



UNIDADE DE ENSINO SUPERIOR DE FEIRA DE SANTANA
BACHARELADO EM BIOMEDICINA

DANIEL SAMPAIO FÉLIX
FÉLIX VILARINHO FREITAS

O AVANÇO DOS BIOMARCADORES UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO
DO CÂNCER TESTICULAR

FEIRA DE SANTANA - BA

2020

DANIEL SAMPAIO FÉLIX
FÉLIX VILARINHO FREITAS

**O AVANÇO DOS BIOMARCADORES UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO
DO CÂNCER TESTICULAR**

Projeto de Pesquisa de Conclusão de Curso,
apresentado como requisito básico para obtenção
do grau de bacharel em Biomedicina pelo Grupo
Nobre de Ensino.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Cardoso
Matos Silva

FEIRA DE SANTANA - BA

2020

**DANIEL SAMPAIO FÉLIX
FÉLIX VILARINHO FREITAS**

**O AVANÇO DOS BIOMARCADORES UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO
DO CÂNCER TESTICULAR**

Feira de Santana, 04/08/2020

Banca Examinadora:

Prof. Me. Marcus Vinicius Cardoso Matos Silva
Faculdade Nobre de Feira de Santana
Orientador

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Mortalidade por câncer genital no Brasil e regiões: taxa de mortalidade padronizada à população mundial (ASW/100.000 hab) nos períodos observados e projetados. Brasil, 1996-2030..... 11

Tabela 02: Incidências de Câncer Testicular por etnia..... 11

Tabela 03: Principais abordagens para estudo de câncer testicular no Brasil e no Mundo..... 14

Tabela 04: Pesquisa de microRNA e sua eficácia para tratamento de câncer testicular17

Tabela 05: Marcadores séricos e teciduais para tumores testiculares atualmente disponíveis..... 21

LISTA DE ABREVIATURAS

AFP – Alfafetoproteína

CTCs – Células tumorais circulantes

CVB – Sangue venoso cubital

DST – Doença Sexualmente Transmissível

GCNis – Neoplasia de células germinativas in situ

HCG – Gonadotrofina Cariônica Humana

IGCCCG – Grupo Colaborativo Internacional de Células Germinativas

INCA – Instituto Nacional de Câncer

LDH – Lactato Desidrogenase

MIRNAS/MRNA – MicroRNAs

NSGCT – Células germinativas não seminomatosas

NTM – Neoplasias não testiculares

RQ – Quociente de relação

TGCT/TCGs – Tumores de células germinativas testiculares

TVB – Sangue venoso testicular

UIC – Union Internationale Contre le Câncer

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. CÂNCER DE TESTÍCULOS	10
2.1 DIAGNÓSTICO	11
2.2 EPIDEMIOLOGIA	12
2.3 FATORES DE RISCO	13
2.4 TRATAMENTO	14
3. METODOLOGIA	15
4. RESULTADOS	16
5. DISCUSSÃO	20
5.1. MICRO RNA'S	23
5.2. AFP	24
5.3. B-HCG	24
5.4. LDH	25
5.5. MIR-371A-3P, MIR-373-3P E MIR-367-3P	26
6. CONCLUSÃO	30
REFERÊNCIAS	31
ANEXO	36

**O AVANÇO DOS BIOMARCADORES UTILIZADOS NA IDENTIFICAÇÃO
DO CÂNCER TESTICULAR
THE ADVANCEMENT OF BIOMARKERS USED IN THE IDENTIFICATION
OF TESTICULAR CANCER
EL AVANCE DE BIOMARCADORES UTILIZADOS EN LA
IDENTIFICACIÓN DEL CÁNCER TESTICULAR**

Félix Vilarinho Freitas¹; Mario Werner de Lima Ferraz¹; Daniel Felix Sampaio¹ Marcus
Vinicius Cardoso Matos Silva².

¹Discentes do curso de Biomedicina da Grupo Nobre de Feira de Santana – FAN/UNEF,
Feira de Santana, Bahia, Brasil;

²Mestre em Genética pela Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife,
Pernambuco; Docente da Faculdade Nobre de Feira de Santana – FAN, Feira de Santana, Bahia,
Brasil.

E-mail para correspondência: werner.ferraz@hotmail.com

RESUMO

Introdução: Um dos cânceres que mais crescem em prevalência no sexo masculino é o câncer testicular, representando atualmente aproximadamente 1% de todos os tumores do organismo. Os biomarcadores são de grande importância para a área clínica, a grande variedade de biomarcadores permite que diversos tipos de neoplasias sejam diagnosticados, pois para cada uma delas tem-se um tipo de marcador específico, sejam eles, genéticos, bioquímicos, fisiológicos, físicos, histológicos e anatômicos. **Metodologia:** O estudo foi do tipo comparativo, feito por intermédio de revisão bibliográfica, com abordagem qualitativa, através de uma revisão sistematizada nas bases de dados: LILACS, SCIELO, BVS e PUBMED além de outras publicações eletrônicas de respaldo em território nacional, no período entre 2010 a 2020. **Resultados:** Nossos estudos demonstram que os miRs podem ter valores mais significativos que os atuais biomarcadores utilizados, sendo promissores para uso clínico, podendo potencialmente identificar pacientes com diagnóstico de TGCC. **Discussão:** Os biomarcadores mais comuns utilizados para a identificação do câncer testicular (AFP, LDH, B-HCG) a muito tempo veem apresentando uma taxa satisfatória de sucesso em seus resultados, porém com o avanço tecnológico novas técnicas e meios de rastreio mais eficazes surgiram com a pesquisa na utilização dos microRNA's. **Conclusão:** Em conclusão, mostramos que miR-371a-3p, miR-373-3p e miR-367-3p são biomarcadores potencialmente valiosos em pacientes com TGCC metastático. Esses miRs devem ser avaliados posteriormente antes de serem incorporados como parte da prática clínica para identificar pacientes com maior risco de desenvolver uma recaída após uma resposta bioquímica completa ou que desenvolvam doença refratária.

Palavras chave: Biomarcadores; Câncer testicular; microRNA.

ABSTRACT

Introduction: One of the most prevalent cancers in men is testicular cancer, currently representing approximately 1% of all tumors in the body. Biomarkers are of great importance for the clinical area, the wide variety of biomarkers allows different types of neoplasms to be diagnosed, because for each of them there is a specific type of marker, whether they are genetic, biochemical, physiological, physical, histological and anatomical. **Methodology:** The study was of a comparative type, carried out through bibliographic review, with a qualitative approach, through a systematic review in the databases: LILACS, SCIELO, BVS and PUBMED in addition to other electronic publications supported in the national territory, in the period between 2010 to 2020. **Discussion:** The most common biomarkers used for the identification of testicular cancer (AFP, LDH, B-HCG) have long been showing a satisfactory rate of success in their results, however with technological advances new techniques and more effective screening methods have emerged with research on the use of microRNA's. **Results:** Our studies demonstrate that miRs can have more significant values than the current biomarkers used, being promising for clinical use, potentially being able to identify patients diagnosed with GCCT. **Conclusion:** In conclusion, we show that miR-371a-3p, miR-373-3p and miR-367-3p are potentially valuable biomarkers in patients with metastatic TGCC. These miRs should be evaluated later before being incorporated as part of clinical practice to identify patients at a higher risk of developing a relapse after a complete biochemical response or who develop refractory disease.

Keywords: Biomarkers; Testicular cancer; microRNA.

RESUMEN

Introducción: uno de los cánceres más frecuentes en los hombres es el cáncer de testículo, que actualmente representa aproximadamente el 1% de todos los tumores en el cuerpo. Los biomarcadores son de gran importancia para el área clínica, la gran variedad de biomarcadores permite diagnosticar diferentes tipos de neoplasias, porque para cada uno de ellos hay un tipo específico de marcador, ya sea genético, bioquímico, fisiológico, físico, histológica y anatómica. **Metodología:** El estudio fue de tipo comparativo, realizado mediante revisión bibliográfica, con enfoque cualitativo, a través de una revisión sistemática en las bases de datos: LILACS, SCIELO, BVS y PUBMED además de otras publicaciones electrónicas respaldadas en el territorio nacional, en el período entre 2010 y 2020. **Resultados:** nuestros estudios demuestran que los miR pueden tener valores más significativos que los biomarcadores actuales, siendo prometedores para el uso clínico y potencialmente identificando pacientes diagnosticados con GCCT. **Discusión:** Los biomarcadores más comunes utilizados para la identificación del cáncer testicular (AFP, LDH, B-HCG) han mostrado durante mucho tiempo una tasa satisfactoria de éxito en sus resultados, sin embargo, con los avances tecnológicos, han surgido nuevas

técnicas y métodos de detección más efectivos. con investigación sobre el uso de microARN. **Conclusión:** en conclusión, mostramos que miR-371a-3p, miR-373-3p y miR-367-3p son biomarcadores potencialmente valiosos en pacientes con TGCC metastásico. Estos miR deben evaluarse más tarde antes de incorporarse como parte de la práctica clínica para identificar a los pacientes con mayor riesgo de desarrollar una recaída después de una respuesta bioquímica completa o que desarrollen una enfermedad refractaria.

