

Identificación de Genes Asociados con la Agresividad del Cáncer de Testículo

<https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2024v70n2.4553>

Identification of Genes Associated with Testicular Cancer Aggressiveness

Identificação de Genes Associados à Agressividade do Câncer Testicular

Graciele de Souza Medeiros¹; Barbara Cardoso de Oliveira²; Vinícius Barbosa Parula Fernandes³; Vinicius Santos Cardoso⁴; Gabriel Arantes dos Santos⁵; Poliana Romão da Silva⁶; Sabrina Thalita dos Reis⁷

RESUMEN

Introducción: Los tumores de células germinales testiculares representan aproximadamente el 97% de los cánceres de testículo. Histológicamente se clasifican en seminomas y no seminomas, teniendo aplicabilidad diagnóstica y pronóstica. El éxito terapéutico depende de un diagnóstico temprano asociado a una correcta estadificación, siendo esta última altamente beneficiosa debido a los marcadores genéticos que indican cómo tratar la enfermedad. **Objetivo:** Identificar genes que puedan estar correlacionados con el pronóstico y la supervivencia en el cáncer testicular. **Método:** El análisis bioinformático se realizó utilizando 137 muestras de cáncer testicular de *The Cancer Genome Atlas* y 165 muestras de tejido testicular normal de *The Genotype-Tissue Expression*. La identificación de genes y los análisis posteriores se realizaron utilizando GEPIA2. **Resultados:** Inicialmente, en relación con la expresión génica, se evaluaron los 500 genes más significativamente asociados con la supervivencia global del cáncer testicular y los 500 con la supervivencia libre de enfermedad. Luego se superpusieron estas dos listas y se construyó un diagrama de Venn que muestra los 13 genes en común. De ellos, sólo se mantuvieron las codificantes de proteínas, comprobando cuáles diferían significativamente del tejido normal en relación con la expresión génica. Sólo ATP10A, SAMD14 y PCAL4 mostraron una diferencia estadísticamente significativa, todos los cuales estaban subexpresados en el cáncer testicular. El análisis conjunto de estos fue aún más significativo para la supervivencia general y libre de enfermedad. **Conclusión:** Los tres genes que se identificaron en este análisis *in silico* se expresan diferencialmente y demostraron una asociación significativa entre su expresión, la supervivencia y pronóstico de los pacientes con cáncer testicular.

Palabras clave: Neoplasias Testiculares; Células Germinativas; Biología Computacional/estadística & datos numéricos; Pronóstico.

ABSTRACT

Introduction: Testicular germ cell tumors represent approximately 97% of testicular cancers. Histologically, they are classified into seminomas and non-seminomas, having diagnostic and prognostic applicability. Therapeutic success depends on early diagnosis associated with correct staging, the evaluation of biomarkers is important for the correct management of this disease. **Objective:** To identify genes that may be correlated with prognosis and survival in testicular cancer. **Method:** Bioinformatics analysis was performed using 137 testicular cancer samples from The Cancer Genome Atlas and 165 normal testicular tissue samples from The Genotype-Tissue Expression. Gene identification and subsequent analyzes were performed using GEPIA2. **Results:** Initially, in relation to gene expression, the 500 genes most significantly associated with overall survival from testicular cancer and the 500 with disease-free survival were evaluated. These two lists were then superimposed and a Venn diagram was constructed showing the 13 genes in common. Of these, only the protein-coding genes were kept, investigating which ones differed significantly from normal tissue in relation to gene expression. Only ATP10A, SAMD14 and PCAL4 showed a statistically significant difference, all of which were under-expressed in testicular cancer. The joint analysis of these genes was even more significant for overall and disease-free survival. **Conclusion:** Three genes were identified in the analysis *in silico* which demonstrated significant association of the expression with survival and prognosis of patients with testicular cancer.

Key words: Testicular Neoplasms; Germ Cells; Computational Biology/statistics & numerical data; Prognosis.

