

## Análise quantitativa de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos no adenocarcinoma prostático humano\*

### *Quantitative analysis of neutrophils, mast cells and eosinophils in human prostatic adenocarcinoma*

Leonardo Cortez Guerra<sup>1</sup>, Bruna Orbite Garcia<sup>2</sup>, Ana Paula Girol<sup>3</sup>,  
Thaís Santana Gastardelo Bizotto<sup>4</sup>

Guerra LC, Garcia BO, Girol AP, Bizotto TSG. Análise quantitativa de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos no adenocarcinoma prostático humano / *Quantitative analysis of neutrophils, mast cells and eosinophils in human prostatic adenocarcinoma*. Rev Med (São Paulo). 2023 set-out;102(5):e-208256.

**RESUMO: Objetivo:** Avaliar a relação entre a hiperplasia prostática benigna (HPB) e o adenocarcinoma prostático (AP) por meio da quantificação de neutrófilos, eosinófilos e mastócitos e correlacionar com o grau histopatológico da neoplasia. **Metodologia:** Este estudo é observacional transversal. Biópsias catalogadas de pacientes foram seccionadas em cortes de 5µm, coradas e analisadas no microscópio de luz. Nessas secções, as células foram quantificadas e comparadas entre as condições HPB e AP por meio de análises estatísticas. **Resultados:** Foram analisadas biópsias de 47 pacientes, sendo 28 (59,6%) com HPB e 19 (40,4%) com AP. A mediana da idade do grupo com HPB foi 69 anos (intervalo: 54 – 77 anos) e o com AP foi 66 anos (intervalo: 59 – 92 anos). Na análise estatística, foi observado um maior número de neutrófilos extravasculares ( $p < 0,001$ ) e totais ( $p < 0,05$ ) no AP em relação à HPB, porém não houve diferença estatística entre neutrófilos intravasculares, mastócitos e eosinófilos entre os grupos. Ao correlacionar o *Escore de Gleason* e o influxo de células inflamatórias, foi observado que maiores escores estão associados a menor influxo de neutrófilos e mastócitos intactos. Além disso, foi observado que o volume e o peso prostático com AP podem estar associados com o infiltrado inflamatório. **Conclusão:** Nesse estudo, foi possível sugerir que o câncer de próstata possui relação com a resposta imune inata pelo influxo exacerbado de neutrófilos no microambiente tumoral e pela influência dessas células no *Escore de Gleason* e nos valores de peso e volume prostático. Entretanto, novos estudos são necessários para melhor ilustrar o papel dos neutrófilos na tumorigênese.

**PALAVRAS-CHAVE:** Câncer de próstata; Inflamação; Neutrófilos; Mastócitos; Eosinófilos.

**ABSTRACT: Objective:** To evaluate the relationship between benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostatic adenocarcinoma (AP) through the quantification of neutrophils, eosinophils and mast cells and to correlate with the histopathological grade of the neoplasm. **Methodology:** This is an observational cross-sectional study. Cataloged patient biopsies were sectioned into 5µm sections, stained and analyzed under a light microscope. In these sections, cells were quantified and compared between HPB and AP conditions by statistical analysis. **Results:** Biopsies of 47 patients were analyzed, 28 (59.6%) with BPH and 19 (40.4%) with AP. The median age of the BPH group was 69 years (range: 54 – 77 years) and the AP group was 66 years (range: 59 – 92 years). In the statistical analysis, a greater number of extravascular ( $p < 0.001$ ) and total ( $p < 0.05$ ) neutrophils was observed in the AP in relation to the BPH; however, there was no statistical difference between intravascular neutrophils, mast cells and eosinophils between the groups. By correlating the Gleason Score and the influx of inflammatory cells, it was observed that higher scores are associated with a lower influx of neutrophils and intact mast cells. In addition, it was observed that prostatic volume and weight with AP may be associated with inflammatory infiltrate. **Conclusion:** In this study, it was possible to suggest that prostate cancer is related to the innate immune response by the exacerbated influx of neutrophils in the tumor microenvironment and by the influence of these cells on the Gleason Score and on the values of weight and prostate volume. However, further studies are needed to better illustrate the role of neutrophils in tumorigenesis.

**KEYWORDS:** Prostate Cancer; Inflammation; Neutrophils; Mast Cells; Eosinophils.

\* Os dados preliminares referentes à quantificação de neutrófilos foram apresentados na Sessão de Temas Livres do VIII Congresso de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP e V Simpósio de Pós-Graduação em Clínica Médica – 50 anos, realizados no período 21 a 24 de novembro 2021, evento on-line.

1. Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Faculdade de Medicina de Catanduva, Catanduva, SP, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7614-6602>. E-mail: [leonardocortez\\_guerra@hotmail.com](mailto:leonardocortez_guerra@hotmail.com).

2. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), Sorocaba, SP, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8995-8957>. E-mail: [brunaorbite@gmail.com](mailto:brunaorbite@gmail.com).

3. Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Centro de Pesquisas Experimentais e Clínicas (CEPEC), Catanduva, SP, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8760-8945>. E-mail: [anapaula.girol@unifipa.com.br](mailto:anapaula.girol@unifipa.com.br).

4. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), Departamento de Biologia Molecular, São José do Rio Preto, SP, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0627-8631>. E-mail: [thais.bizotto@famerp.br](mailto:thais.bizotto@famerp.br).

**Endereço para correspondência:** Thaís Santana Gastardelo Bizotto. Endereço: Av. Brg. Faria Lima, 5416 - Vila São Pedro, São José do Rio Preto - SP, 15090-000. E-mail: [thais.bizotto@famerp.br](mailto:thais.bizotto@famerp.br).

## INTRODUÇÃO

O câncer de próstata é o segundo tipo de câncer mais frequentemente diagnosticado e o segundo tipo de câncer mais fatal entre os homens no mundo, tendo incidência de 1,4 milhão de casos e mortalidade de 375 mil casos por ano<sup>1</sup>. Entre os homens no Brasil, o câncer de próstata é a neoplasia maligna mais frequente e a segunda maior causadora de mortes<sup>2</sup>. Estima-se que no triênio de 2023-2025 o número de novos casos de câncer de próstata no Brasil seja superior a 71 mil casos para cada ano<sup>2</sup>. O aumento da expectativa de vida, a melhoria e a evolução dos métodos diagnósticos e da qualidade dos sistemas de informação do país podem explicar o aumento das taxas de incidência. Idade, etnia e história familiar positiva são fatores de risco bem estabelecidos para o desenvolvimento do câncer de próstata na literatura<sup>3</sup>. Raramente o câncer de próstata é diagnosticado antes dos 40 anos e sua incidência é elevada após os 55 anos, sendo que nos Estados Unidos<sup>4</sup> a média de idade é de 66 anos.