Palabras clave: biomarcadores; Cancer testicular; microARN.

1. INTRODUÇÃO

Como definição, segundo [1] o câncer abrange um grupo com mais de 100 doenças caracterizadas pelo crescimento desordenado de células que possuem a capacidade de se espalharem entre os tecidos e órgãos próximos à estrutura afetada inicialmente no ser humano, processo conhecido como metástase. O câncer é considerado um problema de saúde pública, enfrentado pelo sistema de saúde brasileiro e mundial em vista de sua amplitude epidemiológica, social e econômica.

As neoplasias testiculares compõem aproximadamente 1% dos cânceres do sexo masculino. Dentre eles, os tumores que têm origem nas células germinativas (TGCT) possuem maior frequência [2].

Os tumores testiculares podem ser classificados como seminomatosos ou não-seminomatosos, sendo que este último tem pior prognóstico. Estudos afirmam que normalmente apresentam-se com sintomas somente testiculares, mas em cerca de 10% dos casos, podem apresentar sintomas decorrentes da metástase que atinge órgãos e tecidos próximos, principalmente dor abdominal e sintomas respiratórios. Em alguns casos, apresentam achados atípicos, o que pode dificultar o diagnóstico [3].

Um diagnóstico precoce com estadiamento correto, permite estabelecer o tratamento mais adequado para cada paciente, atingindo uma alta taxa de sobrevida, em torno de 95% aos 5 anos em estágios iniciais [4].

Para obter um bom diagnóstico, os biomarcadores podem atender a muitas necessidades clínicas. De acordo com o National Cancer Institute (NCI), um biomarcador é "uma molécula biológica encontrada no sangue, outros fluidos corporais ou tecidos que é sinal de um processo normal ou anormal, ou de uma condição ou doença" (NCI), como o câncer. Os biomarcadores normalmente diferenciam um paciente afetado de uma pessoa sem a doença. As alterações podem ser devidas a vários fatores, incluindo mutações somáticas ou da linha germinativa, alterações transcricionais e modificações pós-traducionais. Existe uma enorme variedade de biomarcadores, que podem incluir proteínas (por exemplo, uma enzima ou receptor), ácidos nucleicos (por exemplo, um microRNA ou outro RNA não codificante), anticorpos e peptídeos, entre outras categorias [5].

Muitos estudos mostram uma grande variedade de biomarcadores presentes na atualidade, porém muitos deles apresentam pouca especificidade, impossibilitando assim um prognóstico de forma precoce e com resultados confiáveis. Por outro lado os micro RNA's revelam ter resultados mais confiáveis. A exemplo de pacientes que foram submetidos a cirurgia onde os níveis de miR caíram durante três dias após o procedimento, sendo assim, sua velocidade de decaimento esta diretamente relacionada com o tratamento do tumor. Os miRs são moléculas pequenas de RNA, que possuem uma pequena cadeia de 22 nucleotídeos de natureza não codificante e que conseguem influenciar a expressão gênica pós-transcricional através da ligação e interação com seus RNA's mensageiros alvo. Os miRs tem grande potencial como biomarcadores estáveis e mensuráveis em tecido e também em fluidos corporais [23].

Os biomarcadores são de grande importância para a área clínica, pois auxiliam no diagnóstico e estadiamento nos casos de cânceres, estes necessitam de extremo cuidado. A grande variedade de biomarcadores permite que diversos tipos de neoplasias sejam diagnosticados, pois para cada uma delas tem-se um tipo de marcador específico, sejam eles, genéticos, bioquímicos, fisiológicos, físicos, histológicos e anatômicos. No câncer de testículo, os biomarcadores de maior importância a serem estudados serão aqueles cuja especificidade e sensibilidade sejam maiores, para maior detecção do tipo de neoplasia chegando a um diagnóstico precoce, dando ao paciente uma maior chance de cura ou também em casos de recidiva. Para isso o profissional o biomédico pode atuar na realização de técnicas como obtenção de amostras, análises e tratamento do paciente, promovendo diagnóstico rápido e antecipado para o câncer através de biomarcadores, fazendo com que assim o custeamento do tratamento possa ser menor, já que com o diagnóstico precoce podem ser evitadas as metástases e até mesmo cirurgias complexas.

2. CÂNCER DE TESTÍCULOS

A palavra câncer vem do grego *karkínos*, que quer dizer caranguejo, e foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates, o pai da medicina, que viveu entre 460 e 377 a.C. O câncer não é uma doença nova. O fato de ter sido detectado em múmias egípcias comprova que ele já comprometia o homem há mais de 3 mil anos antes de Cristo. Atualmente, câncer é o nome geral dado a um conjunto de mais de 100 doenças, que têm

em comum o crescimento desordenado de células, que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos [6].

Existem vários tipos de câncer, e mesmo raro o carcinoma testicular vem aumentando o seu número de prevalência, o fator que torna câncer testicular raro é o motivo de ser um dos poucos cânceres malignos onde os marcadores de tumores séricos são confiáveis e estão disponíveis para ajudar a orientar o controle da doença. Gonadotrofina coriônica humana, alfa-fetoproteína e lactato desidrogenase desempenham papéis extremamente importantes no diagnóstico, estadiamento, prognóstico, monitoramento da resposta ao tratamento e vigilância de tumores de células germinativas seminomatosos e não-seminomatosos [7].

De acordo com [8] cerca de 50% dos cânceres de testículo são representados pelos seminomas que surgem por volta da terceira década de vida, 40% é representado pelos tumores das células germinativas não seminomatosos que ocorrem em maior número na segunda década de vida, os 10% restantes são tumores combinados e que possuem elementos de seminomas e não seminomas.

2.1 DIAGNÓSTICO

Um estudo realizado por [9] mostra que o diagnóstico do câncer testicular é feito com base em exames clínicos dos testículos e anamnese para excluir aumento de linfonodos e massas abdominais. Além disso, pode ser realizado ultrassom dos testículos para confirmar a presença ou não de nódulos e/ou cistos, sempre em homens jovens com massas retroperitoneais ou elevação dos marcadores tumorais séricos, tais como:

(AFP alfa-fetoproteína e hCG gonadotrofina coriônica humana e LDH lactato desidrogenase). Atualmente, este tipo de exame de imagem deve ser realizado mesmo na presença clínica de um tumor clinicamente evidente.

Apresenta-se normalmente como nódulos testiculares indolores, percebidos muitas das vezes através da manipulação ocasional do escroto, entretanto é comum gerar também edema testicular, sensação de peso e desconforto na região afetada e quando a doença atinge a fase metastática, a dor dorsal é a queixa mais frequente, principalmente devido a metástases na região do retroperitônio, podem ocorrer ainda casos de ginecomastia em 5% das vítimas, principalmente associado a altos níveis de gonadotrofina coriônica (HCG) [10].

2.2 EPIDEMIOLOGIA

O câncer de testículo tem incidência de cerca de cinco casos para cada grupo de 100 mil indivíduos. Quando comparado a outros cânceres que atingem humanos do sexo masculino, o câncer de testículo apresenta baixo índice de mortalidade. Destaca-se ainda o fato de ter maior incidência em pessoas jovens e sexualmente ativas, possibilitando até mesmo a chance deste câncer ser confundido ou até mascarado por orquitepididimites (DST com ligação à bactéria *Chlamydia trachomatis*). Felizmente, o câncer testicular é considerado um dos mais curáveis, principalmente se detectado em estágio inicial [11].

Segundo [12] mesmo por se tratar de uma doença rara, vem aumentando sua incidência nas últimas décadas a exemplos de países desenvolvidos da Europa Ocidental, América do Norte e Oceania.

Uma projeção da mortalidade para o Brasil e regiões brasileiras feita por [13] a respeito do câncer de testículos mostra que todas as regiões brasileiras apresentarão um aumento das taxas de mortalidade até 2030.

Tabela 1 - Mortalidade por câncer genital no Brasil e regiões: taxa de mortalidade padronizada à população mundial (ASW/100.000 hab) nos períodos observados e projetados no Brasil no período de 1996-2030.

	OBSERVADO			PROJETADO			
	1996-2000	2001-2005	2006-2010	2011-2015	2016-2020	2021-2025	2026-2030
Testículos							
Brasil	0,22	0,25	0,27	0,30	0,32	0,34	0,36
Nordeste	0,08	0,10	0,15	0,19	0,23	0,26	0,27
Norte	0,12	0,20	0,22	0,25	0,28	0,28	0,27
Sudeste	0,24	0,25	0,29	0,33	0,37	0,40	0,42
Sul	0,46	0,52	0,48	0,47	0,47	0,47	0,48
Centro Oeste	0,18	0,23	0,23	0,27	0,31	0,34	0,34

Tabela 1 Fonte: Adaptado de [13].

Tabela 2 - Incidências de Câncer Testicular por etnia.

RAÇA/ETNIA	PROPORÇÃO ANUAL POR 100.000 HOMENS
TODAS AS RAÇAS	5,4
Branco	6,3
Negro	1,3
Asiáticos	1,7
Indio Americano/Nativo de Alaska	4,6
Espanhóis	4,0

Tabela 2 Fonte: Adaptado de [14].

