

**Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar
Universidade do Porto**

Centro Hospitalar do Porto

**Imunoexpressão dos Transportadores da Glicose GLUT-1 e GLUT-2 no Adenocarcinoma
do Cólon e Recto e Sua Correlação com a Clínica e o Prognóstico**

Margarida Maria Cardoso da Costa Barreto Caldas¹
Mestrado Integrado em Medicina

Orientador: Professor Doutor Carlos Alberto da Silva Lopes

¹ Endereço: Rua da Venezuela 276, 5º esq
4150 – 743 Porto
Portugal

2008/2009

Resumo

Introdução e objectivos: O adenocarcinoma do cólon é uma neoplasia de elevada incidência mundial. O estadio TNM tem valor prognóstico, existindo, no entanto, importante heterogeneidade prognóstica entre doentes no mesmo estadio. Pretende-se caracterizar a população de doentes submetidos a cirurgia por adenocarcinoma colorectal no Centro Hospitalar do Porto (CHP), identificar doentes que poderão representar formas hereditárias ou familiares da doença e determinar se a expressão dos transportadores de glicose GLUT-1 e GLUT-2 é significativamente diferente entre tecido normal, displásico e neoplásico.

Métodos: Foram seleccionados doentes submetidos a cirurgia por adenocarcinoma colorectal no CHP entre 01/08/2007 e 26/01/2009 e para os quais se obteve material patológico. Foi feita análise retrospectiva do processo clínico electrónico e obtidas amostras de tecido normal, displásico e neoplásico, que foram coradas por imunohistoquímica para os transportadores GLUT-1 e GLUT-2.

Resultados: Foram estudados 51 doentes e 144 amostras de tecido. A média de idades dos doentes foi de 65 anos e 10 meses. Através de critérios clínicos e demográficos identificaram-se 4 doentes que poderão representar neoplasias hereditárias ou de predisposição familiar. Verificou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0.0001$) na expressão de GLUT-1 entre tecido normal e displásico e entre tecido normal e neoplásico. Para o GLUT-2, observou-se diferença de expressão estatisticamente significativa ($p < 0.0001$) entre tecido normal e displásico, entre normal e neoplásico e entre displásico e neoplásico.

Conclusões: A expressão de GLUT-1 e o GLUT-2 correlaciona-se com a histologia do tecido estudado e aumenta na transição para a malignidade.

Introdução

O adenocarcinoma do cólon é uma neoplasia de elevada incidência a nível mundial e que representa cerca de 98% dos tumores do cólon¹. A Organização Mundial de Saúde estima que surjam cerca de 940 000 novos casos de cancro colo-rectal por ano em todo o mundo e que destes resultem cerca de 500 000 mortes. Em Portugal, é o segundo tumor mais frequente no sexo feminino e o terceiro mais frequente no sexo masculino². Em 2001, a incidência bruta de tumores do cólon a nível nacional foi de 32/100 000 e a de tumores do recto de 19,5/100 000.

Cinco anos após o diagnóstico, a sobrevida global do cancro do cólon é de cerca de 60%³. O sistema TNM ("Tumor, node, metastasis")⁴ permite estratificar os doentes em classes de diferente prognóstico com base em critérios clínicos e patológicos. Existem, no entanto, diferenças na sobrevida de doentes dentro da mesma classe; daí a necessidade de encontrar novos marcadores que permitam estratificar os doentes em grupos de prognóstico mais homogéneo, reflectindo o comportamento biológico do tumor. A identificação destes marcadores pode ainda revelar potenciais alvos terapêuticos.

Os tecidos neoplásicos caracterizam-se por uma tendência inerente para a utilização de vias metabólicas anaeróbias (fenómeno de Warburg)⁵. De forma consistente com esta hipótese, estão descritos na literatura um aumento da expressão do transportador com alta afinidade para a glicose GLUT1 e uma diminuição da expressão do transportador com baixa afinidade para a glicose GLUT-2^{6,7} na transição de tecido normal para tecido neoplásico, ao longo da sequência adenoma-carcinoma. Foi também demonstrado o valor prognóstico da expressão do GLUT-1 no adenocarcinoma do cólon^{5,8} e noutras neoplasias⁹.

Com este trabalho, pretendeu-se caracterizar a população de doentes submetidos a cirurgia no Centro Hospitalar do Porto (CHP) por adenocarcinomas do cólon e do recto, tanto do

ponto de vista demográfico e clínico como do ponto de vista patológico e comparar os resultados obtidos com os que estão descritos na literatura.

A nível molecular, pretendeu-se caracterizar por imunocitoquímica o perfil de expressão dos transportadores GLUT-1 e GLUT-2 num conjunto de amostras de tecido normal, displásico e neoplásico obtidas a partir da série estudada e determinar se existe correlação entre o diagnóstico histopatológico da amostra e a imunoexpressão destes marcadores.

A partir das características clínicas e demográficas da população, foi possível identificar dentro da série estudada casos de adenocarcinoma do cólon que poderão corresponder a formas hereditárias ou de predisposição familiar da doença, nomeadamente síndrome de Lynch (hereditary nonpolyposis colon cancer – HNPCC)¹⁰. Pretendeu-se determinar a proporção que representam dentro do número total de casos da série e estudar as características anátomo-clínicas desta população particular.