RESUMO

Introdução: Os tumores de células germinativas testiculares representam cerca de 97% dos cânceres testiculares. Histologicamente, classificam-se em seminomas e não seminomas, tendo aplicabilidade diagnóstica e prognóstica. O sucesso terapêutico depende do diagnóstico precoce associado ao correto estadiamento, sendo então de grande importância a avaliação de biomarcadores que possam contribuir para o manejo dessa doença. **Objetivo:** Identificar os genes que podem estar correlacionados com o prognóstico e a sobrevida no câncer testicular. **Método:** Análise de bioinformática utilizando 137 amostras de câncer testicular do *The Cancer Genome Atlas* e 165 amostras de tecido testicular normal do *The Genotype-Tissue Expression*. A identificação dos genes e análises subsequentes foram feitas pelo GEPIA2. **Resultados:** Inicialmente avaliou-se, em relação à expressão génica, os 500 genes mais associados com a sobrevida global do câncer testicular e os 500 com a sobrevida livre de doença. Em seguida, foi realizada a sobreposição dessas duas listas e construído um diagrama de Venn mostrando os 13 genes em comum. Destes, mantiveram-se apenas os codificadores de proteína, verificando quais diferiram significativamente do tecido normal em relação à expressão génica. Somente ATP10A, SAMD14 e PCAL4 mostraram diferença com significância estatística, todos subexpressos no câncer testicular. A análise deles em conjunto foi ainda mais significativa para a sobrevida global e livre de doença. **Conclusão:** Foram identificados nesta análise *in silico* três genes que demonstraram associação significativa de sua expressão com a sobrevida e o prognóstico dos pacientes com câncer testicular.

Palavras-chave: Neoplasias Testiculares; Células Germinativas; Biologia Computacional/estadística & dados numéricos; Prognóstico.

¹⁻⁴Universidade Atenas Passos. Passos (MG), Brasil. E-mails: souzagra@hotmail.com; barbaraoliveiracardoso@gmail.com; viniciusbarbosaparula@gmail.com; viniciusantosmed@gmail.com. Orcid iD: <https://orcid.org/0009-0004-5562-2007>; Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-7502-2509>; Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-9968-3619>; Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-7132-9917>

⁵⁻⁷Universidade de São Paulo Faculdade de Medicina. São Paulo (SP), Brasil. E-mails: arantes_gabriel@hotmail.com; romaosilva.poliana@gmail.com; sabinareis@usp.br. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0003-1602-9193>; Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0003-0410-2349>; Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-3564-3597>

Dirección para correspondencia: Graciele de Souza Medeiros. Rua Bartolomeu de Gusmão, 185, apto. 601 – Belo Horizonte. Passos (MG), Brasil. CEP 37900-026. E-mail: souzagra@hotmail.com



INTRODUCCIÓN

El cáncer testicular (CT) es el tumor más común en hombres con edad entre 15 y 34 años¹. Se puede presentar como tumores de células de Leydig, células de Sertoli, células de la granulosa que generalmente son benignos, pero tienen potencial maligno, además de los tumores de células germinativas testiculares (TCGT) que son malignos y corresponden al 95% de los casos de CT². Histológicamente, el TCGT puede clasificarse en seminomas y no seminomas. Esta distinción histológica es altamente relevante para la etiología y tratamiento del tumor, pues los tumores no seminomas son más propensos a la metástasis¹.

Los factores de riesgo que involucran al CT están relacionados a la criptorquidia –condición que ocasiona que no descienda el testículo–, antecedentes familiares positivos de CT, etnia, edad e infertilidad¹.

Se consideran neoplasias raras, con incidencia estimada en cerca de 5 por cada 100 000 individuos³. Generalmente, el CT tiene carácter agresivo, en especial para tumores no seminomatosos, aunque tiene alta tasa de cura con las terapias actuales⁴⁻⁶, con tasa de mortalidad próxima a 0,26/100 000 en el Brasil, mostrando tendencia hacia el crecimiento en los últimos años⁷.