À medida que o homem envelhece, a próstata sofre hiperplasia, aumentando seu tamanho, por essa razão, é comum que a partir dos 50 anos os homens apresentem sintomas no trato urinário inferior<sup>5</sup>. Pode ocorrer o crescimento benigno, denominado hiperplasia prostática benigna (HPB), e o crescimento maligno, denominado câncer de próstata, ou ambos simultaneamente na próstata<sup>6</sup>. A HPB é uma doença cuja fisiopatologia está relacionada a um processo inflamatório crônico que se inicia entre 25 a 30 anos e seus sintomas começam a aparecer após os 50 anos<sup>6</sup>. O tipo histopatológico mais comum do câncer de próstata é o adenocarcinoma, mas são raras as apresentações dos subtipos neuroendócrino, escamoso, entre outros<sup>7</sup>. O diagnóstico do câncer é realizado pelo estudo histopatológico do fragmento prostático obtido por biópsia. O relatório histopatológico deve fornecer a graduação histológica do *Score de Gleason*, cujo objetivo é informar sobre a provável taxa de crescimento do tumor e sua tendência à disseminação por padrões histológicos do adenocarcinoma prostático<sup>8</sup>. Em 2014, a Sociedade Internacional de Patologia Urológica - *International Society of Urological Pathology* (ISUP)- propôs a graduação em grupos de 1 a 5 do *Score de Gleason*, no qual o grupo 1 é composto pelo Gleason 6, e sucessivamente, grupo 2 (Gleason 3+4), grupo 3 (Gleason 4+3), grupo 4 (Gleason 8) e grupo 5 (Gleason 9 e 10)<sup>8,9</sup>. Esse sistema de graduação auxilia na escolha terapêutica por indicar prognóstico de cada grupo e melhorar a comunicação entre clínicos, patologistas e os pacientes<sup>8,9</sup>.

A próstata é constituída por numerosos alvéolos revestidos por um epitélio pseudoestratificado colunar formado por células basais e células cilíndricas que secretam um líquido seroso esbranquiçado contendo fosfatase ácida, ácido cítrico, zinco, antígeno específico da próstata (PSA) e outras proteases e enzimas fibrinolíticas

envolvidas na liquefação do sêmen. Os alvéolos se encontram embebidos em meio a um estroma de tecido conjuntivo bastante vascularizado no e qual estão presentes as células do sistema imune, como neutrófilos, mastócitos, eosinófilos, células natural-killer e linfócitos B e T<sup>10</sup>.

O sistema imune pode ser dividido em imunidade inata e imunidade adaptativa, a primeira é composta por macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, células natural-killer, mastócitos, basófilos e eosinófilos, enquanto os linfócitos B, linfócitos T e células apresentadoras de antígenos (APC) são células efetoras da resposta adaptativa<sup>11</sup>. Estudos recentes têm mostrado que o desenvolvimento e a progressão do câncer, incluindo o de próstata, dependem de interações das células tumorais com as células do sistema imune, nas quais, as últimas são as principais reguladoras do crescimento neoplásico<sup>12,13</sup>. Entre as células imunes associadas ao tumor destacam-se os macrófagos, os neutrófilos, os linfócitos e os mastócitos<sup>13</sup>.

A ideia de que a inflamação está envolvida no processo de tumorigênese é apoiada pela observação de que a neoplasia surge, frequentemente, em áreas de inflamação crônica, incluindo o câncer de próstata<sup>14</sup>. No início do processo neoplásico, as células inflamatórias e os seus mediadores liberados apresentam capacidade regulatória das células neoplásicas<sup>15,16</sup>. As células do sistema imune são atraídas para o tumor por vários fatores, incluindo hipóxia, dano celular, isquemia tecidual e quimiotáticos derivados do tumor<sup>15</sup>. A inflamação tem um papel muito significativo no desenvolvimento de vários tipos de câncer, promovendo a carcinogênese e a progressão do câncer mediante uma variedade de mecanismos, incluindo remodelação tecidual, promoção do tumor, alterações na matriz extracelular, perda da arquitetura tecidual, danos no DNA devido ao estresse oxidativo e estimulação direta de células tumorais via citocinas<sup>17</sup>.

Assim, esta investigação visa analisar o papel da inflamação e de células imunes específicas na mediação da progressão do câncer de próstata para auxiliar no direcionamento e otimizar as metas de imunoterapia.

## METODOLOGIA

### Local do estudo

O estudo foi realizado em duas instituições de ensino e pesquisa. No Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), foram realizadas as seguintes etapas: busca dos arquivos de patologia com seus respectivos blocos de parafina, microtomia dos blocos parafinizados e coleta dos dados dos laudos anatomopatológicos dos pacientes incluídos no estudo. Na Faculdade Ceres (FACERES) foram realizadas as colorações, quantificações, obtenção das fotomicrografias e análises estatísticas.

## Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional, transversal, qualitativo e quantitativo.

**Amostra** A amostra foi composta por biópsias parafinizadas de 50 pacientes contendo tecidos tumorais e com hiperplasia prostática benigna obtidas no Serviço de Patologia do Centro Universitário Padre Albino no período de 2011 a 2014. Ao longo do estudo, foram excluídos três pacientes pois as amostras não apresentaram tecido prostático. Nos experimentos, foram utilizados como controle fragmentos de próstata obtidos em regiões de hiperplasia prostática benigna em pacientes com ausência de neoplasia. As biópsias foram obtidas de pacientes com câncer de próstata não submetidos a tratamentos quimioterápicos e/ou irradiação em cirurgias ou acompanhamento ambulatorial realizados no Hospital Padre Albino e Hospital Escola Emílio Carlos, da Fundação Padre Albino, SP. O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEP/CONEP) (CAEE: 54898316.2.1001.5430).

