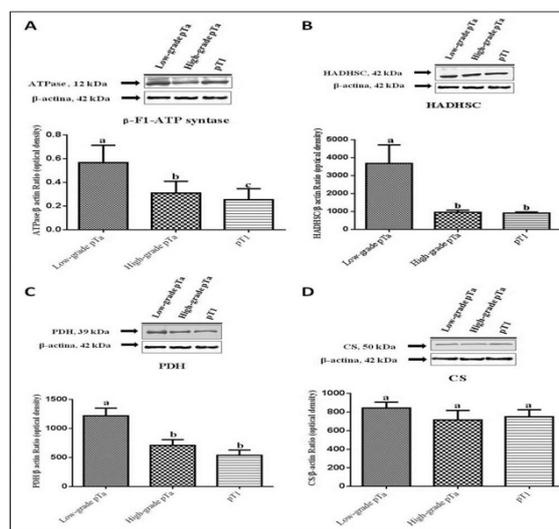


Figura 3 : Western Blotting representativa e determinação semi-quantitativa dos níveis proteicos de  $\beta$ -F1-ATPase (A), HADHSC (B), PDH (C) e CS (D). Os dados foram expressos como média desvio padrão. Letras minúsculas indicam diferenças dos grupos com teste Tukey. Via oxidativa.

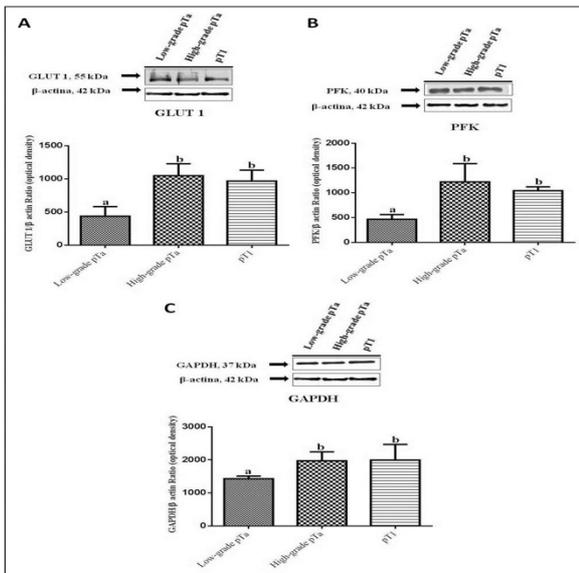


Figura 4: Western Blotting representativa e determinação semiquantitativa para os níveis proteicos de GLUT 1 (A), PKF (B) e GAPDH (C). Os dados foram expressos como média desvio padrão. Letras minúsculas indicam diferenças dos grupos com teste Turkey. Via Glicolítica.

Considerando o índice bioenergético celular, constatou-se que os tumores de baixo grau apresentam IBEC maior em relação aos tumores de alto grau (pTa alto grau e pT1), nos quais foi evidente o predomínio da via glicolítica. O IBEC também apresentou resultados que mostram sua correlação com o tamanho do tumor (IBEC menor em tumores grandes) e com o estadiamento tumoral (tumores IA com IBEC maior que os tumores IB).

Uma vez evidenciado que as células do Carcinoma de baixo grau funcionam a partir do metabolismo pela Via de Fosforilação Oxidativa com IBEC alto, pode-se comprovar o bom prognóstico desses tumores, visto que eles têm metabolismo típico de células normais, não apresentando desvio metabólico para gerar outros substratos e com possibilidade de metabolização em ambientes com níveis normais de oxigênio. Contudo, os resultados obtidos pela análise das amostras dos tumores de alto grau demonstraram que, além de terem metabolismo pela Via Glicolítica, (a

mais utilizada pelas neoplasias malignas) também têm IBEC baixo, o que aponta grande mudança do metabolismo energético normal e ratificam sua maior agressividade. Além disso, a baixa atividade da AMPK, principalmente nos pTa de alto grau, acarreta um não controle metabólico, fazendo com que as células malignas continuem se desenvolvendo.

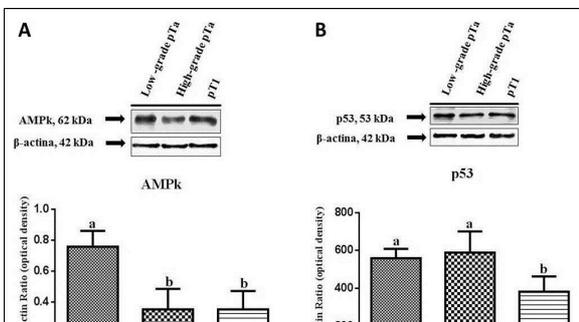


Figura 5: Western Blotting representativa e determinação semiquantitativa para os níveis proteicos de AMPK e p53. Os dados foram expressos como média desvio padrão. Letras minúsculas indicam diferenças dos grupos com teste Turkey. Os aumentos dos níveis de AMPK e P53 no pTa de baixo grau se correlacionam com a Via de Fosforilação Oxidativa.