Actualmente, para el diagnóstico de CT se utilizan marcadores tumorales séricos y exámenes de imágenes, al presentar masa testicular se recomienda que se haga la ecografía testicular y, en seguida, una investigación de marcadores tumorales séricos, siendo ellos alfafetoproteína (AFP), gonadotropina coriónica humana (hCG) y lactato deshidrogenasa (LDH). Pero estos marcadores aún presentan baja sensibilidad específica para el TCGT, siendo necesarios nuevos estudios con la finalidad de encontrar biomarcadores que puedan ayudar en el manejo del CT⁷.

Así como en otras neoplasias, el éxito terapéutico depende del diagnóstico temprano asociado a la correcta estadificación^{4-6,8}, que puede ser mejorada mediante la adición de marcadores moleculares. A partir de esto, estudios buscan marcadores específicos para seminomas y biomarcadores que puedan ayudar en la estratificación de riesgo relacionada a la estadificación clínica, y en la orientación de elección y monitoreo terapéuticos, principalmente en la enfermedad avanzada⁹. Con base en lo expuesto, el objetivo de este estudio fue identificar los genes que pueden estar asociados con el pronóstico y la sobrevida en el CT.

MÉTODO

En este trabajo, fue realizado el análisis de bioinformática utilizando 137 muestras de CT del *The Cancer Genome Atlas* (TCGA)¹⁰ y 165 muestras de tejido testicular normal

del *The Genotype-Tissue Expression* (GTEx)¹¹. Por tratarse de un análisis *in silico*, no fue necesario el parecer del Comité de Ética en Pesquisa (CEP) para la realización de esta investigación, conforme con la Resolución n.º 510¹²/2016 del Consejo Nacional de Salud (CNS).

Para la selección de genes que están asociados a la sobrevida, se utilizaron datos disponibles en la herramienta GEPIA2¹³ con genes de la selección del conjunto de datos del TCGA, como método de sobrevida global, y, en seguida, se hizo el cálculo de la sobrevida libre de enfermedad empleando la mediana como corte. En la matriz de expresión dentro de dicha herramienta, la densidad del color en cada bloque representa la mediana del valor de expresión de un gen en un determinado tejido, normalizado por la mediana del valor de expresión máximo en todos los bloques. En esta etapa, se seleccionaron los primeros 500 genes con diferencia estadística significativa, o sea, aquellos que tenían el menor valor de *p*. Las curvas de sobrevida global y sobrevida libre de enfermedad fueron realizadas en esa misma herramienta utilizando la mediana de expresión de los genes como corte.

Los análisis de la asociación de la expresión génica, presencia de metilación con el tipo histológico, edad, raza y estadio de la enfermedad fueron realizados con la herramienta Ualcan¹⁴ utilizando como consulta “TCGA” seguido de “TCGT - tumor de células germinativas testiculares” e, inmediatamente después, la expresión correlacionada a “Tipo histológico”, “Edad”, “Raza”, “Estadios individuales del cáncer” y “Metilación” de cada gen.

La evaluación de las alteraciones genéticas en cada gen fue realizada usando la herramienta cBioportal¹⁵ utilizando “TESTICULAR” y, en seguida, “TCGA, *Firehose Legacy*” como consulta. Realizando, así, el análisis de mutaciones y supuestas alteraciones en el número de copias de GISTIC de cada gen.

Inicialmente se seleccionaron 100 genes con patrón de expresión similar al ATP10A, HPCAL4 y SAMD14 en el CT usando la herramienta GEPIA2¹³. Luego, se utilizó la herramienta WebGestalt¹⁶ para el análisis de enriquecimiento, teniendo como parámetros básicos el organismo de interés: *Homo sapiens*, base de datos funcional: ontología génica y método de interés: “ORA sample run” y *pathway* + KEGG de cada lista.