## Método

Os blocos de parafina com os fragmentos de cinquenta pacientes foram catalogados no banco de blocos patológicos do Serviço de Patologia e separados para a microtomia, pela qual foram obtidas 10 seções de aproximadamente 5µm por paciente por meio do micrótomo (DM 50, Leica, Alemanha). Para análise histopatológica e morfológica dos neutrófilos e eosinófilos no microscópio de luz, as seções foram coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) e com o corante Azul de Toluidina (AZT) para a análise dos mastócitos. Foram corados cinco cortes em HE e cinco cortes em AZT para cada paciente. O número de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos foram quantificados no microscópio de luz (Axioskop Motplus II, Zeiss, GR). As células inflamatórias foram quantificadas em 20 campos por lâmina na objetiva de 40X e o número total foi dividido pela área total dos campos em µm<sup>2</sup>. Após a quantificação, os dados dos pacientes foram separados em dois grupos (HPB e AP), tabelados em planilha do Excel e foi realizada a coleta das demais variáveis, como idade, *escore de Gleason*, grau do grupo do *escore de Gleason (ISUP)*, peso e volume prostático através dos laudos anatomopatológicos.

## Análises estatísticas

Os valores foram demonstrados como média ± S.E.M. do número de células por µm<sup>2</sup> de cinco cortes de 5µm (deixando 40µm de espaço entre cada seção) por paciente (n=47). A diferença estatística entre os grupos foi determinada pelo teste de Mann-Whitney e as correlações pelo coeficiente de correlação de postos de Spearman (duas extremidades). Os valores de *p* menores que 0,05 foram considerados significantes. Os dados faltantes foram

retirados da análise pelo programa estatístico. A análise estatística foi realizada utilizando o software IBM SPSS Statistics 20 e os gráficos pelo GraphPad Prism Software 9.0.

## RESULTADOS

No total, foram incluídos 47 pacientes na análise, sendo 28 pacientes com hiperplasia prostática benigna (59,6%) e 19 pacientes com adenocarcinoma prostático (40,4%). A mediana da idade foi 67 anos (intervalo: 54 – 92 anos) em toda a amostra. A maioria dos pacientes apresentou etnia branca (95%), sendo o restante pertencente à etnia negra (5%). Os pacientes com hiperplasia prostática benigna (HPB) apresentaram mediana em relação à idade de 69 anos (intervalo: 54 – 77 anos) e todos da etnia branca. A mediana da idade dos pacientes com adenocarcinoma prostático (AP) foi de 66 anos (intervalo: 59 – 92 anos), sendo que 77,7% eram brancos e 22,3% negros.

Em relação ao método de coleta da amostra dos pacientes com HPB, 56,5% foram obtidos via ressecção transuretral da próstata, 39,1% por meio da prostatectomia e 4,3% por biópsia prostática por agulha. Nos pacientes com AP, 50% das amostras foram coletadas por meio da prostatectomia, 28,6% via biópsia prostática por agulha e 21,4% via ressecção transuretral da próstata.

Na análise bivariável, foi observado um maior influxo de neutrófilos extravasculares ( $p < 0,001$ ) e totais ( $p < 0,05$ ) no adenocarcinoma prostático em comparação à hiperplasia prostática benigna (Figura 1). Em contrapartida, não houve diferença significativa entre os grupos quanto ao número de neutrófilos intravasculares (Figura 1); eosinófilos intravasculares, extravasculares e totais (Figura 2); mastócitos intactos, desgranulados e totais (Figura 3).

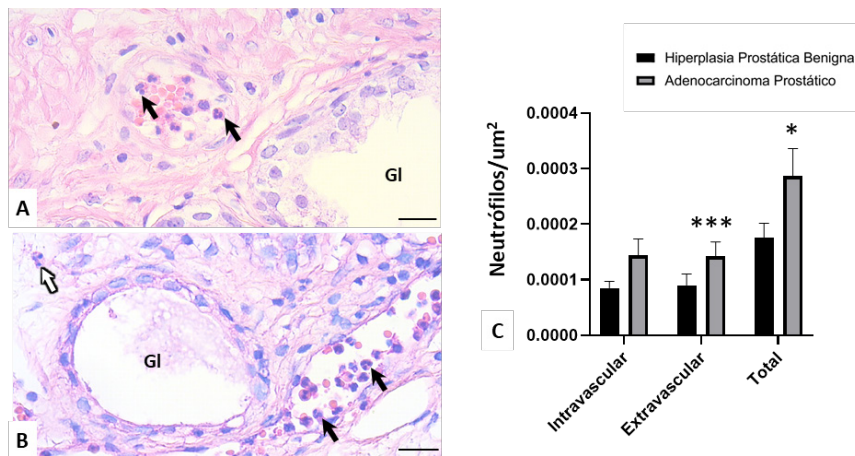
Os pacientes com adenocarcinoma prostático apresentaram *Escore de Gleason* 6 (11%) - bem diferenciados ou de baixo grau; 7 (27,8%) - moderadamente diferenciados ou de grau intermediário; 8 (50%) e 9 (11,1%) - pouco diferenciados ou de alto grau. O peso prostático obtido através da prostatectomia transvesical apresentou mediana de 56g (intervalo: 40 - 80g) nos pacientes com HPB e de 25g (intervalo: 10 – 40g) nos pacientes com AP nas prostatectomias radicais. Ao se comparar o *Escore de Gleason* com o peso prostático dos pacientes com AP, foi encontrada uma correlação positiva forte (Tabela 1).