Figura 1 - Taxa de incidência mundial

Figura 1 Fonte: Adaptado de [15].

2.3 FATORES DE RISCO

Acredita-se que a criptorquidia esteja associada a um risco relativo aumentado de tumor testicular de 4,8 vezes. Estudos referem que o desenvolvimento de células germinativas está comprometido no testículo mal descido, após o primeiro ano de vida, contribuindo para um estado de subfertilidade e desenvolvimento de carcinoma in situ, predispondo o indivíduo ao risco de neoplasia. O mecanismo pelo qual a criptorquidia

contribui para o desenvolvimento de malignidade encontra-se ainda pouco claro. No entanto, acredita-se que a criptorquidia e o tumor testicular tenham uma causa comum in útero e ainda que a localização anômala do testículo exponha-o a factores ambientais adversos que promovam o desenvolvimento de neoplasia. A orquidopexia apesar de não prevenir a carcinogénese, permite uma maior vigilância testicular [16]

O tipo mais comum de tumor nos testículos criptorquídeos é o seminoma, que se acredita derivar de células germinativas pré-natais pluripotentes. De acordo com [17] Estudos recentes mostraram que as células seminoma e seu precursor carcinoma in situ expressam uma série de marcadores.

Entretanto, novas pesquisas sugerem que a exposição a vários fatores na adolescência e na vida adulta também está ligada ao desenvolvimento do câncer testicular. Podem ser citadas: combate a incêndios e manutenção de aeronaves e exposição ambiental a pesticidas. Estas exposições provavelmente estão associadas a um risco aumentado de desenvolver câncer testicular. Por outro lado, alguns fatores que acreditava-se ser considerado de risco foram desmistificados, dentre eles: dieta, tipos de atividade física, serviço militar, bem como exposição à radiação ionizante, eletricidade e acrilamida (substância utilizada para retratar água e distribuir novamente para a população) não aumentam o risco de desenvolver câncer testicular. Outras exposições ainda exigem mais estudos pois não se sabe ao certo se pode ou não ser consideradas como fator de risco, entre elas: exposições ao calor, cloreto de polivinil (PVC), radiação não ionizante, metais pesados, bifenilos policlorados (mistura de hidrocarbonetos derivados do petróleo) e também o uso de *Cannabis* [15].

2.4 TRATAMENTO

O tratamento inicia de acordo com o volume da doença avaliado através do estadiamento radiológico e pelo marcador tumoral após a orquiectomia. Na doença que se mostrar de baixo volume, o objetivo é diminuir a morbidade relacionada ao tratamento, mantendo uma alta taxa de cura. Em pacientes com doença de alto volume ou avançada, especialmente aqueles pertencentes à categoria de risco intermediário, o objetivo do tratamento é melhorar a resposta à quimioterapia com morbidade aceitável do paciente [18].

De acordo com [19] as taxas de cura para o câncer testicular são de até 97% para todas as fases que são alcançadas. Entretanto, a cura depende diretamente diagnóstico e instalações de tratamento especializado para pacientes com doença avançada. A maioria dos pacientes encontram-se com doença de baixo estágio, nesse caso o principal objetivo do tratamento é reduzir os riscos relacionados a toxicidades a longo prazo, incluindo também a previsão de cânceres secundários. Desta forma, atualizações regulares das diretrizes atuais são necessárias para alcançar o melhor resultado de tratamento possível.

3. METODOLOGIA

O presente trabalho foi uma revisão de literatura integrativa, com abordagem qualitativa, através de uma revisão sistematizada nas bases de dados LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), SCIELO (Scientific Eletronic Library Online), BVS (Biblioteca Virtual de Saúde) e PUBMED (US National Library of Medicine National Institutes of Health), além de outras publicações eletrônicas de respaldo em território nacional, cuja trajetória metodológica se apoiou nas leituras exploratórias e seletivas desse material.

Para seleção do material foi respeitado os critérios de inclusão, fazendo parte da pesquisa apenas artigos científicos nacionais e internacionais publicados em português, inglês e espanhol entre o período de 2010 a 2020, desde que se referenciem ao estudo de biomarcadores tumorais utilizados na identificação de câncer testicular. Quanto aos critérios de exclusão: artigos científicos em idioma diferente do incluso, publicações anteriores ao período referido.

A pesquisa dos artigos científicos foi através do método Booleano usando conectores (e; and; no), a triagem dos artigos foi realizada avaliando primeiramente o título do trabalho e verificando ligação com a abordagem do tema, em seguida foram analisados os resumos dos trabalhos e por fim os artigos selecionados foram lidos na íntegra.

4. RESULTADOS

Vários estudos vêm sendo realizados nos últimos anos para verificar e melhorar a eficácia dos diagnósticos para o câncer de testículo como vem sendo apontado na seguinte tabela (Tabela 03).

Tabela 03: Principais abordagens para estudo de câncer testicular no Brasil e no Mundo.

Autor/Ano	Biomarcador utilizado no estudo	Abordagem do tema
MEYTS et al., 2015	miR-371-3 cluster, miR-302 e miR-367	Demonstram especificidade e sensibilidade de 99–100% desses testes para a detecção do câncer testicular
MURRAY et al., 2016	miR-371a-3p, miR-372-3p, miR-373-3p e miR-367-3p	O estudo aborda principalmente a melhor utilização dos RNAs no diagnóstico de tcg sendo mais específicos e sensíveis que o LDH E AFP por exemplo.
DIECKMANN, 2017	miR-371-3 e miR-302/367	O objetivo do presente estudo foi avaliar ainda mais a utilidade de miR-371a-3p, miR-372-3p, miR-373-3p e miR-367-3p como biomarcadores séricos de TCG em uma grande amostra não selecionada de pacientes.
VAN AGTHOVEN, 2017	miR-371a-3p, miR-373-3p, e miR-367-3p	Nesse estudo o objetivo do autor é mostrar a eficácia do uso dos micro RNA's quando os biomarcadores de proteínas não são específicos a um grupo que apresentam TGCT.
RADTKE, 2018	miR-371a-3p	O estudo tem como objetivo mensurar a sua meia vida curta do miR-371a-3p em um grupo de pacientes num pós operatório reforçando sua alta sensibilidade
TERBUCH et al., 2018	miR-371a-3p e miR-367	O objetivo deste estudo foi investigar se esses miRNAs também são informativos na detecção de recorrência da doença em pacientes com TGCT após terapia curativa de primeira linha.
BOELLAARD et al., 2019	miR-371a-3p	MicroRNA biomarcador de biópsia líquida expresso em todos os elementos histológicos do câncer, exceto teratoma maduro, entretanto testículos, sêmen e soro normais de homens com testículos comprometidos porém sem câncer podem conter níveis de miR - 371a - 3p acima do limiar, sendo sua origem desconhecida.

PLAZA et al., 2019	miR-371a-3p, miR-373-3p e miR-367-3p	Os níveis de miR-371a-3p, miR-373-3p e miR-367-3p apresentaram o resultado de que no início da quimioterapia, foram positivamente correlacionados ao LDH, comprovando sua efetividade para rastreamento do câncer testicular.
ALMSTRUP et al., 2020	miR-371a-3p	O estudo relata uma superioridade dos RNAs sobre os marcadores tumorais séricos, dando ênfase ao miR-371a-3p tendo até 90% de sensibilidade.
QIN et al., 2020	miR-200c-3p, miR-25-3p e miR-302a-3p) e (miR-367-3p, miR-519d-3p e miR-96-5p	Neste estudo, foram investigados extensivamente os pares de regulação de TF e miRNA, suas FFLs e redes reguladoras mediadas por TF-miRNA em dois tipos principais de tumores de células germinativas testiculares (TGCT): seminoma (SE) e não-seminoma (NSE), sendo também de acordo com o autor uma pesquisa pioneira na descoberta sistemática da regulação de TF e miRNA e sua co-regulação em dois subtipos principais de TGCT.

Fonte: Elaborada pelos autores (2020).

Tendo como foco os MicroRNA's atuando como biomarcadores de câncer testicular, tratar-se de um assunto recente observa-se muitas similaridades entre eles, obviamente estão em fase de testes e todos os estudos encontrados mostram que a utilização destes MicroRNA's tem obtido sucesso e possivelmente terão um futuro promissor quanto a sua utilização. (Tabela 04).

Tabela 04: Pesquisa de microRNA's e sua eficácia para tratamento de câncer testicular.