RESULTADOS

Para seleccionar los genes diferencialmente expresados en el CT, se usó la plataforma GEPIA2. Fueron seleccionados los primeros 500 genes asociados con la sobrevida global del CT y los 500 genes asociados con la sobrevida libre de enfermedad. Posteriormente, fue

realizada la superposición de estas dos listas y se hizo un diagrama de Venn con el objetivo de seleccionar los genes que estaban asociados tanto con la sobrevida global como con la sobrevida libre de la enfermedad. En este análisis, fueron encontrados 13 genes asociados significativamente con las dos sobrevidas evaluadas: SAMD14, CISD3, HPCAL4, RP11-442G21.2, RN7SL208P, ATP10A, CASC8, HOXA9, ANPEP, CTC-459F4.9, RPL35P1, TMLHE-AS1 y ARPC3P1. Después del análisis de cada uno de estos genes, se seleccionaron aquellos que eran codificadores de proteínas resultando en ATP10A, SAMD14, HPCAL4, CISD3, HOXA9, ANPEP. Para escoger cuáles serían los genes más relevantes en el CT, fue evaluada la expresión de estos seis genes aún con la plataforma GEPIA2 en las muestras de tumores testiculares y comparando con las muestras de testículo normal disponibles en la plataforma. Tres genes se mostraron diferencialmente expresados con significación estadística ($p < 0,05$) en los tumores testiculares –ATP10A, SAMD14 y HPCAL4 (Figura 1). Todos los genes estaban subexpresados en el CT cuando se comparaban con el control obtenido en el GTEX.

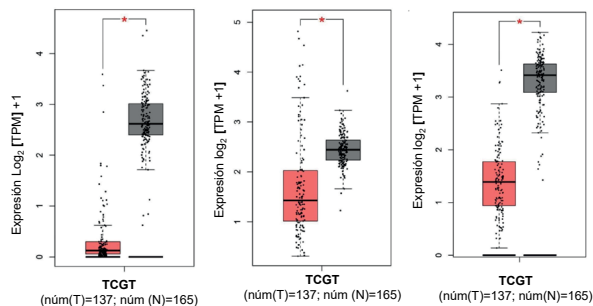


Figura 1. Análisis comparativo de los niveles de expresión $\log_2(TPM + 1)$ de los genes diferencialmente expresados con significación estadística ($p < 0,05$), HPCAL4, ATP10A y SAMD14 respectivamente, entre 137 muestras de tejido de cáncer testicular (rojo) y 165 muestras control (gris)

Leyendas: TCGT = tumores de células germinativas testiculares; TPM = muestras transcritas por millón.

Se analizó además si las expresiones de estos tres genes estaban asociadas a los datos de sobrevida. Este análisis en conjunto fue capaz de predecir de modo significativo la sobrevida global ($p = 0,046$) y la sobrevida libre de enfermedad ($p = 0,013$) (Figura 2).

Se realizó una comparación de la expresión de los tres genes entre tumores testiculares del tipo histológico seminoma y no seminoma y se observó que la expresión de los tres genes fue mayor en el tipo histológico no seminoma (Figura 3).

Al evaluar la expresión de los genes con el estadio tumoral, se observó expresiones mayores de cada gen asociadas a un estadio específico de la enfermedad, el gen ATP10A fue el que se expresó más en tumores T1, HPCAL4, en tumores T2 y SAMD14, en tumores T3 (Figura 4).

Además se evaluó la expresión de estos genes en diferentes etnias y grupos etarios, y se demostró que en relación a la raza, el gen ATP10A tuvo mayor expresión en asiáticos (comparación de caucásico vs. afroamericanos con $p = 2,857400E-01$, caucásicos vs. asiáticos, $p = 8,720400E-01$, y afroamericanos vs. asiáticos $p = 2,466800E-01$); el SAMD14 tuvo mayor expresión en caucásicos y afroamericanos (comparación de caucásico vs. afroamericanos con $p = 5,935400E-01$, caucásicos