Ao correlacionarmos o *Escore de Gleason* com o influxo de células inflamatórias, obtivemos uma correlação negativa fraca com neutrófilos intravasculares, extravasculares e totais, enquanto o influxo de mastócitos intactos revelou uma correlação positiva fraca (Tabela 1), ou seja, quanto maior o *Escore* menor o influxo de neutrófilos e maior a quantidade de mastócitos intactos. No entanto, os mastócitos desgranulados e totais e os

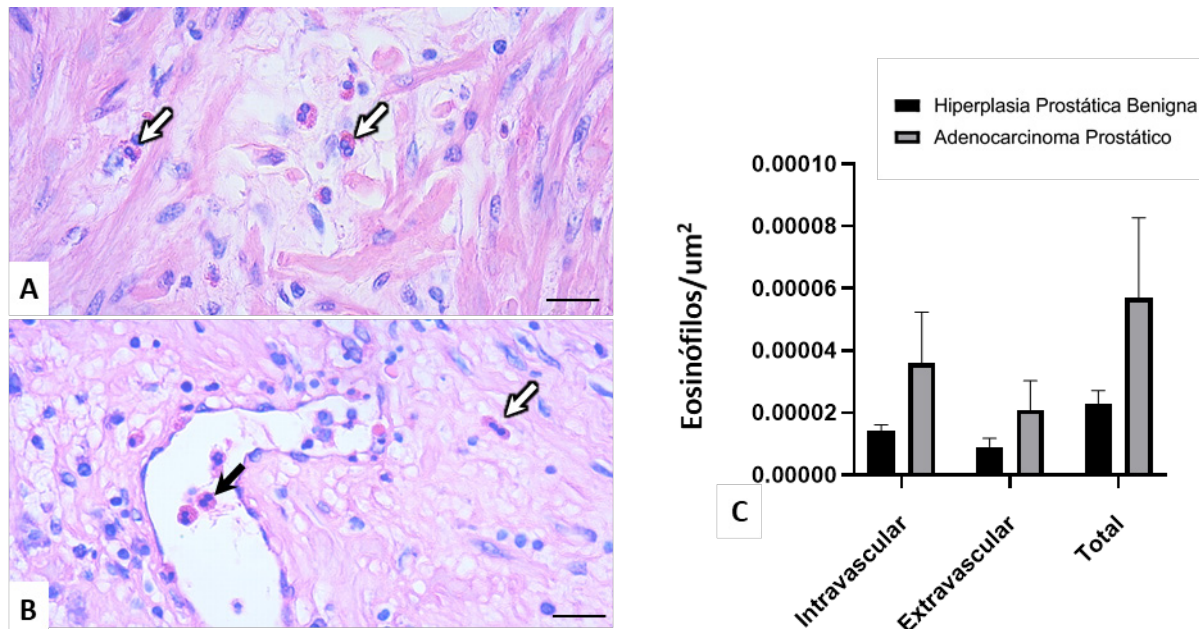
eosinófilos intravasculares, extravasculares e totais não apresentaram correlação com o *Escore de Gleason* (Tabela 1).

Com relação ao *Gleason Grade Group*, a distribuição

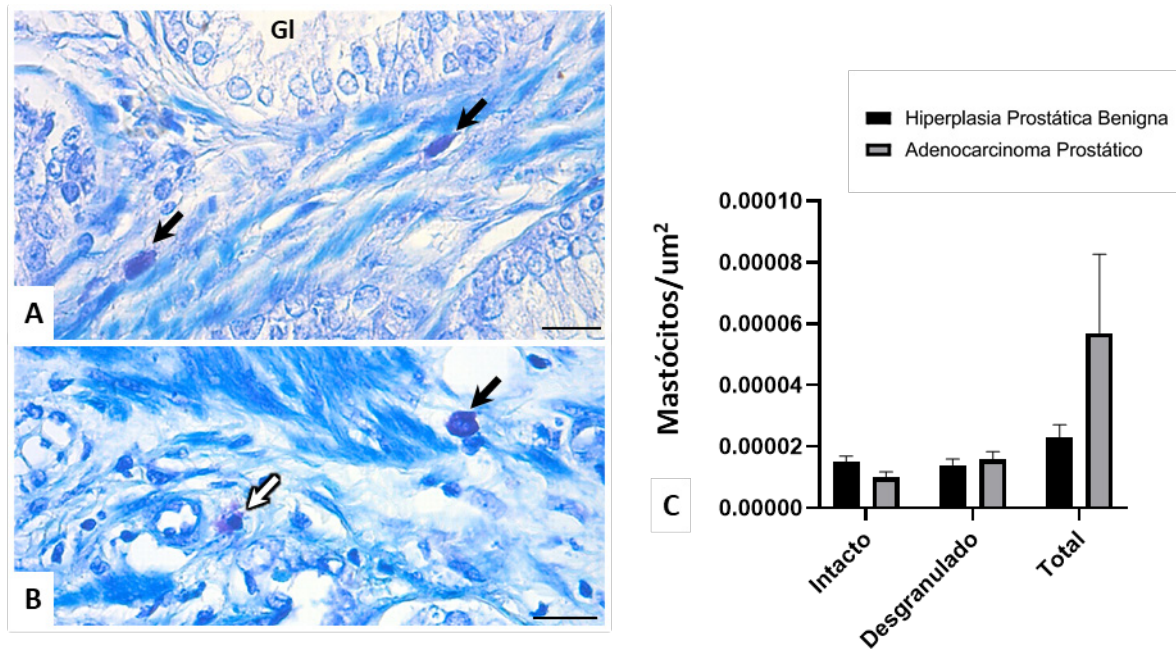
dos pacientes foi: grupo 1 (10,5%), grupo 2 (10,5%), grupo 3 (15,8%), grupo 4 (47,4%) e grupo 5 (10,5%). Apenas o peso prostático obteve correlação positiva forte com o *Gleason Grade Group* (Tabela 1).



**Figura 1 - Infiltração de neutrófilos na hiperplasia e no adenocarcinoma prostático.** **A)** Fotomicrografia de hiperplasia prostática benigna evidenciando neutrófilos intravasculares (setas pretas). Gl: glândula. **B)** Secção de adenocarcinoma prostático indicando neutrófilos intravasculares (setas pretas) e extravascular (seta branca). Gl: glândula. Coloração: Hematoxilina-cosina. Barras: 10µm. Os neutrófilos foram identificados pela presença de núcleo multilobulado. **C)** Quantificação de neutrófilos intravasculares, extravasculares e totais. Os valores expressam a média ± S.E.M. de células por µm² (n=28 pacientes com hiperplasia prostática benigna e 19 pacientes com adenocarcinoma prostático). \* p<0.05 versus hiperplasia prostática benigna (Teste U de Mann-Witney). \*\*\* p<0.001 versus hiperplasia prostática benigna (Teste U de Mann-Witney).