Material e métodos

Doentes e dados clínicos

Foram seleccionados todos os doentes com diagnóstico de adenocarcinoma do cólon ou do recto consecutivamente submetidos a cirurgia no CHP entre 01/08/2007 e 26/01/2009. Destes, obteve-se material patológico a partir do arquivo do Serviço de Anatomia Patológica para 51 casos.

Foi feita análise retrospectiva do processo clínico electrónico através da revisão dos relatórios de Anatomia Patológica e de colonoscopia pré-operatória com base em características demográficas, clínicas e patológicas.

Histologia e imunohistoquímica

Todos os casos incluídos no estudo possuíam diagnóstico histopatológico segundos os critérios da O. M. S. (2000)¹¹ e estadiamento patológico segundo o sistema TNM (2002) do American Joint Committee on Cancer (AJCC) e da International Union Against Cancer (UICC)⁴, realizados por anátomo-patologistas do Serviço de Anatomia Patológica do CHP.

As lâminas existentes para cada caso foram revistas de modo a seleccionar os blocos e locais de amostragem mais adequados para a construção de tissue microarrays (TMA). De cada caso obtiveram-se entre 1 a 6 amostras (média 2,8; moda 2).

Os TMA foram construídos por um método semiautomático: o bloco receptor foi obtido a partir de um molde (figura 1) e as amostras de tecido foram transferidas dos blocos dadores para o receptor por meio de uma agulha de 2 mm de diâmetro (figura 2). Obtiveram-se 7 TMA, com capacidade para 24 amostras cada um (figura 3).



Figura 1 (à esquerda, acima)
– Molde para o bloco receptor do TMA

Figura 2 (à esquerda, abaixo)
– Agulha para transferência de amostras de tecido

Figura 3 (à direita)
– Blocos receptores de TMA completos

Os blocos foram depois cortados e as lâminas obtidas coradas por hemalúmen-eosina (figura 4) e por imunohistoquímica segundo as técnicas utilizadas no Serviço de Anatomia Patológica do CHP. A tabela I enumera os anticorpos utilizados no estudo imunohistoquímico, a sua diluição, o tempo de incubação e os métodos de recuperação antigénica e de detecção.

Anticorpo	Clone	Origem	Diluição	Tempo de incubação	Recuperação antigénica	Método de detecção
GLUT-1	Policlonal	Abcam	1:200	60 minutos	Tampão citrato pH 6.0 20min em microondas	Streptavidina HRP - POLYVALENT
GLUT-2	Policlonal	Abcam	1:100	60 minutos	Tampão citrato pH 6.0 20min em microondas	Streptavidina HRP - POLYVALENT

Tabela I – Características dos anticorpos utilizados

O diagnóstico histopatológico de todas as amostras foi revisto pelo mesmo anátomo-patologista segundo os critérios da O. M. S. (2000)¹¹ e as amostras classificadas em normal, displasia de baixo grau, displasia de alto grau, adenocarcinoma de grau 1, adenocarcinoma de grau 2, adenocarcinoma de grau 3 e adenocarcinoma mucinoso.

A avaliação da imunoexpressão de GLUT-1 foi realizada por um método semiquantitativo segundo os seguintes critérios: 0 – nenhuma expressão; 1 – positividade difusa de citoplasma, sem positividade de membrana; 2 – positividade de membrana em menos de 50% das células neoplásicas; 3 – positividade de membrana em mais de 50% das células neoplásicas. A avaliação da imunoexpressão de GLUT-2 foi global, não se fazendo distinção entre expressão citoplasmática e membranar, segundo os seguintes critérios: 0 – nenhuma expressão; 1 – positividade citoplasmática pouco intensa ou em menos de 50% das células neoplásicas; 2 – positividade marcada em mais de 50% das células neoplásicas.

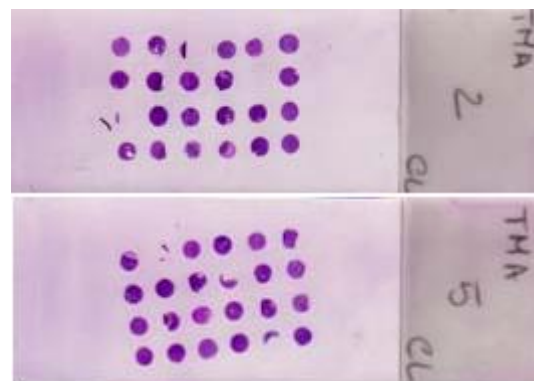


Figura 4 – Lâminas de TMA coradas por hemalúmen-eosina

Análise estatística

Foram utilizados os programas SPSS Statistics 17.0 e Excel 2003. A avaliação dos factores comparativos foi feita pelo teste do X^2 e considerou-se significância estatística para valores de $p < 0,05$.

Resultados

Caracterização da população estudada

Foram incluídos no estudo 51 doentes com o diagnóstico de adenocarcinoma do cólon ou do recto. As características demográficas e clínicas da população estão descritas na tabela II e as características patológicas na tabela III.

A média de idades à data do diagnóstico foi de 65 anos e 10 meses (desvio padrão de 13 anos e 2 meses), variando entre os 30 e os 90 anos. Foram identificados 3 casos com idade inferior a 45 anos à data do diagnóstico.