AUTORES/ANO	BIOMARCADOR	RESULTADOS DOS ESTUDOS
MEYTS et al., 2015	miR-371-3 cluster, miR-302 e miR-367	Demonstram especificidade e sensibilidade de 99–100% desses testes para a detecção do câncer testicular

RADTKE et al., 2018	miR-371a-3p	O estudo foi realizado com base na meia vida do microRNA em pacientes que se encontram no pós operatório com idade mediana de 40 anos, os níveis caíram gradativamente durante 3 dias e a velocidade do decaimento está relacionada ao tamanho do tumor.
BOELLAARD et al., 2019	miR-371a-3p	MicroRNA biomarcador de biópsia líquida expresso em todos os elementos histológicos do câncer, exceto teratoma maduro, entretanto testículos, sêmen e soro normais de homens com testículos comprometidos porém sem câncer podem conter níveis de miR - 371a - 3p acima do limiar, sendo sua origem desconhecida.
PLAZA et al., 2019	miR-371a-3p, miR-373-3p e miR-367-3p	Os níveis de miR-371a-3p, miR-373-3p e miR-367-3p apresentaram o resultado de que no início da quimioterapia, foram positivamente correlacionados ao LDH, comprovando sua efetividade para rastreamento do câncer testicular.
DAS, 2019	miR-302s	A alta expressão de miRNAs em TGCTs indica que eles podem atuar como oncogenes. Ainda não ha confirmação completa do papel dos clusters miR-302/367 nos TGCTs, no entanto, esses atuam como genes supressores de

		tumores em vários outros cânceres além dos TGCT's.
TERBUCH et al., 2018	miR-371a-3p	O miR-371-3p tem efetividade notada mesmo em amostras com maior tempo de armazenamento, além de trazer consigo resultados mais claros, pois nos marcadores tradicionais podem haver resultados que não condizem com o real estado do paciente
AGTHOVEN, 2017	miR-371a-3p	Os níveis séricos de B-HCG, AFP e LDH foram considerados aceitáveis e informativos em 4/6, 3/6 e 3/6 respectivamente nos pacientes. No diagnóstico primário, os níveis de miR-371a-3p e miR-373-3p foram elevados em 4/4 e miR-367-3p em 3/4 dos pacientes.
DIECKMANN, 2012	miR-371-3	Os níveis séricos de miRNAs 371-3 se mostram muito eficientes. Auxiliando desde o primeiro estágio até o pós operatório. Os níveis de de MicroRNAs miR-371-3 no sangue periférico excedem em todos os estágios, o que o torna um excelente marcador.

Fonte: Elaborada pelos autores (2020).

Pode-se ainda observar que a utilização do miR-371a-3p é notada como o mais promissor trazendo consigo um alto índice de sensibilidade e especificidade, dito isso, em grande parte dos artigos o mesmo é citado e de forma positiva e favorável para o diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença.

5. DISCUSSÃO

Os biomarcadores mais comuns utilizados para a identificação do câncer testicular (AFP, LDH, B-HCG) a muito tempo vem apresentando uma taxa satisfatória de sucesso em seus resultados, trazendo consigo auxílio importante no diagnóstico e prognóstico da doença, porém com o avanço tecnológico novas técnicas e meios de rastreamento mais eficazes surgiram com a pesquisa na utilização dos microRNA's. Esse estudo foi baseado em explorar e avaliar futuras possibilidades de utilização dos novos biomarcadores, tendo em mente que a genética é um dos campos da medicina que estão mais à frente em tratamentos não só oncológicos, mas também de várias outras doenças. Estudos recentes já comprovam que a utilização destas moléculas como biomarcadores vem apresentando resultados altamente satisfatórios que buscam futuramente substituir os biomarcadores anteriormente citados assim como outros procedimentos invasivos como a biópsia, trazendo ao paciente uma maneira mais confortável e com a mesma segurança na obtenção do seu diagnóstico.

No que se refere a biomarcadores tumorais, de acordo com [31] são substâncias com características específicas, localizadas no próprio tecido tumoral, no sangue ou em outros fluídos biológicos. Essas substâncias são produzidas pelo próprio tumor ou pelo organismo em resposta ao surgimento de alguma neoplasia. Um bom biomarcador é aquele que pode ser detectado mesmo através de pequenas quantidades de células tumorais, ou seja, aquele que é grandemente sensível à formação do câncer, permitindo seu diagnóstico precoce. Estes ainda devem ser específicos para determinado tipo de tumor, além estar diretamente relacionados a tumores de regiões específicas, no caso do câncer testicular: AFP, B-HCG e LDH. Para cada biomarcador existe um nível de referência já estabelecido, ou seja, pacientes que apresentam valor acima dos valores estabelecidos devem ser cuidadosamente avaliados

Os marcadores tumorais fazem partes de componentes celulares, estruturais e bioquímicos, não apenas em células tumorais, eles podem ser proteínas ou pedaços de

proteínas, sendo de grande importância para a área clínica, auxiliando para desenvolvimento em novas modalidades de tratamento. Existe dois tipos de marcadores tumorais, os intermediários que mede as alterações celulares e moleculares antes de aparecer uma malignidade, e aqueles que apresentam o diagnóstico, este último pode estar presente com a malignidade [32].

O uso de biomarcadores é um exame complementar, devendo sempre, quando necessário fazer sua utilização, e se possível acompanhado de outros métodos para diagnóstico ou modificação terapêutica. [33] Afirma que bom diagnóstico com biomarcador mostrará que inicialmente se apresentara em níveis elevados e que após o tratamento ou intervenção química seu nível volta ao normal, revelando que este biomarcador têm uma resposta favorável ao tratamento. Em contrapartida, um biomarcador persistentemente elevado, ou em que seus níveis não param de subir, está relacionado com uma alta probabilidade de a doença ser recorrente ou progressiva e deve ser analisada como suspeita de doença metastática

Tabela 05 - Marcadores séricos e teciduais para tumores testiculares atualmente disponíveis.

Marcador	Uso proposto	Fase de desenvolvimento	Nível de evidência	Referência
Marcadores séricos estabelecidos				
AFP	Diagnóstico	Geralmente disponível	II	(4, 65, 73, 89)
	Prognóstico/Estadiamento		I	
	Controle/Vigilância		II	
hCG	Diagnóstico	Geralmente disponível	II	(4, 89, 103)
	Prognóstico/Estadiamento		I	
	Controle/Vigilância		II	
LDH	Prognóstico/Estadiamento	Geralmente disponível	I	(63, 109)
Marcadores séricos experimentais potencialmente úteis				
hCGb	Diagnóstico	Experimental	IV	(96, 103)
	Controle			
LD-1	Diagnóstico	Experimental	IV	(109)
	Estratificação de risco			
PLAP	Diagnóstico	Experimental	IV	(111, 112)
NSE	Diagnóstico	Experimental	IV	(116, 117)
Marcadores teciduais estabelecidos				
PLAP	Tipo histológico ITGCNU	Anticorpos para imuno-histoquímica geralmente disponíveis	II	(24)
c-KIT, receptor do fator de células mãe	Tipificação de seminoma y ITGCNU	Anticorpos para imuno-histoquímica disponíveis	II	(28)
CD30	Carcinoma embrionário	Anticorpos para imuno-histoquímica geralmente disponíveis	IV	(60, 519)
AFP	Tipo de tumores de saco vitelino e carcinoma embrionário	Anticorpos para imuno-histoquímica geralmente disponíveis	II	(24)
hCG	Tipificação de seminoma e cariocarcinoma	Anticorpos para imuno-histoquímica geralmente disponíveis	II	(24)
Amplificação de 12p	Diagnóstico de tumores extragonadais	Disponibilidade limitada	II	(107, 108)
Invasão vascular	Estratificação de risco	Disponibilidade limitada	II	*(54)
OCT3/4, POU1	Estratificação de risco	Experimental	IV	*(58)

Tabela 3 Abreviações: AFP = α -fetoproteína; hCG = Gonadotrofina coriônica humana; hCGb = subunidade livre da gonadotrofina coriônica humana; LDH = desidrogenase láctica; NSE = enolase neuronal específica; NSGCT = tumores de células germinativas; PLAP = fosfatase

5.1. MICRO RNA'S

MicroRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNA, com aproximadamente 22 nucleotídeos de comprimento, de natureza não codificante. Eles são RNAs de fita única que são conhecidos por influenciar a expressão gênica pós-transcricional através da ligação e interação com seus RNAs mensageiros alvo (mRNAs), por meio de sequências complementares na região 3' não traduzida. Assim, os microRNAs suprimem a tradução de proteínas ou iniciam a degradação do mRNA pelo complexo efetor de interferência de RNA [25].

A definição de microRNA é baseada na sua formação pela ação da enzima RNase III (Dicer), uma RNase que processa precursores com estrutura de hairpin (conhecidos como pri-miRNA) originando o microRNA maduro. Atualmente, mais de 18.000 microRNAs de 168 espécies estão registrados no banco de dados miRBase (miRBase v. 14.0) e 1.921 microRNAs maduros são conhecidos em humanos. (DALELLA et al., 2012).

A maioria dos microRNAs humanos localiza-se em íntrons, em éxons não codificantes ou na região 3' UTR de genes codificadores de proteínas e geralmente ocorrem em grupos. Essa última característica faz com que muitos genes de microRNAs sejam transcritos em um único precursor (pri-miRNA) que, posteriormente, é processado em vários microRNAs maduros. Nos mamíferos, os microRNAs controlam mais de 60% dos genes codificadores de proteínas e participam de muitos processos biológicos, como desenvolvimento, diferenciação, ciclo celular, senescência e apoptose [34].

Os miRs podem controlar pós-tradução a expressão de proteínas nas células, atuam em processos moleculares e são necessários para que tecidos se desenvolvam adequadamente e podem gerar resistência a medicamentos e resposta imune. Podem também prevenir a formação de câncer, mas em casos onde apresentam expressões anormais eles podem influenciar em sua formação. Os miRNAs são moléculas extracelulares que sinalizam a comunicação célula-célula, que também são secretadas por células tumorais no sangue, podendo ser facilmente detectadas. Sua detecção teve sucesso em outros fluidos corporais como: urina, leite materno, plasma seminal, saliva e líquido cefalorraquidiano [39].