**Figura 2 - Influxo de eosinófilos na hiperplasia e no adenocarcinoma prostático.** **A)** Hiperplasia prostática benigna apresentando eosinófilos extravasculares (setas brancas). **B)** Eosinófilos intravasculares (seta preta) e extravasculares (seta branca) são observados no adenocarcinoma prostático. Coloração: Hematoxilina-cosina. Barras: 10µm. Os eosinófilos foram identificados pela presença de grânulos citoplasmáticos acidófilos e núcleo bilobulado. **C)** Quantificação de eosinófilos intravasculares, extravasculares e totais. Os valores expressam a média ± S.E.M. de células por µm² (n=28 pacientes com hiperplasia prostática benigna e 19 pacientes com adenocarcinoma prostático).



**Figura 3 - Migração de mastócitos na hiperplasia e no adenocarcinoma prostático.** A) Mastócitos intactos (setas pretas) são visualizados na hiperplasia prostática benigna. Gl: glândula. B) Fotomicrografia de adenocarcinoma prostático indicando mastócito intacto (seta preta) e desgranulado (seta branca). Os mastócitos intactos foram identificados pela presença de grânulos citoplasmáticos metacromáticos, enquanto os desgranulados, pela presença de grânulos excitados e com coloração púrpura. Coloração: Azul de Toluidina. Barras: 10µm. C) Quantificação de mastócitos intactos, desgranulados e totais. Os valores expressam a média ± S.E.M. de células por µm² (n=28 pacientes com hiperplasia prostática benigna e 19 pacientes com adenocarcinoma prostático).

**Tabela 1 -** Relação entre Escore de Gleason e Gleason Grade Group (ISUP) com peso prostático, volume prostático e células inflamatórias.

	Escore de Gleason			Gleason Grade Group		
	Rô <sup>1</sup>	n	p	Rô <sup>1</sup>	n	p
<b>Peso prostático</b>	0,891	7	< 0,0001*	0,891	7	< 0,0001*
<b>Volume prostático</b>	0,188	8	0,38	0,188	8	0,38
<b>Neutrófilo</b>						
Extravascular	-0,275	18	0,043*	-0,232	18	0,064
Intravascular	-0,292	18	0,032*	-0,232	18	0,092
Total	-0,334	18	0,014*	-0,254	18	0,064
<b>Mastócito</b>						
Desgranulado	0,064	18	0,644	0,034	18	0,808
Intacto	-0,309	18	0,023*	0,262	18	0,055
Total	0,176	18	0,203	0,139	18	0,315
<b>Eosinófilo</b>						
Extravascular	-0,092	17	0,522	-0,117	17	0,412
Intravascular	-0,128	17	0,369	-0,117	17	0,412
Total	-0,214	17	0,131	-0,205	17	0,149

\* Valores significantes

<sup>1</sup> Correlação de Spearman

Ao compararmos as células inflamatórias com o peso prostático dos pacientes com AP, foi observada uma correlação negativa moderada com o número de neutrófilos

intravasculares, uma correlação positiva forte com mastócitos intactos e uma correlação positiva moderada com eosinófilos intravasculares. Os neutrófilos (extravasculares

e totais), mastócitos (desgranulados e totais) e eosinófilos (extravasculares e totais) não apresentaram correlação com o peso prostático nos pacientes com AP (Tabela 2).

Em relação ao volume prostático, os pacientes com HPB apresentaram mediana de 120,17 cm<sup>3</sup> (intervalo: 63 – 400 cm<sup>3</sup>) e os pacientes com AP apresentaram mediana de 86,62 cm<sup>3</sup> (intervalo: 42 – 127,5 cm<sup>3</sup>). Ao se comparar as células inflamatórias com o volume prostático de pacientes

com AP, foi encontrada uma correlação negativa forte entre os neutrófilos intravasculares, neutrófilos extravasculares e neutrófilos totais; uma correlação negativa moderada com mastócitos desgranulados e, por fim, uma correlação positiva moderada com eosinófilos intravasculares. Não houve associação do volume prostático de pacientes com AP com mastócitos (intactos e totais) e eosinófilos (extravascular e totais) (Tabela 2).

**Tabela 2** - Relação entre Peso, Volume Prostático e Células Inflamatórias.

	Peso prostático			Volume prostático		
	Rô <sup>1</sup>	n	p	Rô <sup>1</sup>	n	p
<b>Peso prostático</b>	-	-	-	0,4	7	0,072
<b>Volume prostático</b>	0,4	7	0,072	-	-	-
<b>Neutrófilo</b>						
Extravascular	-0,356	7	0,114	-0,795	8	< 0,0001*
Intravascular	-0,674	7	0,001*	-0,747	8	< 0,0001*
Total	-0,356	7	0,114	-0,88	8	< 0,0001*
<b>Mastócito</b>						
Desgranulado	0,038	7	0,871	-0,642	8	0,001*
Intacto	0,735	7	< 0,0001*	0,124	8	0,563
Total	0,359	7	0,11	-0,339	8	0,105
<b>Eosinófilo</b>						
Extravascular	0,061	6	0,811	0,17	7	0,461
Intravascular	0,5	6	0,034*	0,453	7	0,039*
Total	0,219	6	0,383	0,337	7	0,136

\* Valores significantes

<sup>1</sup> Correlação de Spearman

## DISCUSSÃO

Nesse estudo foi realizada uma análise quantitativa de células inflamatórias, neutrófilos, mastócitos e eosinófilos em biópsias de pacientes com hiperplasia prostática benigna (HPB) e adenocarcinoma prostático (AP).

As células inflamatórias no microambiente do câncer de próstata podem interferir na iniciação e progressão da neoplasia através da secreção de citocinas e fatores de crescimento, sendo que o papel dessas pode se alterar conforme o estágio tumoral<sup>18</sup>.

No presente estudo, foi encontrado maior influxo de neutrófilos no AP em comparação à HPB, corroborando com dados da literatura<sup>19,20</sup>. O neutrófilo pode ter ação antitumoral, exercida pelo fenótipo N1, através da secreção das espécies reativas de oxigênio (ERO) e elastase neutrofilica (EN) induzindo morte celular, inibição da angiogênese pela secreção de fator de crescimento vascular

endotelial A (VEGF-A), liberação do ligante indutor de apoptose relacionado ao TNF (TRAIL) que induz apoptose via caspase e estimulação de linfócitos T citotóxicos<sup>21,22</sup>. Entretanto, o fenótipo N2, estimulado via fator de crescimento transformante beta (TGF-β), possui ação pró-tumoral mediante secreção de metaloproteinase-9 (MMP-9) induzindo angiogênese e remodelamento da matriz extracelular, predispondo à metástase<sup>22,23</sup>. Outras moléculas estão implicadas na angiogênese, como o VEGF-A e o fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF) estão diretamente ligados à progressão tumoral<sup>24</sup>. Além disso, o neutrófilo pode estimular instabilidade genética produzindo mutações via produção de ERO e crescimento tumoral pela liberação de fatores de crescimento e EN<sup>25</sup>.