A dimensão patológica das neoplasias situou-se entre 0,4 cm e 8,2 cm (média de 4,0 cm, desvio padrão 1,8 cm). Em 2 casos existiam metástases documentadas histologicamente (pM1). Em 4 casos, o estadiamento patológico foi ypTNM, traduzindo a existência de tratamento neoadjuvante. Destes, 2 adenocarcinomas foram classificados como moderadamente diferenciados, 1 como bem diferenciado e 1 como residual.

Para além dos casos com diagnóstico de adenocarcinoma mucinoso, evidenciaram-se áreas de diferenciação mucinosa em 9 outras neoplasias (8 adenocarcinomas moderadamente diferenciados e 1 adenocarcinoma pouco diferenciado). Um dos tumores pouco diferenciados incluídos na série possuía um componente anaplásico.

		N	(%)
Sexo	F	22	(43,1)
	M	29	(56,9)
Idade	≤ 60 anos	18	(35,3)
	> 60 anos	33	(64,7)
Localização	Cólon	32	(62,7)
	Cego	8	(15,7)
	Ascendente	4	(7,8)
	Ângulo hepático	3	(5,9)
	Transverso	2	(3,9)
	Descendente	6	(11,8)
	Sigmóide	9	(17,6)
	Recto	18	(35,3)
	Múltiplos	1	(2,0)
Colonoscopia pré-operatória	Sim	30	(58,8)
	Não	21	(41,2)

Tabela II – Características clínicas e demográficas da população

Imunoexpressão dos transportadores GLUT-1 e GLUT-2

Dos casos incluídos, obtiveram-se 144 amostras: 15 de tecido normal, 24 de tecido displásico e 105 de adenocarcinoma. No caso do GLUT-1, a membrana eritrócitária serviu como controlo interno positivo. As figuras 4 a 10 mostram exemplos de imunoexpressão dos transportadores em tecido normal e neoplásico e as intensidades atribuídas na avaliação semiquantitativa da imunoexpressão.

		N	(%)
T	is	1	2,0
	1	7	13,7
	2	8	15,7
	3	29	56,9
	4	6	11,8
N	0	28	54,9
	1	12	23,5
	2	10	19,6
	3	1	2,0
Dimensões	< 5 cm	36	70,6
	≥ 5 cm	15	29,4
Diferenciação	Bem diferenciado	4	7,8
	Bem a moderadamente dif.	5	9,8
	Moderadamente dif.	37	72,5
	Pouco diferenciado	2	3,9
	Mucinoso	1	2,0
	Residual	2	3,9

Tabela III – Características patológicas da população

Imunoexpressão de GLUT-1

Os resultados da imunoexpressão de GLUT-1 estão descritos na tabela IV e nas figuras 11 e 12.

Globalmente, a expressão citoplasmática de GLUT-1 é significativamente diferente segundo a histologia da amostra. A comparação entre a expressão em tecido normal e em tecido

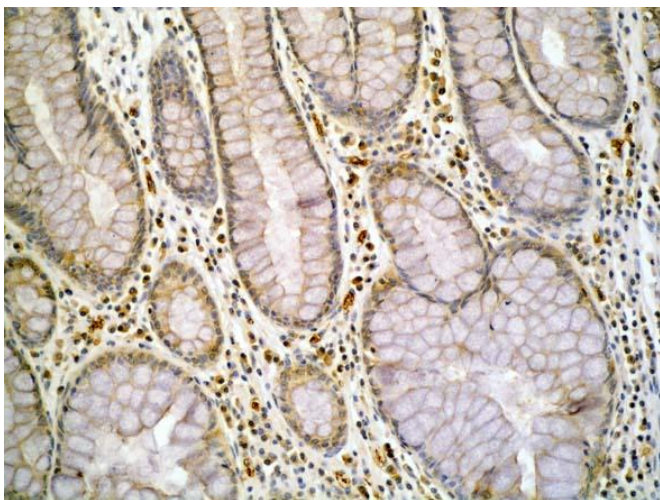


Figura 4 – Expressão de GLUT-1 em tecido normal (intensidade 0)

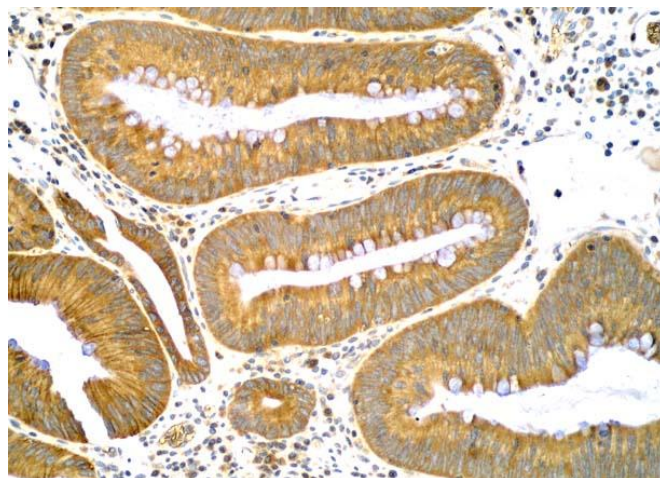


Figura 5 – Expressão de GLUT-1 em lesão displásica (intensidade 1)