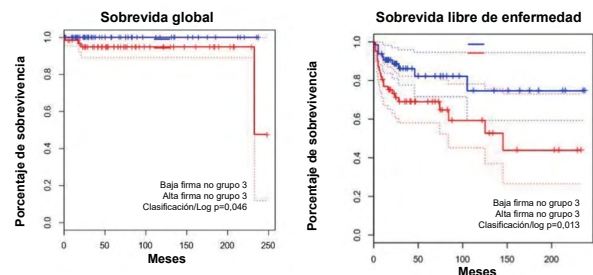


Figura 2. Análisis del porcentaje de sobrevida (*percent survival*), de 0,0 a 1,0, de acuerdo con la expresión conjunta de los tres genes (HPCAL4, ATP10A y SAMD14) con baja firma (azul) y alta firma (rojo) a lo largo de los meses (*Months*), de 0 a 250 meses, en la sobrevida global (*overall survival*) y sobrevida libre de enfermedad (*disease free survival*)

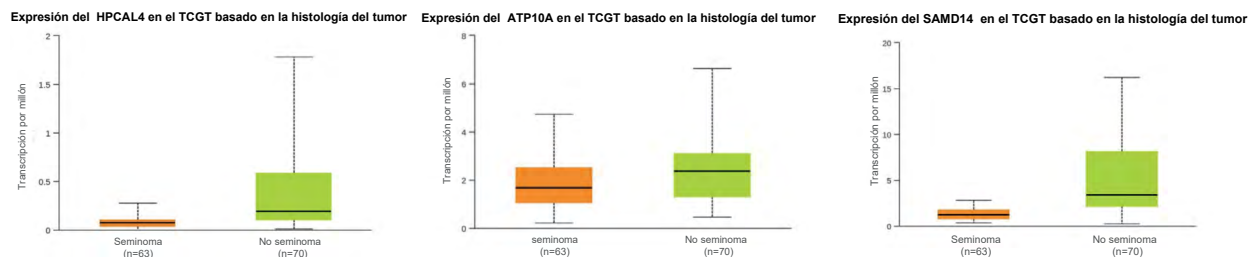


Figura 3. Análisis de la expresión génica en muestras de tumores de células germinativas testiculares, de HPCAL4, APT10A y SAMD14 respectivamente, con base en la histología tumoral en seminomas (naranja) con 63 muestras y no seminomas (verde) con 70 TPM. HPCAL4 tuvo variación de 0 a 2 en TPM y $p = 2,81900E-03$; ATP10A variación de 0 a 8 en TPM y $p = 4,523700E-03$; SAMD14 variación de 0 a 20 en TPM y $p = 8,26320001312553E-09$

Leyendas: TCGT = tumores de células germinativas testiculares; TPM = muestras transcritas por millón.