A inflamação aguda, caracterizada pela presença neutrófilos, foi associada a menor *Score de Gleason* na literatura, assim como este estudo demonstrou uma relação inversa entre eles e, com isso, ilustrando o efeito antitumoral dos neutrófilos<sup>26,27</sup>. Estudos recentes têm

mostrado a razão neutrófilo-linfócito (RNL) como um biomarcador no prognóstico de paciente com câncer de próstata, um indicador de inflamação sistêmica<sup>28</sup>. Um alto RNL foi associado à pior sobrevida em pacientes que apresentaram câncer de próstata resistente à castração com ou sem metástase, tratados com enzalutamida e acetato de abiratenona, sendo considerado um marcador de mau prognóstico<sup>29,30</sup>. Ademais, *Escore de Gleason* alto também foi associado a altos valores de RNL<sup>31</sup>. Contudo, o papel do neutrófilo na iniciação e progressão do câncer de próstata permanece indefinido.

Os mastócitos estão presentes principalmente em tecidos que possuem contato com o ambiente externo, como o trato respiratório, trato gastrointestinal, tegumento e trato geniturinário, incluindo a próstata<sup>32</sup>. Essas células podem ser ativadas pelo sistema complemento (C3a, C5a), citocinas (IL-1, IL-12, TNF), quimiocinas, adenosina, fatores de crescimento (SCF), PAMPs (Padrões Moleculares Associados ao Patógeno), receptores Fc (IgE e IgG), neuropeptídeos e hormônios<sup>33,34</sup>. Após ativação, os mastócitos liberam grânulos citoplasmáticos contendo histamina, serotonina, enzimas lisossomais, proteases (MMP-9, MMP-2, triptase, quimase), citocinas (TNF, IL-15, IL-4), fatores de crescimento (VEGF, TGF- $\beta$ , bFGF-2), heparina, entre outros<sup>33,34</sup>. A histamina é uma das principais substâncias secretadas pelos mastócitos, VEGF e TNF- $\alpha$  estão envolvidos na angiogênese, enquanto as proteases atuam na degradação na matriz extracelular influenciando a progressão tumoral<sup>35,36</sup>. Além disso, por meio da secreção de IL-10, histamina, adenosina e TNF- $\alpha$ , os mastócitos podem induzir imunossupressão no microambiente tumoral<sup>36</sup>. Em contraste, os mastócitos podem apresentar resposta antitumoral por ativação dos linfócitos T efetores pela inibição dos linfócitos T reguladores e podem também ativar células natural killer (NK) e células dendríticas<sup>37</sup>.

Embora nossos achados não apresentem diferenças significativas no influxo de mastócitos, outros estudos implicaram sua influência no câncer de próstata<sup>19,38-40</sup>. Em câncer de próstata localizado, reduzida quantidade de mastócitos intratumorais foi associada ao aumento do risco de recidiva tumoral e Escores de Gleason baixos apresentam maiores densidades de mastócitos<sup>17</sup>. Entretanto, maior risco de recidiva e metástase à distância (fígado e pulmão) após prostatectomia radical foi associado a um maior número de mastócitos extratumorais<sup>41</sup>. Com isso, os trabalhos prévios sugerem que a localização dos mastócitos e seu grau de ativação influenciam o prognóstico de pacientes com câncer de próstata.

Classicamente, os eosinófilos estão envolvidos na resposta imune contra parasitas e em doenças alérgicas<sup>42</sup>. Assim como na literatura, nosso estudo não encontrou associação entre a quantificação de eosinófilos e o câncer de próstata<sup>40,43</sup>. Um estudo *in vitro* mostrou que os eosinófilos inibiram o crescimento de células de linhagem de câncer de próstata<sup>44</sup>. Ademais, outro estudo relacionou o aumento

na expressão da E-caderina nas linhagens celulares de câncer de próstata humano DU145 e PC3 pelos eosinófilos ativados, tendo, assim, papel importante no mecanismo de metástase<sup>45</sup>. Além do câncer de próstata, os eosinófilos foram implicados em outros tipos de câncer, como melanoma, colorretal, linfoma, gástrico, entre outros<sup>46</sup>.

Em nosso estudo, as amostras de pacientes com maior peso prostático apresentaram maior *Escore de Gleason*, porém artigos publicados associam tumores de alto grau a menor peso prostático<sup>47,48</sup>. Ao se analisar o peso prostático, observou-se maior quantidade de mastócitos intactos e eosinófilos intravasculares e menor quantidade de neutrófilos intravasculares em AP com pesos maiores. Por outro lado, ao se analisar o volume prostático, foi verificado maior quantidade de neutrófilos e mastócitos desgranulados em AP com menores volumes e maior número de eosinófilos intravasculares em AP com maior volume. Há controvérsias entre os estudos que envolvem as variáveis peso e volume prostático implicando em desfechos clínicos e, até o momento, não foi possível encontrar na literatura dados a respeito da relação entre células inflamatórias e as variáveis peso e volume no contexto de neoplasia.

Este estudo apresentou as seguintes limitações: por ser um estudo retrospectivo, contou com uma amostra limitada e com o viés de apenas uma instituição para a coleta dos dados, além disso, não foi possível coletar dados clínicos dos pacientes, como estadiamento clínico.

## CONCLUSÃO

Neste estudo foi possível sugerir que o câncer de próstata possui relação com a resposta imune inata pelo influxo exacerbado de neutrófilos no microambiente tumoral e pela influência dessas células no *Escore de Gleason* e nos valores de peso e volume prostático. No entanto, a informação relativa aos perfis precisos das células inflamatórias no câncer de próstata é ainda extremamente limitada. As células inflamatórias e a resposta imune apresentam atividade anti ou pró-tumorigênica, dependendo dos fenótipos celulares, suas combinações e a localização no microambiente tumoral. Assim, a identidade, o estado funcional, a distribuição, e as interações das células inflamatórias na próstata devem ser plenamente caracterizadas a fim de aprimorar e combinar as já promissoras imunoterapias atuais.