Foi demonstrado que os miRNAs possuem um grande potencial como biomarcadores estáveis e mensuráveis em tecidos e fluidos corporais. Nos últimos anos, muitos estudos encontraram expressão alterada de miRNA em diferentes tipos de

malignidades, sugerindo seu impacto na carcinogênese como miRNAs supressores de tumores, bem como miRNAs oncogênicos. Por exemplo, os miRNAs são expressos diferencialmente em vários subtipos de sarcoma de tecidos moles e, portanto, mostram potencial como ferramentas de diagnóstico em casos desafiadores [25].

5.2. AFP

Alfa-feto proteína é classificada como uma glicoproteína fetal e pode estar associada ao crescimento tumoral, fisiologicamente pode ser secretada e sintetizada nos hepatócitos fetais, células do trato gastrointestinal e células germinativas, que é o caso do câncer testicular, com o nascimento sua concentração no sangue diminui gradativamente até o primeiro ano de vida, depois disso seu nível sérico se mantém em 10 ng/ml, índices mais altos que o nível sérico de AFP podem estar associados a um possível crescimento tumoral de câncer testicular. A AFP vem sendo estudada como marcador tumoral a cerca de 40 anos, possibilitando através desta observar o crescimento tumoral [35].

Em cerca de 70% de tumores testiculares são encontrados a AFP, sendo sintetizada pelo carcinoma embrionário puro, teratocarcinoma, tumor de saco vitelínico e tumores mistos, coriocarcinoma e seminoma não sintetizam a AFP. É responsável pela monitorização da terapia e concentração juntamente com a persistência da doença revela o tempo de crescimento tumoral. Níveis acima de 500ng/mL sugerem malignidade, e valores acima 1000ng/mL podem indicar de presença de neoplasia [32].

Em seu estudo [36] afirma que sua meia-vida é de 4 a 6 dias. Na ausência de malignidade testicular, a elevação desta glicoproteína pode ocorrer em crianças menores de 1 ano, disfunção hepática (hepatite, cirrose) e outros cânceres não testiculares (fígado, pâncreas, estômago, pulmão). No câncer testicular, a AFP nunca está presente no seminoma puro ou no coriocarcinoma puro.

5.3. B-HCG

A gonadotrofina coriônica humana (HCG) é uma proteína placentária hormônio secretado inicialmente pelas células (sincitiotrofoblastos) o conceito de implantação. HCG desempenha muitos outros papéis, incluindo estimulando o aparecimento da esteroidogênese gonadal fetal, promovendo produção de progesterona do corpo lúteo, imunossupressão e bloqueio da fagocitose de células trofoblásticas invasoras, diferenciação de citotrofoblasto, crescimento e diferenciação de fetos órgãos. É sabido

que um biomarcador é qualquer molécula e alterações químicas que podem ser medidas e usadas para estudar normal ou processo anormal no corpo. Essa molécula pode ser usada como marcador tumoral, pois sua subunidade β é secretada pelo tumor celular. Apesar de haver vários métodos que auxiliam na pesquisa de câncer, o diagnóstico é confirmado principalmente por biópsia. A gonadotrofina no desenvolvimento do câncer é controversa. Os mecanismos que explicam os efeitos pró e anticarcinogênicos ainda não estão totalmente esclarecidos. A subunidade beta da crônica do ser humano a gonadotrofina é expressamente marcada por células neoplásicas de origem histológica diferente, incluindo aquelas presentes no cólon, mama, tumores da próstata e bexiga [37].

O Beta hCG é o marcador tumoral com maior frequência em tumores de testículo seu valor em homens é menor que 5 a 10 UI/L, seus níveis séricos estão elevados em tumores não seminomatoso, cerca de 10 a 20% em estágios iniciais e estágios avançados em 40%. A elevação do hCG no soro caracteriza tumores como coriocarcinoma embrionário puro ou misto, sua produção depende do tamanho do volume do tumor e seus subtipos, o aumento de beta-hCG no soro reflete aumento de volume, mas não necessariamente aumento de metástase [8].

Em homens sem câncer testicular, também podem haver resultados falso-positivos devido ao uso de *Cannabis*. Outros resultados também falso-positivos podem ocorrer em casos de elevação do hormônio luteinizante ou mais comum por conta da presença de anticorpos heterofílicos, ambos resultantes da reatividade cruzada do teste HCG. Em pacientes com câncer testicular, a HCG é sempre elevada na presença de coriocarcinoma e também pode ser elevado na presença de carcinoma embrionário, teratoma e até 10% de seminoma puro [36].

5.4. LDH

A lactato desidrogenase (LDH) é preferencialmente produzido por células neoplásicas e tem importante estudo clínico como marcador de atividade tumoral, permitindo ofertar um bom prognóstico independente de outros parâmetros clínicos [32].

A elevação da LDH é bastante inespecífica e têm sido observados em mais de uma neoplasia, como leucemias, linfomas, câncer de fígado, mama, estômago, cólon, pulmão, neuroblastoma e até mesmo nos testículos. O nível sérico da enzima relaciona-se com a massa tumoral e é útil como indicador prognóstico para progressão da doença. O seu valor na monitorização da terapia é bastante limitado. As isoenzimas fornecem especificidade apenas marginal para comprometimento de órgãos. Por exemplo, a elevação da isoenzima

LDH-5 está associada com metástases hepáticas; a elevação de LDH-5 no líquido pode ser uma indicação precoce de metástases no sistema nervoso central [32].

Cerca de 40 a 60% dos homens com câncer testicular de células germinativas apresentam um aumento nas concentrações de LDH, este possui menor sensibilidade e especificidade que beta-HCG ou AFP para tumores de células germinativas não seminomatosos, porém pode ser o único entre os marcadores que se encontra elevado em seminomas, o aumento de LDH no soro tem valor prognóstico em homens com doença avançada [8]

5.5. MIR-371A-3P, MIR-373-3P E MIR-367-3P

Como já citados, os marcadores tumorais LDH (lactato desidrogenase), AFP (alfa-fetoproteína) e β -HCG (gonadotrofina coriônica humana) produzidos por algumas células cancerígenas e mensuráveis no soro contribuem para estabelecer o diagnóstico, sendo o LDH o marcador menos específico mas, há além deles outras moléculas circulantes no nosso corpo, por exemplo, produtos derivados de tumores que podem ser isolados do sangue, com DNA ou RNA circulantes, exossomos e células tumorais circulantes (CTCs) sendo recentemente estudados em relação ao diagnóstico e progressão de pacientes com câncer. Pequenos RNAs não codificantes, também conhecidos como microRNAs (miRs), são frequentemente desregulados nas células cancerígenas. Especificamente, miR-371a-3p e miR-373-3p, ambos membros do cluster miR-371, foram estudados no TGCC. Alguns estudos mostraram a utilidade potencial dos miRs acima mencionados como novos biomarcadores para diagnóstico e acompanhamento de pacientes com TGCC. O potencial valor clínico dos níveis desses miRs no sangue está na previsão da presença de doença viável ou na detecção de recidivas após a quimioterapia para TGCC ter sido recentemente descrita.

Os marcadores tumorais séricos β -gonadotrofina coriônica humana, α -fetoproteína (AFP) e lactato desidrogenase (LDH) tornaram-se ferramentas essenciais no manejo clínico de tumores de células germinativas testiculares (TCGs) no final da década de 1970. As diretrizes atuais recomendam o uso de medidas de marcadores para estadiamento clínico, monitoramento do tratamento e acompanhamento de pacientes com TCG. Uma grande desvantagem dos marcadores, no entanto, é a baixa sensibilidade geral. Apenas 50% de todos os TCGs expressam um dos três marcadores e os seminomas não possuem expressão de AFP inteiramente. Além disso, a expressão de LDH também é encontrada em várias outras doenças [22].

Além disso, resultados falso-positivos podem ser obtidos, no caso de B-HCG devido a outras doenças malignas, quimioterapia ou uso de maconha e no caso de AFP devido a doença hepática crônica, lesão hepática ou câncer de fígado. Portanto, existe uma necessidade clínica de biomarcadores com uma melhor sensibilidade, especialmente relacionada a seminomas e carcinoma embrionário (puros), para detecção primária de tumores ou metástases. O advento de técnicas como o perfil de microRNA permitiu a identificação de vários pequenos RNAs não codificadores expressos especificamente em TGCC. Em particular, verificou-se que a expressão de miR371a-3p, miR-372-3p, miR-373-3p e o agrupamento miR-302a-d / 367-3p é característica tanto para TGCC quanto para tecidos embrionários, excluindo tecidos totalmente somáticos diferenciados. Foi relatado que esses miRs servem como biomarcadores moleculares séricos circulantes em pacientes com CCG testicular e intracraniano. Verificou-se que o miR-371a-3p supera os outros miRs na detecção de GCCs primários, cuja razão ainda é inexplicável [23].