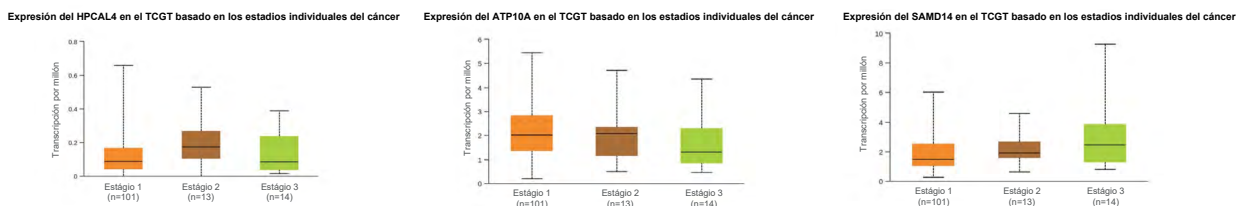


Figura 4. Análisis de la expresión génica en muestras de tumores de células germinativas testiculares de HPCAL4, ATP10A y SAMD14, respectivamente, con base en la histología tumoral del estadio 1 (naranja) con $n = 101$, estadio 2 (marrón) con $n = 13$ y estadio 3 (verde) con $n = 14$, transcrito por millón. En el gráfico del gen HPCAL4, hubo variación de 0 a 0,8 del TPM, con estadio 1 vs. estadio 2 de $p = 1,243810E-01$, estadio 1 vs. estadio 3 de $p = 6,883500E-02$, estadio 2 vs. estadio 3, $p = 6,771800E-01$. En el ATP10A, la variación fue de 0 a 6 TPM, con estadio 1 vs. estadio 2 de $p = 6,509200E-01$, estadio 1 vs. estadio 3 de $p = 8,612300E-02$, estadio 2 vs. estadio 3 de $p = 4,228200E-01$. En el SAMD14, la variación fue de 0 a 10 TPM, con estadio 1 vs. estadio 2 de $p = 9,889800E-01$, estadio 1 vs. estadio 3 de $p = 3,994600E-01$, estadio 2 vs. estadio 3, $p = 5,148800E-01$.

Leyendas: TGCT = tumores de células germinativas testiculares; TCGA samples = muestras *The Cancer Genome Atlas*; TPM = muestras transcritas por millón.

vs. asiáticos, $p = 7,486800E-01$, y afroamericanos vs. asiáticos, $p = 9,479600E-01$); y el HPCAL4 no mostró diferencia entre ellas (comparación de caucásico vs. afroamericanos con $p = 3,880300E-03$, caucásicos vs. asiáticos, $p = 9,851800E-01$, y afroamericanos vs. asiáticos $p = 3,747200E-01$).

En el análisis entre grupos etarios, el ATP10A tuvo expresión inversamente proporcional a la edad, es decir, presentó mayor expresión en el grupo etario de 21 a 40 años y menor expresión en 61 a 80 años ($p = 3,420400E-01$), el SAMD14 se mostró con mayor expresión entre 61 y 80 años ($p = 4,895400E-01$) y en el HPCAL4 no se observa diferencia significativa (comparación de 21-40 a vs. 41-60a con $p = 7,732200E-02$, 21-40a vs. 61-80a, $p = 1,437890E-03$, y 41-60a vs. 61-80a, $p = 7,543600E-01$).

Posteriormente, se realizó el análisis de mutaciones por la presencia de metilación. Para los genes ATP10A ($p < 1E-12$) y HPCAL4 ($p = 6,66344757149773E-12$), no se demostró mutación, ya al evaluar el gen SAMD14 ($p = 5,028100E-02$), solo un paciente, o sea, el 0,7% de la muestra presentaba una mutación de alteración de nucleótido único del tipo *missense* (G397W).

Y, por último, se realizó un análisis de enriquecimiento del conjunto de 100 genes con expresión similar a la de ATP10A, HPCAL4 y SAMD14 para evaluación y comprensión de la función expresada de cada agrupamiento y consecuentemente de estos tres genes (Cuadro 1).

DISCUSIÓN

El CT es un reto clínico¹⁷, dado que representa una de las neoplasias más comunes que atacan al sexo masculino, que incluye a los TCGT¹⁷. El CT se clasifica en dos grupos principales: seminomas y no seminomas¹⁸, y, sumado a esto, se sabe que el surgimiento del CT es dependiente de factores genéticos¹³. De esta forma, muchos estudios se están realizando para desarrollar nuevos biomarcadores moleculares tumorales con mayor especificidad y

sensibilidad¹⁹. No obstante, en el escenario actual, existe una cantidad considerada pequeña de biomarcadores conocidos en el caso del CT. Ante esto, se realizó en este estudio un análisis de bioinformática en busca de biomarcadores en el que fueron encontrados tres genes, los cuales se mostraron diferencialmente expresados con significación estadística y asociados a la agresividad de la neoplasia testicular. Los genes diferencialmente expresados fueron: ATP10A, SAMD14 y HPCAL4, todos subexpresados en el CT.

Es relevante destacar que existe una disponibilidad mínima de estudios que sustentan la base genética del CT¹⁷, por lo tanto, hay pocos biomarcadores documentados para el pronóstico. Los genes codificadores de proteínas ATP10A, SAMD14 y HPCAL4 encontrados en este trabajo están diferencialmente expresados en el CT y, además, muestran una relación asociativa de su expresión con la tasa de supervivencia. En este escenario, la relevancia de este estudio se justifica por no haber sido aún evaluados estos genes en la literatura como marcadores moleculares del CT¹⁹.