O efeito da inflamação no câncer tem sido amplamente estudado, inclusive no câncer de próstata, mas ainda há dados conflitantes sobre o papel de cada célula inflamatória nesse processo, principalmente pelos estudos possuírem metodologias diferentes nas quais cada microambiente tumoral possui características únicas. Além disso, os esforços devem ser direcionados para elucidar melhores indicadores da resposta potencial para facilitar a identificação de populações-alvo ideais, bem como de biomarcadores para avaliar a eficácia terapêutica. O

progresso nessas áreas reforça o otimismo existente para que a imunoterapia faça parte de um regime de cuidados para futuros pacientes com câncer de próstata. Dessa forma, se faz necessário a realização de novos estudos mais

aprofundados, caracterizando os fenótipos das células da resposta inata juntamente com a quantificação de citocinas para melhor ilustrar sua função na tumorigênese.

**Contribuições:** Leonardo Cortez Guerra, Bruna Orbite Garcia, Thaís Santana Gastardelo Bizotto: Contribuição substancial no esboço do estudo, interpretação dos dados e redação da versão preliminar. Ana Paula Girol: Participação na revisão e aprovação da versão final. Thaís Santana Gastardelo Bizotto: Participação na revisão e aprovação da versão final, conformidade em ser responsável pela exatidão e integridade de qualquer parte do estudo.

**Financiamento:** Faculdade CERES (FACERES).

**Agradecimentos:** À Faculdade CERES pelo apoio financeiro e à Patrícia Fucuta pelas análises estatísticas.

## REFERÊNCIAS

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2023: incidência do Câncer no Brasil [recurso eletrônico]. Rio de Janeiro (RJ): INCA; 2022 [citado 2023 Ago 07]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2023-incidencia-de-cancer-no-brasil>.
3. Bancroft EK, Raghallaigh HN, Page EC, Eeles RA. Updates in Prostate Cancer Research and Screening in Men at Genetically Higher Risk. *Curr Genet Med Rep.* 2021;9(4):47-58. <https://doi.org/10.1007/s40142-021-00202-5>.
4. Pernar CH, Ebot EM, Wilson KM, Mucci LA. The Epidemiology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018;8(12). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030361>.
5. Aaron L, Franco OE, Hayward SW. Review of Prostate Anatomy and Embryology and the Etiology of Benign Prostatic Hyperplasia. *Urol Clin North Am.* 2016;43(3):279-88. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2016.04.012>.
6. Srougi M, Ribeiro LA, Piovesan AC, Colombo JR, Nesrallah A. Doenças da próstata. *Rev Med (São Paulo).* 2008;87(3). <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v87i3p166-177>.
7. Humphrey PA. Histopathology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2017;7(10). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030411>.
8. Sehn JK. Prostate Cancer Pathology: Recent Updates and Controversies. *Mo Med.* 2018;115(2):151-5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30228708/>.
9. 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. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000530>.
10. Tuong ZK, Loudon KW, Berry B, Richoz N, Jones J, Tan X, et al. Resolving the immune landscape of human prostate at a single-cell level in health and cancer. *Cell Rep.* 2021;37(12):110132. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110132>.
11. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular.* Rio de Janeiro: Elsevier; 2015. 552 p.
12. De Wever O, Mareel M. Role of tissue stroma in cancer cell invasion. *J Pathol.* 2003;200(4):429-47. <https://doi.org/10.1002/path.1398>.
13. Strasner A, Karin M. Immune Infiltration and Prostate Cancer. *Front Oncol.* 2015;5:128. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00128>.
14. Nakai Y, Nonomura N. Inflammation and prostate carcinogenesis. *Int J Urol.* 2013;20(2):150-60. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2012.03101.x>.
15. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002;420(6917):860-7. <https://doi.org/10.1038/nature01322>.
16. Tan TT, Coussens LM. Humoral immunity, inflammation and cancer. *Curr Opin Immunol.* 2007;19(2):209-16. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2007.01.001>.
17. Hempel HA, Cuka NS, Kulac I, Barber JR, Cornish TC, Platz EA, et al. Low Intratumoral Mast Cells Are Associated With a Higher Risk of Prostate Cancer Recurrence. *Prostate.* 2017;77(4):412-24. <https://doi.org/10.1002/pros.23280>.
18. Shiao SL, Chu GC, Chung LW. Regulation of prostate cancer progression by the tumor microenvironment. *Cancer Lett.* 2016;380(1):340-8. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.12.022>.
19. Zhang E, Dai F, Mao Y, He W, Liu F, Ma W, et al. Differences of the immune cell landscape between normal and tumor tissue in human prostate. *Clin Transl Oncol.* 2020;22(3):344-50. <https://doi.org/10.1007/s12094-019-02128-5>.
20. Zhang Y, Zhou CK, Rencsok EM, Fall K, Lotan TL, Loda M, et al. A Prospective Study of Intraprostatic Inflammation, Focal Atrophy, and Progression to Lethal Prostate Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019;28(12):2047-54. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-19-0713>.
21. Wu SQ, Su H, Wang YH, Zhao XK. Role of tumor-associated