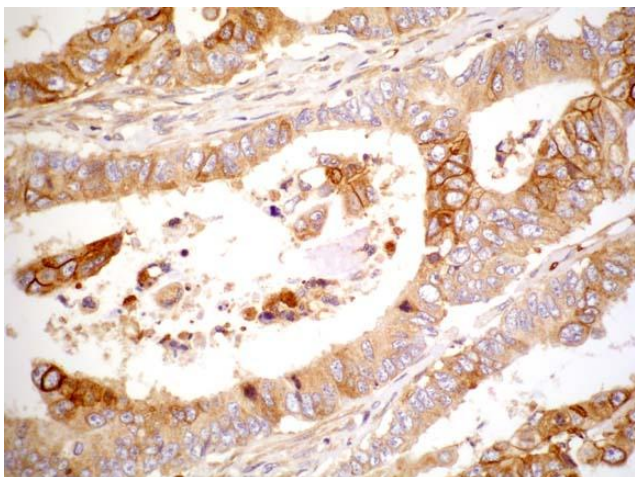


Figura 6 – Expressão de GLUT-1 em adenocarcinoma (intensidade 2)

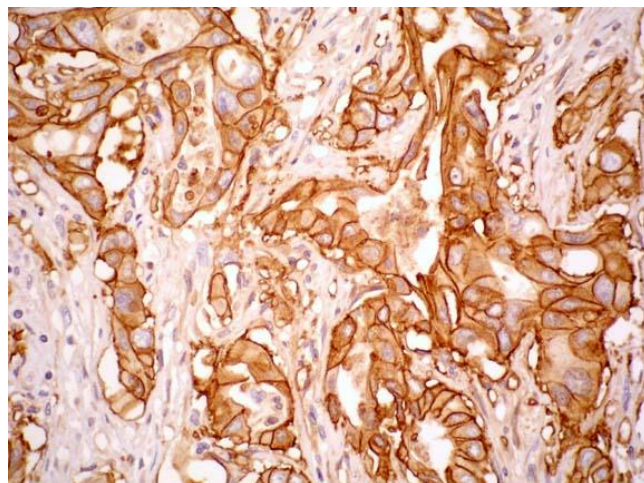


Figura 7 - Expressão de GLUT-1 em adenocarcinoma (intensidade 3)



Figura 8 – Expressão de GLUT-2 em tecido normal (intensidade 0)

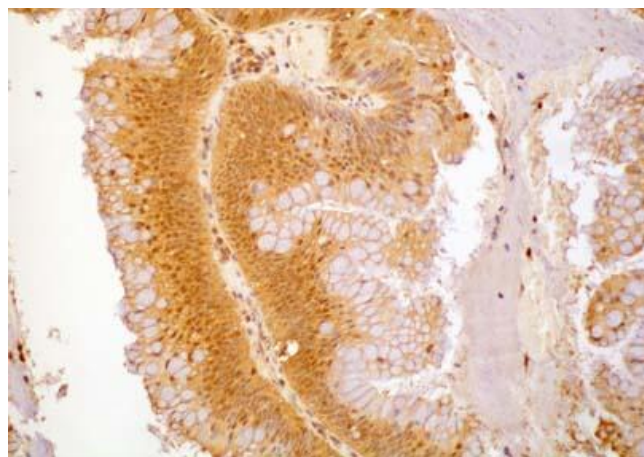


Figura 9 – Expressão de GLUT-2 em adenocarcinoma (intensidade 1)

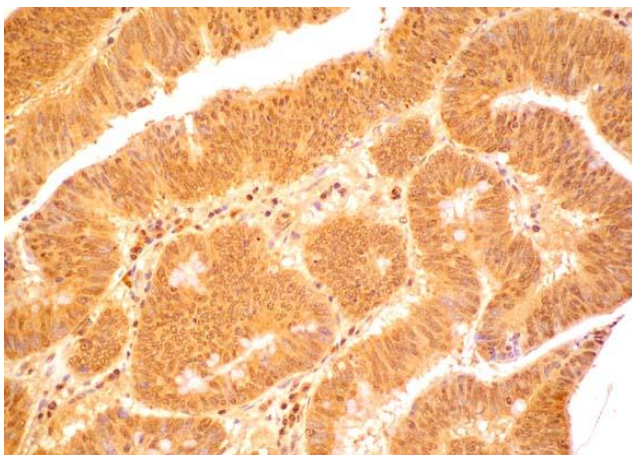


Figura 10 – Expressão de GLUT-2 em adenocarcinoma (intensidade 2)

displásico foi estatisticamente significativa ($p < 0.0001$), assim como a comparação entre a expressão em tecido normal e em tecido neoplásico ($p < 0.0001$).

A expressão membranar segundo a histologia da amostra foi também estatisticamente significativa na sua globalidade. Para comparar a expressão de GLUT-1 segundo as classes de histologia, a expressão membranar foi classificada apenas como presente (intensidades 2+3) ou ausente (intensidade 0). A expressão membranar foi significativamente diferente entre o tecido normal e o adenocarcinoma ($p < 0.0001$) e entre a displasia e o adenocarcinoma ($p < 0.0001$). A diferença de expressão entre o tecido normal e a displasia não foi significativa ($p = 0.43$).