Se sabe que los marcadores tumorales AFP, bHCG y LDH son importantes en el manejo clínico de TCGT²⁰. No obstante, la expresión es relativamente baja en TCGT, solo el 60% de los CT muestra elevación de esas moléculas en el diagnóstico inicial, lo que vuelve su aplicabilidad clínica con baja especificidad y deja mucho que desear en el acompañamiento y monitoreo de la enfermedad avanzada. Ante esto, se necesitan biomarcadores más específicos para el TCGT, puesto que estos son esenciales para guiar la elección del tratamiento, principalmente cuando la enfermedad ya está en un estadio avanzado⁹.

Al analizar los tres genes identificados en este trabajo, se observó que existe una mayor expresión génica predominante en los tipos no seminomas. Se sabe que existe una expresión diferencial dependiendo del subtipo histológico y que los tumores de células germinativas no seminomatosas (NSGCT) son los más probables de causar

Cuadro 1. Representación de las funciones asociadas a conjuntos de genes con expresión similar a la de ATP10A, HPCAL4 y SAMD14 en el cáncer testicular, identificados a través del análisis de enriquecimiento utilizando la metodología 'Ora sample run' y 'Pathway + KEGG'

Método	ATP10A	HPCAL4	SAMD14
Ora sample run	Motilidad celular dependiente de cilio o flagelo, motilidad espermática, fusión célula-célula, formación de sincicio, fertilización, formación de haz de microtúbulos, proceso celular envuelto en la reproducción en organismo multicelular, movimiento basado en microtúbulos, almacenamiento de cilio	Motilidad celular dependiente de cilio o flagelo, formación de haz de microtúbulos, migración de neuronas, vía de señalización del receptor de glutamato, transmisión sináptica, glutamatérgico, desarrollo del núcleo neural, polimerización o despolimerización de microtúbulos, regulación del receptor de neurotransmisor de membrana postsináptica I, motilidad espermática, regulación del receptor de neurotransmisor actividad, organización de sinapsis, diferenciación de células fotorreceptoras, localización de proteínas en la sinapsis, regulación negativa del desarrollo del sistema nervioso, desarrollo del rombencéfalo, regulación de la transmisión transináptica, comportamiento adulto, desarrollo del páncreas, regulación de la estructura o actividad de la sinapsis, transmisión sináptica química, posináptica, regulación del proceso basado en microtúbulos, diferenciación de neuronas del sistema nervioso central, ciclo de vesículas sinápticas, exocitosis regulada por iones de calcio, organización de proyección de neuronas, movimiento basado en microtúbulos, transporte mediado por vesículas en la sinapsis, desarrollo de dendritas, comportamiento locomotor, regulación negativa del desarrollo de llamadas, regulación de la respuesta al medicamento, diferenciación de células epiteliales columnares/cuboidales, desarrollo del prosencéfalo, cognición, regulación del proceso del sistema neurológico, orientación de la proyección de neuronas, organización del cilio, regulación de la actividad del transportador, transporte de neurotransmisores, desarrollo de axones, regulación negativa de la organización de la proyección celular, regulación del desarrollo de la proyección de neuronas, gliogénesis, localización dentro de la membrana, regulación del potencial de membrana, señalización del organismo multicelular, maduración del desarrollo, regulación positiva del transporte de iones, crecimiento del desarrollo involucrado en la morfogénesis, localización de vesículas, compromiso del destino celular, transporte de iones potasio, regulación de los niveles de neurotransmisores, liberación de señal, desarrollo del sistema sensorial, regulación positiva de la neurogénesis	Adhesión de células II mediante adhesión molecular a la membrana plasmática
Pathway + KEGG	-	Sinapsis glutamatérgica	Migración transendotelial de leucocitos, hepatitis C, moléculas de adhesión celular, unión estrecha

Nota: En el cuadro, se listan solo las funciones con significación estadística ($p \leq 0,05$).



metástasis²¹, lo que acaba impactando en la calidad de la sobrevida de la enfermedad.