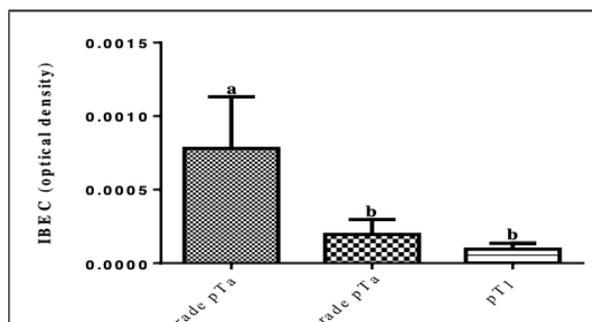


Figura 6: Índice Bioenergético Celular dos Grupos: Carcinoma pTa de baixo grau, Carcinoma pTa de alto grau e Carcinoma pT1. IBEC como indicador de Progressão Tumoral.

## CONCLUSÕES:

O presente estudo não só determinou a criação do IBEC para os tumores de bexiga não músculo invasivo, como também demonstrou concordância com a literatura, onde os tumores mais indiferenciados têm tendência a utilizar a via glicolítica para gerar energia e substratos para seus diferentes objetivos. Além disso, é importante analisar a expressão de AMPK, principalmente nos

pacientes de tumores pTa de alto grau, informação que pode ser útil no manejo clínico dos pacientes com câncer de bexiga.

Desta forma, o estudo possibilitou a criação do IBEC para os tumores de bexiga não músculo invasivos, tornando-o mais um instrumento na condução desses casos, uma vez que os atuais tratamentos demonstram ser agressivos e muitas vezes mutilantes.

## BIBLIOGRAFIA

1. M. Babjuk (Chair), M. Burger (Vice-Chair), E. Compérat, P. Gontero, A.H. Mostafid, J. Palou, et al. EAU Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1 and CIS). European Association of Urology. 2017:47.
2. Overview: bladder cancer. In: What are the key statistics about bladder cancer? [Internet]. AMERICAN CANCER SOCIETY. [cited 25/10/2017, às 19:30h.]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/bladder-cancer/about/key-statistics.html>.
3. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. CA Cancer J Clin. 2013;63(1):11-30.
4. Zheng J. Energy metabolism of cancer: Glycolysis versus oxidative phosphorylation (Review). Oncol Lett. 2012;4(6):1151-7.
5. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures [Internet]. AMERICAN CANCER SOCIETY. 2017 [cited 27/10/2017 às 20:30h.]. Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2017/cancer-facts-and-figures-2017.pdf>.
6. Estimativa 2016: Incidência de Câncer no Brasil Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva - Rio de Janeiro: INCA [Internet]. Ministério da Saúde. 2015 [cited 10/10/2017 às 20:00h.]. Available from: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/index.asp?ID=2>.
7. Lopez-Beltran A. Bladder cancer: clinical and pathological profile. Scand J Urol Nephrol Suppl. 2008(218):95-109.
8. Ro JY, Staerckel GA, Ayala AG. Cytologic and histologic features of superficial bladder cancer. Urol Clin North Am. 1992;19(3):435-53.
9. Donat SM. Evaluation and follow-up strategies for superficial bladder cancer. Urol Clin North Am. 2003;30(4):765-76.
10. Sylvester RJ, van der Meijden A, Witjes JA, Jakse G, Nonomura N, Cheng C, et al. High-grade Ta urothelial carcinoma and carcinoma in situ of the bladder. Urology. 2005;66(6 Suppl 1):90-107.
11. Millan-Rodriguez F, Chechile-Toniolo G, Salvador-Bayarri J, Palou J, Vicente-Rodriguez J. Multivariate analysis of the prognostic factors of primary superficial bladder cancer. J Urol. 2000;163(1):73-8.
12. Comperat E, Varinot J. Immunochemical and molecular assessment of urothelial neoplasms and aspects of the 2016 World Health Organization classification. Histopathology. 2016;69(5):717-26.
13. Herr HW. Tumor progression and survival of patients with high grade, noninvasive papillary (TaG3) bladder tumors: 15-year outcome. J Urol. 2000;163(1):60-1; discussion 1-2.

14. Humphrey PA, Moch H, Cubilla AL, Ulbright TM, Reuter VE. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol.* 2016;70(1):106-19.
15. Cote RJ, Chatterjee SJ. Molecular determinants of outcome in bladder cancer. *Cancer J Sci Am.* 1999;5(1):2-15.
16. Richter J, Jiang F, Gorog JP, Sartorius G, Egenter C, Gasser TC, et al. Marked genetic differences between stage pTa and stage pT1 papillary bladder cancer detected by comparative genomic hybridization. *Cancer Res.* 1997;57(14):2860-4.
17. Althausen AF, Prout GR, Jr., Daly JJ. Non-invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J Urol.* 1976;116(5):575-80.
18. Kunju LP, You L, Zhang Y, Daignault S, Montie JE, Lee CT. Lymphovascular invasion of urothelial cancer in matched transurethral bladder tumor resection and radical cystectomy specimens. *J Urol.* 2008;180(5):1928-32; discussion 32.
19. Lotan Y, Gupta A, Shariat SF, Palapattu GS, Vazina A, Karakiewicz PI, et al. Lymphovascular invasion is independently associated with overall survival, cause-specific survival, and local and distant recurrence in patients with negative lymph nodes at radical cystectomy. *J Clin Oncol.* 2005;23(27):6533-9.
20. Zeegers MP, Tan FE, Dorant E, van Den Brandt PA. The impact of characteristics of cigarette smoking on urinary tract cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *Cancer.* 2000;89(3):630-9.