		0	1	2	3	Total
Normal	citoplasma	13	2	–	–	15
	membrana	15	–	0	0	
Displasia	citoplasma	0	24	–	–	24
	membrana	20	–	4	0	
Adenocarcinoma	citoplasma	0	105	–	–	105
	membrana	0	–	30	75	

Tabela IV – Imunoexpressão de GLUT-1 citoplasmática e membranar segundo a histologia

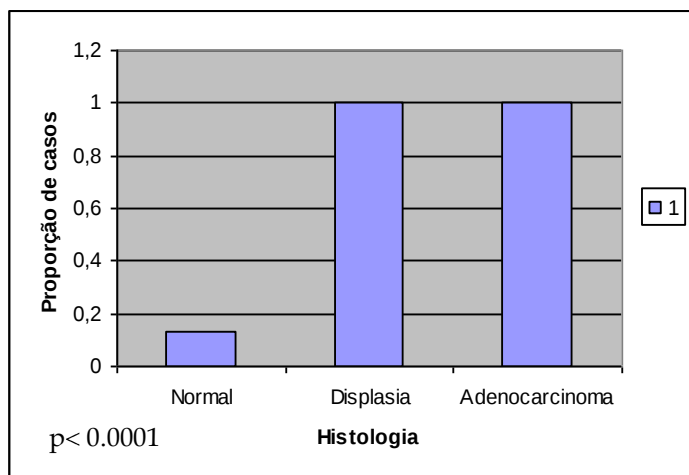


Figura 11 (à esquerda) – Imunoexpressão citoplasmática de GLUT-1 (intensidade 1)

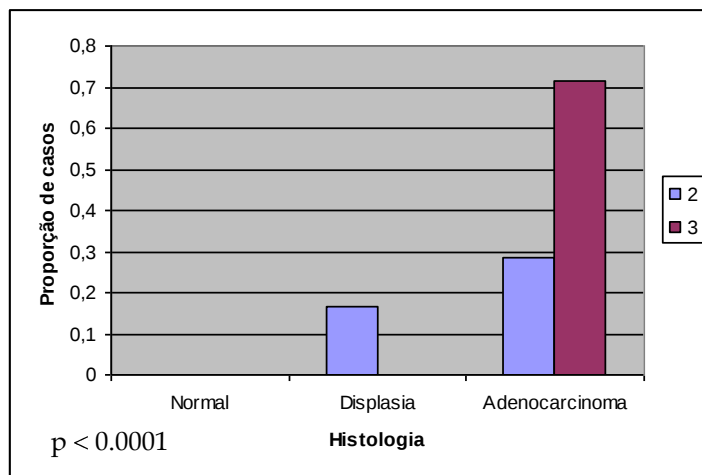


Figura 12 (à direita) – Imunoexpressão membranar de GLUT-1 (intensidades 2 e 3)

Imunoexpressão de GLUT-2

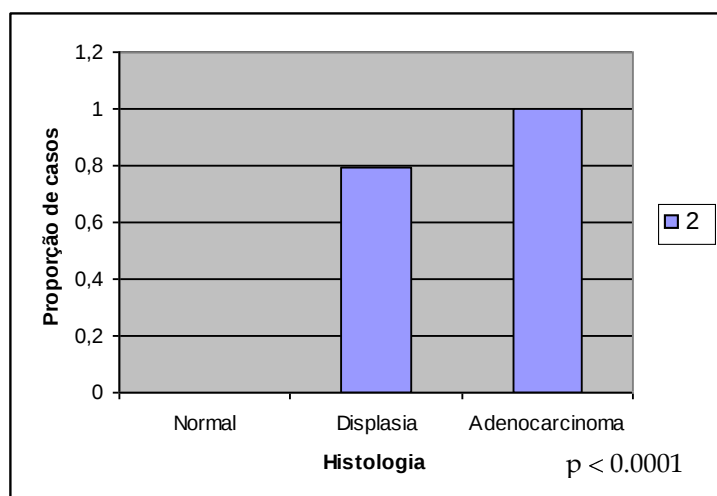
Os resultados relativos à imunoexpressão de GLUT-2 são apresentados na tabela V e na figura 13. Globalmente, a expressão de GLUT-2 em função do diagnóstico histológico do tecido é significativamente diferente. Para comparar a expressão segundo os diagnósticos histológicos entre si, a intensidade de expressão foi avaliada segundo duas classes: intensidades 0+1 ou

intensidade 2. Para a intensidade 2, a diferença de expressão foi estatisticamente significativa entre todas as categorias histológicas – normal e adenocarcinoma (p < 0.0001), normal e displasia (p < 0.0001) e displasia e adenocarcinoma (p < 0.0001).

Figura 13 – Imunoexpressão de GLUT-2 de intensidade

	0	1	2	Total
Normal	13	2	0	15
Displasia	0	5	19	24
Adenocarcinoma	0	0	105	105

Tabela V – Imunoexpressão de GLUT-2 segundo a histologia



Discussão

A população estudada tem características que se muito semelhantes às descritas na literatura. Observa-se, nomeadamente, que a distribuição de casos por sexos é muito próxima da descrita na população nacional² para o conjunto das neoplasias do cólon e recto (sexo masculino – 57,4%; sexo feminino – 42,6%). A média de idades ao diagnóstico também se aproxima da descrita na literatura¹⁰, que é de 63 anos.