O consenso atual é que as medições do miR-371a-3p, também chamado de teste M371, superam muito os marcadores clássicos e, portanto, parece necessária uma implementação clínica do teste. No entanto, os dados disponíveis são baseados apenas em sete estudos independentes de tamanho pequeno a moderado, com modos retrospectivos e prospectivos de acúmulo de pacientes, bem como técnicas divergentes de medição de miR. Além disso, a maioria dos pacientes examinados até o momento foram nos primeiros estágios clínicos (CS), e apenas alguns tiveram estágios avançados. Consequentemente, o corpo de evidência é limitado e aberto a preconceitos [22].

Se os níveis séricos da expressão de miR-371a-3p forem usados como biomarcadores específicos do tumor de células germinativas (TCG), o potencial de resultados falso positivos deve ser explorado. Como um grande número de miRNAs séricos circulantes são liberados por vários tipos de câncer, por exemplo, câncer de próstata, câncer de bexiga e carcinoma de células renais, era obrigatório excluir que o miR-371a-3p é liberado de outras neoplasias que não o TCG. O valor médio de quociente de relação (RQ) de neoplasias não testiculares (NTM) não difere significativamente do valor médio de RQ dos controles e ambos os valores médios de RQ (NTMs e controles) são extremamente diferentes do valor médio de RQ dos GCTs CS1. No total, esse resultado está claramente de acordo com a visão do miR-371a-3p sendo específico para os TCGs.

A descoberta de níveis significativamente mais altos de miR-371a-3p na TVB do que no sangue periférico indica que a fonte primária que causa a elevação desse miRNA

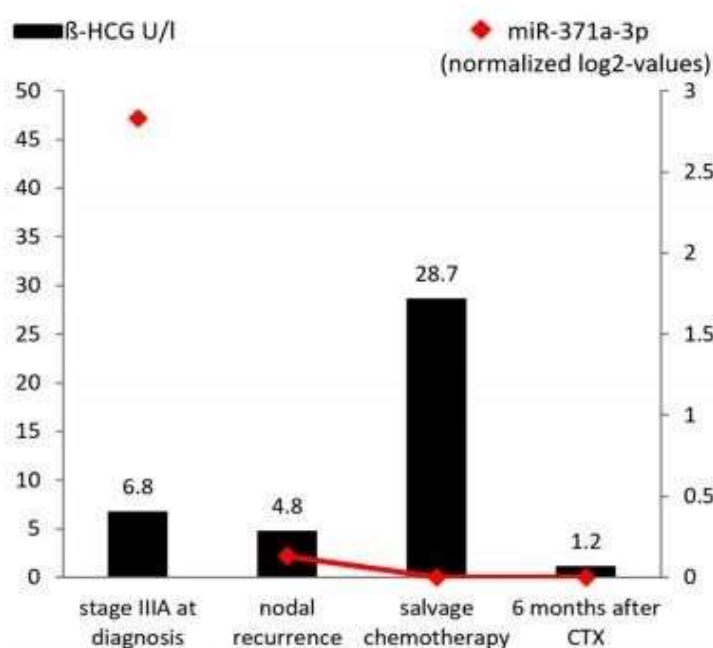
no soro de pacientes com TCG deve ser o próprio tumor testicular. Uma pequena diferença entre os níveis de miR-371a-3p no sangue venoso testicular (TVB) e no sangue venoso cubital (CVB) também foi encontrada nos controles; no entanto, essa diferença foi de apenas 3,4 vezes, enquanto a diferença foi de 27,3 vezes nos pacientes com TCG. Assim, ao todo, os presentes resultados destacam ainda mais a especificidade do miR-371a-3p para os TCGs. É relatado que o miR-367 é outro biomarcador promissor para TCGs testiculares, a medição simultânea de miR-367 e miR-371a-3p pode aumentar ainda mais a especificidade do teste [38].

Em um estudo de Syring et.al, foi avaliado o nível sérico de miR-367-3p em 76 pacientes com TGCT e em 84 pacientes saudáveis. Os pacientes com TGCT tiveram o nível de miR-367-3p aumentados, porém nos níveis de miR-302 não houve aumento entre os dois grupos. Níveis de miR-367-3p foi mais elevado em seminoma do que em não seminoma, depois de ser realizado a orquiectomia, esse níveis diminuíram ou não foram mais detectados. Outros estudos em tumores de células germinativas pediátricos analisou líquido cefalo raquidiano e soro demonstrando que os quatros soros (miR-371a-3p, miR-372-3p, miR-373-3p e miR-367-3p), possuem alta sensibilidade e especificidade para diagnóstico de TCG maligno extracraniano pediátrico. Dessa maneira permite a determinação precoce e sua detecção e em casos de recidiva de um tumor de células germinativas malignas. Não houve detecção no sangue em pacientes com doença benigna. Em lesões testiculares miR-371-3p parece superar a alta sensibilidade do miR-367-3p, com superioridade em prever recidiva de tecido tumoral após o processo de orquiectomia e doença após o processo de recuperação.

O diagnóstico de neoplasia de células germinativas in situ (GCNis) representa um método de detecção precoce de TCG no estágio pré-invasivo. Praticamente, a única maneira de diagnosticar a lesão é a biópsia testicular com exame imuno-histoquímico da amostra. A precisão diagnóstica de uma biópsia de dois locais é alta, com uma especificidade de mais de 90% e uma sensibilidade um pouco menor de cerca de 80 a 85%. Clinicamente, as biópsias testiculares para o diagnóstico de GCNis são consideradas valiosas em populações com alto risco de TCG, principalmente pacientes com TCG unilateral (busca de tumor contralateral) e homens inférteis. Embora a biópsia testicular esteja envolvida com um baixo ônus de complicações de menos de 3%, ela representa um procedimento cirúrgico invasivo com potencial de eventos adversos. Portanto, métodos alternativos para a detecção de GCNis têm sido investigados desde a introdução de biópsias na prática clínica [24].

A figura 2 revela os níveis de miR-371-3p durante o curso da doença de um paciente com seminoma, apresentando os níveis séricos de β -HCG. O gráfico mostra nível alto de miR-371-3p que corresponde respectivamente ao tamanho do tumor com alta carga no diagnóstico inicial com doença em estágio IIIA, com metástase de linfonodo retroperitoneal e recidiva, o nível de miR-371-3p era muito menor no momento do diagnóstico primário. É possível que o nível de miR se tornou indetectável após a quimioterapia e aumentou após a recorrência nodal, existindo a possibilidade também do nível de miR nunca ter se tornado negativo, indicativo de doença residual. Durante o processo curativo de quimioterapia de recorrência nodal o nível de miR-371-3p diminuiu progressivamente e não foi detectável após conclusão do tratamento. Em comparação os níveis de β -HCG aumentaram durante o tratamento, identificando um aumento do marcador tumoral “falso-positivo”, isso se deve à destruição de células cancerosas durante a quimioterapia [25].

Figura 2:



Fonte: Adaptado de Terbuch e Adiprasito, et al., 2018

Figura 2: Exemplo representativo de um curso individual de níveis séricos de miR-371a-3p em um seminoma de paciente com diagnóstico inicial (estágio IIIA), no momento da recidiva (metástases em linfonodos), durante tratamento com quimioterapia e no seguimento de 6 meses sem evidência de doença. O nível de MiRNA é mostrado com um valor transformado em log2.

6. CONCLUSÃO

Em vista do exposto, conclui-se que os miR-371a-3p, miR-373-3p e miR-367-3p são biomarcadores de micro-RNA potencialmente valiosos em pacientes com câncer testicular, além de terem mostrado melhores resultados do que os atuais utilizados, AFP, BHCG, LDH, entre os miR-371a-3p, miR-373-3p e miR-367-3p o miR-371a-3p mostra-se mais utilizado em nível de serviço, por conta do seu alto índice de sensibilidade e especificidade para como o rastreio do carcinoma. Mesmo com grande avanço nos resultados, esses micro-RNAs devem ser avaliados posteriormente antes de serem incorporados como parte da prática clínica para identificar pacientes com maior risco de desenvolver uma recaída após uma resposta bioquímica completa ou que desenvolvam doença refratária. Esses micro-RNAs podem ter um impacto no tratamento inicial de pacientes com TGCT recém-diagnosticados com doença metastática evitando também que os pacientes sejam submetidos a procedimentos invasivos trazendo mais conforto durante o tratamento da doença.