- immune cells in prostate cancer: angel or devil? *Asian J Androl.* 2019;21(5):433-7. [https://doi.org/10.4103/aja.aja\\_47\\_19](https://doi.org/10.4103/aja.aja_47_19).
22. Galdiero MR, Varricchi G, Loffredo S, Mantovani A, Marone G. Roles of neutrophils in cancer growth and progression. *J Leukoc Biol.* 2018;103(3):457-64. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MR0717-292R>.
  23. Bekes EM, Schweighofer B, Kupriyanova TA, Zajac E, Ardi VC, Quigley JP, et al. Tumor-recruited neutrophils and neutrophil TIMP-free MMP-9 regulate coordinately the levels of tumor angiogenesis and efficiency of malignant cell intravasation. *Am J Pathol.* 2011;179(3):1455-70. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.05.031>.
  24. Melegh Z, Oltean S. Targeting Angiogenesis in Prostate Cancer. *Int J Mol Sci.* 2019;20(11). <https://doi.org/10.3390/ijms20112676>.
  25. Xiong S, Dong L, Cheng L. Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis. *J Hematol Oncol.* 2021;14(1):173. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01187-y>.
  26. Kuang AG, Nickel JC, Andriole GL, Castro-Santamaria R, Freedland SJ, Moreira DM. Both acute and chronic inflammation are associated with less perineural invasion in men with prostate cancer on repeat biopsy. *BJU Int.* 2019;123(1):91-7. <https://doi.org/10.1111/bju.14428>.
  27. Davidsson S, Fiorentino M, Andren O, Fang F, Mucci LA, Varenhorst E, et al. Inflammation, focal atrophic lesions, and prostatic intraepithelial neoplasia with respect to risk of lethal prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(10):2280-7. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-11-0373>.
  28. Templeton AJ, McNamara MG, Seruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocana A, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(6):dju124. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju124>.
  29. Kawahara T, Kato M, Tabata K, Kojima I, Yamada H, Kamihira O, et al. A high neutrophil-to-lymphocyte ratio is a poor prognostic factor for castration-resistant prostate cancer patients who undergo abiraterone acetate or enzalutamide treatment. *BMC Cancer.* 2020;20(1):919. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07410-2>.
  30. Guan Y, Xiong H, Feng Y, Liao G, Tong T, Pang J. Revealing the prognostic landscape of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in metastatic castration-resistant prostate cancer patients treated with abiraterone or enzalutamide: a meta-analysis. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2020;23(2):220-31. <https://doi.org/10.1038/s41391-020-0209-3>.
  31. Rulando M, Siregar GP, Warli SM. Correlation between neutrophil-to-lymphocyte ratio with Gleason score in patients with prostate cancer at Adam Malik Hospital Medan 2013 - 2015. *Urol Ann.* 2021;13(1):53-5. [https://doi.org/10.4103/UA.UA\\_1\\_20](https://doi.org/10.4103/UA.UA_1_20).
  32. Theoharides TC, Stewart JM. Genitourinary mast cells and survival. *Transl Androl Urol.* 2015;4(5):579-86. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4683.2015.10.04>.
  33. Galli SJ, Tsai M. Mast cells: versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis. *J Dermatol Sci.* 2008;49(1):7-19. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2007.09.009>.
  34. da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J Histochem Cytochem.* 2014;62(10):698-738. <https://doi.org/10.1369/0022155414545334>.
  35. Pittoni P, Colombo MP. The dark side of mast cell-targeted therapy in prostate cancer. *Cancer Res.* 2012;72(4):831-5. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3110>.
  36. Komi DEA, Redegeld FA. Role of Mast Cells in Shaping the Tumor Microenvironment. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020;58(3):313-25. <https://doi.org/10.1007/s12016-019-08753-w>.
  37. Derakhshani A, Vahidian F, Alihasanzadeh M, Mokhtarzadeh A, Lotfi Nezhad P, Baradaran B. Mast cells: A double-edged sword in cancer. *Immunol Lett.* 2019;209:28-35. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2019.03.011>.
  38. Stawski P, Wagrowska-Danilewicz M, Stasikowska-Kanicka O, Tuka E, Danilewicz M. Augmented mast cell infiltration and microvessel density in prostate cancer. *Contemp Oncol (Pozn).* 2013;17(4):378-82. <https://doi.org/10.5114/wo.2013.37220>.
  39. Globa T, Saptefriti L, Ceausu RA, Gaje P, Cimpean AM, Raica M. Mast cell phenotype in benign and malignant tumors of the prostate. *Pol J Pathol.* 2014;65(2):147-53. <https://doi.org/10.5114/pjp.2014.43965>.
  40. Wu Z, Chen H, Luo W, Zhang H, Li G, Zeng F, et al. The landscape of immune cells infiltrating in prostate cancer. *Front Oncol.* 2020;10:517637. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.517637>.
  41. Hempel Sullivan H, Heaphy CM, Kulac I, Cuka N, Lu J, Barber JR, et al. High extratumoral mast cell counts are associated with a higher risk of adverse prostate cancer outcomes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2020;29(3):668-75. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-19-0962>.
  42. Wechsler ME, Munitz A, Ackerman SJ, Drake MG, Jackson DJ, Wardlaw AJ, et al. Eosinophils in health and disease: a State-of-the-Art review. *Mayo Clin Proc.* 2021;96(10):2694-707. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2021.04.025>.
  43. Meng J, Liu Y, Guan S, Fan S, Zhou J, Zhang M, et al. The establishment of immune infiltration based novel recurrence predicting nomogram in prostate cancer. *Cancer Med.* 2019;8(11):5202-13. <https://doi.org/10.1002/cam4.2433>.
  44. Furbert-Harris P, Parish-Gause D, Lanian I, Hunter KA, Okomo-Awich J, Vaughn TR, et al. Inhibition of prostate cancer cell growth by activated eosinophils. *Prostate.* 2003;57(2):165-75. <https://doi.org/10.1002/pros.10286>.
  45. Furbert-Harris PM, Parish-Gause D, Hunter KA, Vaughn TR, Howland C, Okomo-Awich J, et al. Activated eosinophils upregulate the metastasis suppressor molecule E-cadherin on prostate tumor cells. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2003;49(7):1009-16. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14682382/>.

46. Varricchi G, Galdiero MR, Loffredo S, Lucarini V, Marone G, Mattei F, et al. Eosinophils: the unsung heroes in cancer? *Oncoimmunology*. 2018;7(2):e1393134. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1393134>.
47. Olsson CA, Lavery HJ, Sebro D, Akhavan A, Levinson AW, Brajtford JS, et al. Does size matter? The significance of prostate size on pathologic and functional outcomes in patients undergoing robotic prostatectomy. *Arab J Urol*. 2011;9(3):159-64. <https://doi.org/10.1016/j.aju.2011.10.002>.
48. Freedland SJ, Isaacs WB, Platz EA, Terris MK, Aronson WJ, Amling CL, et al. Prostate size and risk of high-grade, advanced prostate cancer and biochemical progression after radical prostatectomy: a search database study. *J Clin Oncol*. 2005;23(30):7546-54. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.05.525>.

Recebido: 15.02.2023

Aceito: 06.09.23