Não se obteve colonoscopia pré-operatória num número significativo de doentes da série. Este facto poderá ser explicado pela realização de clister opaco no caso de neoplasias do recto e sigmóide distal, assim como de ecoendoscopias. Poderá ainda ter havido doentes que realizaram colonoscopia em locais exteriores ao CHP e que, por isso, não se encontram disponíveis no processo clínico electrónico. A colonoscopia tem a vantagem de permitir diagnosticar outros pólipos cólicos eventualmente presentes e realizar polipectomias, diminuindo assim o risco de adenocarcinoma subsequente em segmentos cólicos não ressecados na cirurgia.

Quanto ao estadiamento das neoplasias segundo o sistema TNM, há um predomínio de adenocarcinomas T3, parâmetro que traduz a existência de invasão transmural confinada pelos tecidos moles perimusculares (sem invasão da serosa ou estruturas adjacentes)⁴. A classificação T3 implica, no mínimo, que o tumor seja classificado como estadio IIA. Para além do agravamento de prognóstico traduzido pelo estadio TNM, os tumores classificados como T3 poderão ter ainda outra característica de mau prognóstico: a profundidade de invasão de tecidos moles extra-murais. Vários estudos⁴ demonstraram que tumores T3 com extensão extra-mural superior a 5 mm têm pior prognóstico do que os tumores T3 cuja extensão extra-mural é inferior a esta distância. É de realçar que o valor prognóstico deste factor é independente da existência ou não de metástases ganglionares, ou seja, do estatuto N da neoplasia.

Observou-se que aproximadamente metade das neoplasias estudadas apresentava metástases ganglionares. Este parâmetro implica o estadiamento da neoplasia de, no mínimo, IIIA,

com o consequente agravamento prognóstico face aos estadios I e II, sem metástases ganglionares. Para além deste efeito, e independentemente do parâmetro T, o parâmetro N1 está associado a uma taxa de sobrevida a 5 anos de 66%, enquanto que para o N2 essa taxa é de 37%¹.

O estadiamento TNM de uma neoplasia é, por definição, feito antes da administração de qualquer tratamento e o valor prognóstico dos estadios 0 a IV baseia-se apenas em dados colhidos de casos de neoplasias estadiadas antes do tratamento. No caso de doentes que receberam terapêutica neoadjuvante, o estadiamento patológico foi realizado após a administração de radioterapia, quimioterapia ou de uma combinação de ambas. Nestes doentes, é de prever que o estadio ypTNM não tenha o mesmo valor prognóstico que o estadio pTNM (aplicado aos doentes que não receberam tratamento neoadjuvante), uma vez que o ypTNM não traduz a verdadeira extensão da neoplasia no momento do diagnóstico. No entanto, esta classificação retém interesse clínico, pois foi demonstrado para vários tipos de tratamento que o estadiamento da doença residual tem também valor prognóstico⁴.

Do ponto de vista do grau histológico, há a referir ter-se encontrado apenas um adenocarcinoma pouco diferenciado com focos anaplásicos, o que provavelmente traduz o comportamento mais agressivo do tumor em comparação com outros adenocarcinomas do mesmo grau. Do mesmo modo, a documentação de focos de diferenciação mucinosa em neoplasias que não cumprem os critérios de diagnóstico de adenocarcinoma mucinoso (diferenciação mucinosa em > 50% da extensão do tumor¹¹) poderá ter implicações prognósticas. A mucina secretada disseca através da parede cólica e facilita a invasão tumoral, o que explica o pior prognóstico dos adenocarcinomas mucinosos¹. É de prever que este processo ocorra também nas neoplasias com menores componentes mucinosos, agravando o prognóstico face a outros adenocarcinomas do mesmo grau sem esse componente.

O aparecimento de adenocarcinomas do cólon em idades precoces, bem como a documentação de adenocarcinomas síncronos, são características que levam a suspeitar da

possibilidade de se tratarem de neoplasias hereditárias ou de predisposição familiar. Os doentes com risco familiar de neoplasia colo-rectal constituem cerca de 20% de todos os doentes diagnosticados com esta patologia e as formas com hereditariedade autossómica dominante representam 5 a 10% dos casos diagnosticados anualmente (Lynch). Dos síndromes hereditárias, o síndrome de Lynch é o mais frequente, sendo que 1 a 6% de todos os cancros colorectais cumprem critérios clínicos desta patologia (critérios de Amsterdam)¹⁰.

Na série estudada, segundo os critérios de idade ao diagnóstico inferior a 45 anos (que corresponde à média de idades ao diagnóstico em doentes com síndrome de Lynch) e de presença de adenocarcinomas síncronos, foram identificados 4 doentes com possíveis formas hereditárias ou familiares de adenocarcinoma do cólon. Para além destes, está incluída na série uma doente com diagnóstico prévio de síndrome de Lynch. Estes doentes representam, no total da série, uma proporção inferior à de 20%, acima referida como representativa dos doentes com neoplasias de predisposição familiar. Provavelmente haverá nesta série outros doentes com neoplasias de predisposição familiar, que não são identificados segundo estes critérios demográfico e clínico mas que poderiam ser identificados através de uma história familiar positiva (dois ou mais familiares de primeiro ou segundo grau com diagnóstico de cancro colo-rectal)¹⁰.