REFERÊNCIAS

- [1] BATISTA, D. R. R.; MATTOS M.; SILVA S. F. CONVIVENDO COM O CÂNCER: DO DIAGNÓSTICO AO TRATAMENTO. Trabalho de conclusão de curso. Mato Grosso: Universidade Federal do Mato Grosso; 2015. 12p. DOI 10.5902/2179769215709. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/reufsm/article/view/15709>
- [2] QUEVEDO F. C. Tumores testiculares não-seminomas: imunoexpressão protéica de EGFR, Her2 E c-Kit. Tese. Botucatu: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Medicina; 2017. 54 p. Doutorado em Patologia.
- [3] BEZERRA C. R. S.; NUNES J. T.; PEREIRA J. G.; GRANJEIRO L. G.; PIMENTEL C. C.; GRANJEIRO L. G.; Tumor seminomatoso no diagnóstico diferencial de abdome agudo. Sorocaba. Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba; **Revista Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, v. 14, n. 2, p. 71 - 73, 2012.
- [4] BARBA, N. V., GARCÍA, C. J. J; GAMBOA, M. J. O. Tumoraición testicular. Revista Clínica de Medicina de Familia, 9 (2), 131-134. 2016. Disponível em: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2016000200013&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- [5] HENRY N. L., HAYES D. F. Cancer biomarkers [DISSERTAÇÃO on the Internet]. Michigan, USA: University of Michigan Comprehensive Cancer Center; 7 p. DOI 10.1016/j.molonc.2012.01.010. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5528374/>.
- [6] DIEGUEZ, C. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer. Rio de Janeiro: INCA; 2017.
- [7] MILOSE, J. C., FILSON, C. P., WEIZER, A. Z., HAFEZ, K. S.; MONTGOMERY, J. S. Role of biochemical markers in testicular cancer: diagnosis, staging, and surveillance. *Open access journal of urology*, 4, 1–8. 2011. DOI: <https://doi.org/10.2147/OAJU.S15063>
- [8] AZAMBUJA, A. A. Expressão de ERCC1, NF-κB e Transglutaminase como fatores preditivos de resposta à quimioterapia em pacientes com Câncer de testículo. Tese (Doutorado). Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- [9] ALBERS, P.; ALBRECHT, W.; ALGABA, F.; BOKEMEYER, C.; COHN-Cedermark, G.; FIZAZI, K.; HORWICH, A.; LAGUNA, M. P. EAU Guidelines on testicular cancer: 2011 update Amsterdam: Universidad De Amsterdam; 2011. 19 p. Disponível em: <https://uroweb.org/wp-content/uploads/Albers-P-et-al.-Act-Urol-Esp-2012-363127-EAU-Guidelines-on-testicular-cancer-2011-update.pdf>.
- [10] CÁRCANO, F. M. Estudo de alterações moleculares e genéticas nos tumores de células germinativas do testículo e suas associações clínico-patológicas. 2016. 98f. Tese (Doutorado). Fundação Pio XII Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, São Paulo, 2016. Disponível em:

<http://www.hcancerbarretos.com.br/upload/doc/4c7254e54e2cb66b0d8a458348dfecd3.pdf>

[11] SOUZA, K. W; REIS P. E. D.; GOMES, I. P.; CARVALHO, E. C. Estratégias de prevenção para câncer de testículo e pênis: revisão integrativa. *Escola de Enfermagem*. 2011. 45(1):277-282. DOI <https://dx.doi.org/10.1590/S0080-62342011000100039>.

[12] NORDSBORG R. B., MELIKER J. R., WOHLFAHRT J., MELBYE M., RAASCHOU-NIELSEN O. Cancer in first-degree relatives and risk of testicular cancer in Denmark. *International Journal of Cancer* Volume 129, Issue 10; 15 p. DOI <https://doi.org/10.1002/ijc.25897>. 2011.

[13] BARBOSA, I. R. Tendências e projeções da mortalidade pelos cânceres específicos ao gênero no Brasil. 126 p. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/19917>.

[14] VALDERRAMA-GÓMEZ, RICARDO ALFREDO, CONDORI-SALDAÑA, JHEIDY, CLAROS-GUTIÉRREZ, GRACE PAMELA, CLAROS-MATIENZO, CLAUDIA ANALÍA, CASO CLÍNICO: CÁNCER TESTICULAR CON METÁSTASIS. *Revista Médico-Científica "Luz y Vida"*. 2011;2(1):76-80. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=325028222016>

[15] MCGLYNN, K. A.; TRABERT, B. (2012). Adolescent and adult risk factors for testicular cancer. *Nature reviews. Urology*, 9(6), 339–349. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2012.61>

[16] DEPREZ L. D. Tumores do Testículo: Implicações na fertilidade masculina [DISSERTAÇÃO]. Coimbra, Portugal: Universidade de Coimbra; 2013. 43 p.

[17] FERGUSON L., AGOULNIK A. Testicular cancer and cryptorchidism [DISSERTAÇÃO on the Internet]. Miami, USA: Department of Human and Molecular Genetics, Herbert Wertheim College of Medicine, Florida International University;; 2013. 9 p. DOI 10.3389/fendo.2013.00032. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3602796/>.

[18] EHRLICH, Y., MARGEL, D., LUBIN, M. A., & BANIEL, J. (2015). Advances in the treatment of testicular cancer. *Translational andrology and urology*, 4(3), 381–390. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4683.2015.06.02>

[19] ALBERS P.; ALBRECHT, W.; ALGABA, F.; BOKEMEYER, C.; COHN-CEDERMARK, G.; FIZAZI, K.; HORWICH, A.; LAGUNA, M. P.; NICOLAI, N.; OLDENBURG, J. Guidelines on Testicular Cancer: 2015 Update. *Eur Urol* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2015.07.044>

[20] MEYTS, E. R., NIELSEN, J. E., SKAKKEBAER, N. E., & ALMSTRUP, K. (2015). Diagnostic markers for germ cell neoplasms: from placental-like alkaline

phosphatase to micro-RNAs. *Folia histochemica et cytobiologica*, 53(3), 177–188.
<https://doi.org/10.5603/FHC.a2015.0020>

[21] MURRAY, M. J., HUDDART, R. A., & COLEMAN, N. (2016). The present and future of serum diagnostic tests for testicular germ cell tumours. *Nature reviews. Urology*, 13(12), 715–725. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.170>

[22] DIECKMANN, K. P., RADTKE, A., SPIEKERMANN, M., BALKS, T., MATTHIES, C., BECKER, P., RUF, C., OING, C., OECHSLE, K., BOKEMEYER, C., HAMMEL, J., MELCHIOR, S., WOSNIOK, W., & BELGE, G. (2017). Serum Levels of MicroRNA miR-371a-3p: A Sensitive and Specific New Biomarker for Germ Cell Tumours. *European urology*, 71(2), 213–220.
<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.07.029>

[23] VAN AGTHOVEN, T., EIJKENBOOM, W.M.H. & LOOIJENGA, L.H.J. microRNA-371a-3p as informative biomarker for the follow-up of testicular germ cell cancer patients. *Cell Oncol.* 40, 379–388 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13402-017-0333-9>

[24] Radtke Arlo, Hennig Finja, Ikogho Raphael, Hammel Johannes Hammel, Anheuser Petra, Wülfing Christian, Belge Gazanfer, Dieckmann Klaus-Peter. The Novel Biomarker of Germ Cell Tumours, Micro-RNA-371a-3p, Has a Very Rapid Decay in Patients with Clinical Stage 1. *Urologia Internationalis* [Internet]. 2018 Apr 26 [cited 2020 Jul 30];100(4):470-475. DOI 10.1159/000488771. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6039090/>.

[25] Terbuch Angelika, Adiprasito Jan B., Stiegelbauer Verena, Seles Maximilian, Klec Christiane, Pichler Georg P., Resel Margit, Posch Florian, Lembeck Anna L., Stöger Herbert, Szkandera Joanna, Pummer Karl, Bauernhofer Thomas, Hutterer Georg C., Gerger Armin, Stotz Michael, Pichler Martin. MiR-371a-3p Serum Levels Are Increased in Recurrence of Testicular Germ Cell Tumor Patients. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2018 [cited 2020 Jul 29];19(3130):1-11. DOI: 10.3390/ijms19103130. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6213366/pdf/ijms-19-03130.pdf>

[26] BOELLAARD, W., GILLIS, A., VAN LEENDERS, G., STOOP, H., van AGTHOVEN, T., DORSSERS, L., DINKELMAN-SMIT, M., BOORMANS, J. L., & LOOIJENGA, L. (2019). Cellular origin of microRNA-371a-3p in healthy males based on systematic urogenital tract tissue evaluation. *Andrology*, 7(4), 463–468.
<https://doi.org/10.1111/andr.12595>

[27] PLAZA, X. R., AGTHOVEN, T. V., MEIJER, C., VAN VUGT, M., DE JONG, S., GIETEMA, J. A., & LOOIJENGA, L. (2019). miR-371a-3p, miR-373-3p and miR-367-3p as Serum Biomarkers in Metastatic Testicular Germ Cell Cancers Before, During and After Chemotherapy. *Cells*, 8(10), 1221. <https://doi.org/10.3390/cells8101221>