O epitélio normal do cólon não expressa GLUT-1^{6, 7}. Diversos tecidos normais expressam este transportador, nomeadamente a barreira hemato-encefálica e os eritrócitos⁵, o que permite utilizá-los como controlo interno positivo da imunoexpressão de GLUT-1. Nos eritrócitos observa-se uma positividade citoplasmática difusa, com acentuação membranar. Nas células do epitélio cólico também se podem distinguir estes dois padrões de expressão, o que justifica o registo dos dados de imunoexpressão de GLUT-1 separadamente para membrana e citoplasma. Em contraste, foi demonstrada a expressão de uma isoforma de GLUT-2 na membrana basolateral de colonócitos normais¹². A marcação por imunohistoquímica para este transportador, tanto a nível dos eritrócitos como no epitélio cólico, segue um padrão de expressão citoplasmática difusa, sem

acentuação membranar. Por esta razão, a imunoexpressão de GLUT-2 foi avaliada globalmente, sem a distinção entre membrana e citoplasma feita para o GLUT-1.

Os tecidos neoplásicos caracterizam-se por uma tendência inerente para a utilização de vias metabólicas anaeróbias⁵ (fenómeno descrito por Warburg em 1956), em contraste com os tecidos normais, que utilizam preferencialmente um metabolismo aeróbio. As células neoplásicas utilizam uma grande quantidade de glicose para a glicólise, libertando como produto final desta reacção o lactato¹³. Os transportadores expressos à superfície celular, bem como as enzimas expressas intracelularmente, reflectem as vias metabólicas activadas em determinada célula. Nesta medida, a detecção destes alvos moleculares é a tradução morfológica de um processo metabólico.

No cólon normal, o butirato é fonte de cerca de 60% da energia necessária ao metabolismo dos colonócitos; a glicose fornece apenas uma pequena parte da energia utilizada pelo epitélio cólico. A pH luminal (pH=7), o butirato, encontra-se quase totalmente ionizado⁶ e por isso sem capacidade para atravessar a membrana plasmática por difusão, necessitando de um transportador, o MCT1. Lambert et al.⁷ descrevem o aumento de expressão do transportador de alta afinidade para a glicose GLUT-1 e a diminuição da expressão do transportador de baixa afinidade GLUT2 e do transportador MCT1 ao longo da transição entre tecido normal e tecido maligno. Estas observações são concordantes com as observações de Koukourakis et al.⁶ e consistentes com a hipótese de Warburg, evidenciando uma maior taxa de transporte e utilização de glicose em detrimento da utilização do butirato como fonte de energia.

Os resultados do presente estudo são coincidentes com os de Lambert et al.⁷ em relação à expressão de GLUT-1. O facto de a expressão membranar mais intensa e mais frequente ser em adenocarcinomas e ser significativamente diferente da expressão em tecido displásico levanta a hipótese de a aquisição de expressão membranar de GLUT-1 ser um acontecimento relativamente tardio na sequência adenoma-carcinoma. A expressão citoplasmática de GLUT-1 foi observada na totalidade das amostras de displasia e de adenocarcinoma, mas provavelmente este é um dado

menos específico e menos significativo do que a expressão membranar, dado ser na membrana que o GLUT-1 exerce a sua função biológica. Assim, a expressão membranar tem provavelmente uma correlação mais forte com a alteração para um fenótipo predominantemente glicolítico do que a expressão citoplasmática.

O significado da indução de expressão de GLUT-1 na transformação neoplásica do epitélio cólico não está ainda estabelecido. Wincewicz et al.⁹ demonstraram a co-expressão de GLUT-1 e de hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1 α) em amostras de adenocarcinoma do cólon, suportando a hipótese de que o GLUT-1 é uma proteína expressa em resposta à hipóxia tecidual. Por seu lado, Haber et al.⁵ levantam a hipótese de a expressão de GLUT-1 ser uma característica constitutiva do fenótipo maligno, cuja expressão seria induzida por oncogenes. Lambert et al.⁷ avançam a possibilidade de a indução da expressão de GLUT-1 e concomitante diminuição da expressão de GLUT-2 serem um fenómeno “reactivo” que permite às células sobreviver através da utilização de glicose quando a sua fonte normal de energia, o butirato, não está disponível devido à diminuição de expressão de MCT1. Finalmente, Cooper et al.⁸ enunciam outros factores que estimulam a expressão de GLUT-1 e que poderiam reduzir a sua utilidade como marcador tumoral, nomeadamente factores de crescimento, hormona tiroideia e pH alcalino.

De um ponto de vista clínico, foi demonstrada a utilidade prognóstica do GLUT-1, tanto em neoplasias do cólon⁸ como noutros tumores⁹. Haber et al.⁵ demonstraram diferenças de sobrevivência estatisticamente significativas entre grupos de doentes que diferiam em relação à expressão tumoral de GLUT-1. Ito et al.¹⁴ e Furudoi et al.¹⁵ demonstraram a relação existente entre expressão de GLUT-1 e invasão tumoral. A hipóxia tumoral está associada a resistência à radioterapia e quimioterapia, fenótipo mais agressivo e maior propensão para metastizar⁸, que poderão em parte explicar o mau prognóstico conferido pela expressão de GLUT-1 em adenocarcinomas do cólon.

No presente estudo, verificou-se aumento de intensidade e frequência de expressão de GLUT-2 na transição entre tecido normal e maligno, em paralelo com a expressão de GLUT-1 e

em contraste com os dados publicados na literatura⁷. É interessante constatar que este marcador teve maior poder discriminador entre as classes histológicas normal/displasia/adenocarcinoma do que o GLUT-1, um marcador muito mais estudado. A proporção de amostras de displasia que foi positiva para GLUT-2 foi maior do que a proporção de amostras com positividade membranar para GLUT-1, suportando a hipótese de que a indução de expressão de GLUT-1 é um acontecimento mais tardio na transição para a malignidade do que a expressão de GLUT-2. No entanto, o facto de o GLUT-2 exibir positividade celular difusa sem acentuação de expressão a nível da membrana poderá invalidar esta comparação, já que a proporção de amostras com positividade citoplasmática para GLUT-1 foi próxima da proporção de amostras de displasia positivas para GLUT-2.

Neste estudo, não foi feita distinção entre amostras de tecido colhidas de zonas superficiais e de zonas profundas da neoplasia, o que poderá ter influência na imunoexpressão dos marcadores estudados. Por outro lado, a utilização de TMA levanta a questão da representatividade das amostras estudadas. Neste estudo, esta questão poderá não ser muito relevante, uma vez que só foi procurada uma relação entre diagnóstico histológico e imunoexpressão de GLUT-1 e GLUT-2, características que se constata na própria amostra. Pelo contrário, ao correlacionar-se imunoexpressão com factores clínicos, há o risco de a amostra de neoplasia obtida para TMA representar um dado componente de um tumor heterogéneo mas não outros componentes do tumor, que poderão condicionar desfavoravelmente o prognóstico do doente (por exemplo, um componente anaplásico ou um componente mucinoso).

No futuro, seria interessante alargar a série estudada para incluir maior número de doentes e correlacionar a imunoexpressão de GLUT-1 e GLUT-2 com variáveis clínicas e com a sobrevida global e sobrevida livre de doença dos doentes estudados. Também poderia ser feito um estudo com um painel mais alargado de marcadores, representativo de mais aspectos do metabolismo tumoral (por exemplo, estudar conjuntamente a imunoexpressão de MCT e GLUT).

Bibliografia

- 1 – Crawford JM, Kumar V. The oral cavity and the gastrointestinal tract. In: Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, eds. Basic pathology. 7th ed. Philadelphia: Saunders, 2003: 543-590.
- 2 – Registo Oncológico Nacional 2001, Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil, Porto, 2008
- 3 - El-Deiry, Colon cancer, adenocarcinoma, emedicine.com, 2006. Acedido em 28/10/2008
- 4 – Compton CC, Greene FL. The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. CA Cancer J Clin 2004; 54: 295-308.
- 5 – Haber RS, Rathan A, Weiser KR, et al. GLUT1 glucose transporter expression in colorectal carcinoma. Cancer 83; 1: 34-40.
- 6 – Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Harris AI and Sivridis E. Comparison of metabolic pathways between cancer cells and stromal cells in colorectal carcinomas: a metabolic survival role for tumor-associated stroma. Cancer Res 2006; 66: 632 – 637.
- 7 – Lambert DW, Wood IS, Ellis A and Shirazi-Beechey SP. Molecular changes in the expression of human colonic nutrient transporters during the transition from normality to malignancy. Br J Cancer 2002; 86: 1262 – 1269.
- 8 – Cooper R, Sarioğlu S, Sökmen S, et al. Glucose transporter-1 (GLUT-1): a potential marker of prognosis in rectal carcinoma? Br J Cancer 2003; 89: 870-876.
- 9 – Wincewicz A, Sulkowska M, Koda M, Sulkowski S. Clinicopathological significance and linkage of the distribution of HIF-1 α and GLUT-1 in human primary colorectal cancer. Pathol Oncol Res 2007; 13: 15-20.
- 10 – Lynch TH, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. N Engl J Med 2003; 348: 919-32.
- 11 – Hamilton SR, Aaltonen LA. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System World Health Organization Classification of Tumours. Lyon, France: IARC Press, 2000.
- 12 – Pinches SA, Gribble SM, Beechey RB, Ellis A, Shaw JM, Shirazi-Beechey SP. Preparation and characterization of basolateral membrane vesicles from pig and human colonocytes: the mechanism of glucose transport. Biochem J 1993; 329: 529-534.
- 13 – Holm E, Hagmuller E, Staedt U, et al. Substrate balances across colonic carcinomas in humans. Cancer Res 1995; 55: 1373-1378.

- 14 – Ito H, Duxbury M, Zinner Mj, Ashley SW, Whang EE. Glucose transporter-1 gene expression is associated with pancreatic cancer invasiveness and MMP-2 activity. *Surgery* 2004; 136: 548-556.
- 15 – Furudoi A, Tanaka S, Haruma K, et al. Clinical significance of human erythrocyte glucose transporter 1 expression at the deepest invasive site of advanced colorectal carcinoma. *Oncology* 2001; 60: 162-169.