- [28] ALMSTRUP K, LOBO J, MØRUP N, et al. Application of miRNAs in the diagnosis and monitoring of testicular germ cell tumours. *Nat Rev Urol*. 2020;17(4):201-213. doi:10.1038/s41585-020-0296-x
- [29] QIN GUIMIN, MALLIK SAURAV, MITRA RAMKRISHNA, LI AIMIN, JIA PEILIN, EISCHEN CHRISTINE M., ZHAO ZHONGMING. MicroRNA and transcription factor co-regulatory networks and subtype classification of seminoma and non-seminoma in testicular germ cell tumors. *Nature Research: Scientific Reports* [Internet]. 2020 [cited 2020 Jul 30];10(852):1-14. DOI 10.1038/s41598-020-57834-w. Available from: <https://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC6972857&blobtype=pdf>
- [30] DAS M. K., EVENSEN H. S. F., FURU K., HAUGEN T. B. MiRNA-302s may act as oncogenes in human testicular germ cell tumours. *Scientific Reports* volume 9, Article number: 9189; 2019. DOI <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45573-6>. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-45573-6#citeas>
- [31] NAOUM S., ROCHA M. S. MARCADORES TUMORAIS UTILIZADOS NO DIAGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA: ANTÍGENO PROSTÁTICO ESPECÍFICO (PSA) E NOVAS PERSPECTIVAS [TESE]. São Paulo: Centro de Pós-Graduação Oswaldo Cruz; 2014. 11 p. Pós Graduação.
- [32] ARAÚJO J. H. G. Principais marcadores tumorais utilizados na prática clínica: uma revisão bibliográfica. Trabalho de conclusão de curso graduação em Farmácia. JOÃO PESSOA: Universidade Federal da Paraíba; 2013. 68 p.
- [33] EL BAROUKI, M. P. Rastreamento do câncer de próstata em homens acima de 50 anos através do exame diagnóstico de PSA. *Revista Eletrônica Gestão e Saúde*, (2), 425-437. 2012.
- [34] DALELLA F. K., MOROZ A., CARVALHO R. F., FELISBINO S. L. Expressão Diferencial de MicroRNAs no Câncer de Próstata. *Revista Brasileira de Cancerologia*; 58(4): 687-693; 2012. 7 p. Botucatu, São Paulo. 2012.
- [35] ATAIDE, E. C.; MACHADO, R. R.; RIBEIRO, M. B. C.; MATTOSINHO, T. J. A. P.; ROMANI, F. A.; ESCANHONELA, C. A. F.; BOIN, I. F. S. F. Correlação do nível de alfa-feto proteína, índice de sobrevida e recidiva tumoral em pacientes submetidos a transplante hepático. *ABCD, arq. bras. cir. dig.* 2011. 24(1): 43-47. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-67202011000100009&lng=pt. <https://doi.org/10.1590/S0102-67202011000100009>.
- [36] KREYDIN, E. I., BARRISFORD, G. W., FELDMAN, A. S., & PRESTON, M. A. (2013). Testicular cancer: what the radiologist needs to know. *AJR. American journal of roentgenology*, 200(6), 1215–1225. <https://doi.org/10.2214/AJR.12.10319>
- [37] RAWI RAFAL AL. β -HCG as a Tumor Biomarker with Special Reference to Breast Cancer. *Journal of scientific e Technical Research* [Internet]. 2017 Jul 28 [cited 2020 Jul 30];1(2):516-517. DOI 10.26717/BJSTR.2017.01.000234. Available from: <https://biomedres.us/pdfs/BJSTR.MS.ID.000234.pdf>

[38] Spiekermann M., Belge G., Winter N., Ikogho R., Balks T., Bullerdiek J., Dieckmann K.-P. MicroRNA miR-371a-3p in serum of patients with germ cell tumours: evaluations for establishing a serum biomarker. AMERICAN SOCIETY OF ANDROLOGY [Internet]. 2014 Aug 06 [cited 2020 Jul 29];2015(3):78-84. DOI 10.1111/j.2047-2927.2014.00269.x. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.2047-2927.2014.00269.x>

[39] Regouc, M., Belge G., Lorch A., Dieckmann KP., Pichler M. Non-Coding microRNAs as Novel Potential Tumor Markers in Testicular Cancer. Cancers (Basel) [Internet]. 2020 Mar; 12(3): 749. Published online 2020 Mar 22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7140096/citedby/>

ANEXO I

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DA REVISTA SOUTH AMERICAN JOURNAL OF BASIC EDUCATION TECHNICAL AND TECHNOLOGICAL - SAJEBTT

A South American Journal EBTT publica seções de Editoriais, Artigos originais, Artigos de revisão, Comunicações breves, Relatos de caso e experiência, Ensaio acadêmico, Resumos de dissertações e teses e Suplementos. A submissão dos manuscritos é realizada nesta plataforma, por meio do Sistema Eletrônico de Editoração de Revista (SEER). Ao publicar um manuscrito, implica na cessão integral dos direitos autorais à South American Journal EBTT, para divulgação eletrônica, do mesmo. O periódico SAJEBTT publicará artigos originais e inéditos, referentes às áreas da Ensino, Educação e Interdisciplinar resultantes de pesquisas desenvolvidas em todas as áreas do conhecimento, considerando as normas editoriais, o tratamento dado ao tema, coerência e rigor metodológico. Os manuscritos deverão lhe ser destinados com exclusividade.

Os textos dos: a) Artigos (Originais e Revisão) deverão ter entre 10 e 40 páginas incluindo o resumo, abstract e as referências. b) Relatos (de Caso e Experiência) e Ensaaios deverão ter entre 5 e 10 páginas incluindo o resumo, abstract e as referências. c) Comunicações breves deverão ter entre 3 e 5 páginas incluindo resumos, abstract e as referências.

Os textos deverão ser escritos, preferencialmente, no idioma português, e idiomas secundários o inglês e espanhol. O texto deverá estar digitado no editor Microsoft Word, em fonte Times New Roman tamanho 12, espaçamento 1,5 entre linhas e justificado. Margens superior e inferior 2,5cm; Esquerda e Direita 3,0 cm. O(s) nome(s) do(s) autor(es) e o título do artigo deve(m) ser incluído(s), por extenso e caixa baixa através dos formulários de metadados, preenchendo atentamente todas as informações solicitadas. Os autores deverão indicar endereço completo e e-mail completo para divulgação no artigo. Também deverão colocar maior nível de titulação, afiliação institucional, função profissional na instituição de origem, cidade, estado e país. Inserir, ainda no item metadados, o endereço para correspondência, telefones para contato. No item URL deve ser disponibilizado o link do currículo Lattes.

Cada manuscrito deverá ser encabeçado por um título em português, em inglês e/ou espanhol, o título não poderá exceder 95 caracteres com espaços. Se o texto estiver escrito em espanhol, o título deverá estar em espanhol e em inglês. O texto deverá apresentar, inicialmente, um resumo entre 500 e no máximo 1000 caracteres, em português, inglês (abstract) e espanhol; para isso ver a NBR 6028, de novembro de 2003 da ABNT. Se o texto estiver escrito em espanhol, deverá ter resumo em espanhol e em inglês (abstract). O resumo não deverá ser redigido na primeira pessoa e deverá conter o foco temático, objetivo, método, resultados e conclusões do trabalho. Deverão ser indicadas entre 3 a 4 palavras-chave em português, inglês e espanhol.

Os manuscritos devem ser escritos de forma clara e fluente. A utilização de notas de fim deve ser para alguma informação de caráter explicativo, não excedendo a utilização de 200 palavras. O autor deverá cuidar para não utilizar referências que possam identificá-lo no processo de avaliação, como “em meus trabalhos anteriores, em minha tese, em minha dissertação”, etc. Se o trabalho for aceito, essas informações poderão constar na versão final do artigo. Para a avaliação dos manuscritos serão observados os seguintes critérios:

- 1) relevância e abrangência do tema;
- 2) caráter inovador, desenvolvimento e aprofundamento do tema;
- 3) estrutura teórica e metodológica do trabalho;
- 4) conclusão e contribuição para à área do estudo apresentado.

As citações devem seguir as normas do estilo Vancouver. Onde as referências bibliográficas devem ser listadas de acordo com a ordem de aparecimento no texto e indicadas por números arábicos entre parênteses colchetes [1] e não pelo sobrenome do autor em ordem alfabética. Como no exemplo abaixo: "... Para este trabalho, o tipo de pesquisa empregada foi à exploratória. **Segundo [6]**, uma pesquisa exploratória proporciona maior familiaridade com o objeto de estudo. Neste caso a utilização de uma ferramenta lúdica como instrumento de complemento didático para abordar conteúdos de forma simples e prazerosa. Para isto empregou-se uma abordagem quanti-qualitativa, os quais busca aprofundar questões objetivas dos fenômenos..."

E nas referências segue:

[1] ROGERS, C.R. Tornar-se pessoa. 5. ed. São Paulo: Martins, 2001.

- [2] OLIVEIRA, R.; CACURO, T.A.; FERNANDEZ, S.; IRAZUSTA, S.P. Aprendizagem Significativa, Educação Ambiental e Ensino de Química: Uma Experiência Realizada em uma Escola Pública. *Revista Virtual de Química*, v.8, n.3, p.913-925, 2016.
- [3] ARMSTRONG, D.L.P. Fundamentos Filosóficos do Ensino de Ciências Naturais. Curitiba: IBPEX, 2008.
- [4] CABRERA, W.B. A ludicidade para o ensino médio na disciplina de biologia: Contribuições ao processo de aprendizagem em conformidade com os pressupostos teóricos da Aprendizagem Significativa. Dissertação (Mestrado em Ensino de Ciências e Educação Matemática) – Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2007.
- [5] TOWNSEND, C.R.; BEGON, M.; HARPER, J.L. Fundamentos em ecologia. 3 ed. São Paulo: Artmed, 2010.
- [6] GIL, A.C. Como elaborar projetos de pesquisa. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2008.