También se sabe que, normalmente, el CT es más común en hombres en el grupo etario de 15 a 34 años⁹, lo que se condice con los hallazgos de este estudio, ya que se identificó mayor expresión de los genes ATP10A y HPCAL4 entre las edades de 21 a 40 años, responsables respectivamente por mayor expresión en los estadios 1 y 2. Aunque hubo una discrepancia en relación al gen SAMD14 que fue encontrado con mayor expresión en el grupo etario de 61 a 80 años, pudiendo estar asociado al estadio avanzado de la enfermedad, dado que presentó mayor expresión en el estadio 3. Estos hallazgos pueden orientar a nuevas investigaciones para la confirmación de la correlación de la expresión de estos genes con un estadio específico de la enfermedad en búsqueda de comprobación de biomarcadores con alto potencial de clasificación pronóstica. Análisis mostraron también la expresión de estos genes con relación a la raza: el ATP10A se expresa más en asiáticos, el HPCAL4 en afroamericanos y asiáticos y el SAMD14 en caucásicos y afroamericanos. Vale resaltar que en la literatura se documentó que la incidencia de TCGT varía entre las poblaciones, siendo mayor en individuos de ascendencia europea en comparación con los africanos²².

Respecto a los genes, el ATP10A fue identificado como responsable por producir una proteína del tipo flipasa, la cual transporta fosfatidilcolina de la capa externa hacia la capa interna de la membrana plasmática⁸. Así, se identifica en el presente estudio que el gen se expresa diferencialmente en tumores no seminomatosos, debido a una hipometilación de su sitio promotor, no habiendo diferencias significativas al compararse edad, raza o estadios. Ante esto, al realizar un análisis de enriquecimiento para evaluar las vías de actuación génicas, se observó que existe una gran actuación en la vía de fusión célula-célula y formación del sincicio. Se sabe que la desregulación de la adhesión celular puede desempeñar un papel en el proceso de transformación, contribuyendo para procesos metastásicos¹³. Entonces, es posible inferir que la hiperexpresión del gen ATP10A puede implicar una menor adhesión entre las células y, así, una mayor capacidad de metástasis de las células neoplásicas, validando los hallazgos citados.

Se sabe que el SAMD14 fue identificado en mastocitos de especímenes de cáncer de próstata como mediador de la comunicación intercelular e interacción epitelial en el microambiente y que un microambiente favorable, hecho a partir de la comunicación bidireccional entre células y la matriz extracelular (MEC), es esencial para el desarrollo de la oncogénesis y metástasis¹³. Los resultados del presente estudio pueden ser correlacionados con tal afirmación, dado que, al realizar el análisis de enriquecimiento, el SAMD14 presentó como función la adhesión de células-II mediante adhesión molecular a la membrana plasmática. Además,

pacientes con cáncer gástrico que presentan baja expresión e hipermetilación del promotor de SAMD14 tienen peor sobrevida global²³, lo que puede relacionarse con los hallazgos de este estudio, en el cual fue observada la subexpresión del gen en el TCGT cuando se compara con el tejido normal. Estudios recientes han mostrado una terapéutica para linfoma primario del sistema nervioso central en forma de anticuerpo por la integración del antígeno receptor de células B neurabin-I/SAMD14²⁴, pudiendo indicar un camino prometedor de tratamiento para TCGT mediante nuevas investigaciones, fundamentadas en los resultados presentados en estos estudios y hallazgos del presente trabajo.

CONCLUSIÓN

Los tres genes codificadores de proteína están diferencialmente expresados en el CT, en el tipo histológico no seminoma, y demostraron asociación significativa de su expresión con la sobrevida y consecuentemente con el pronóstico de los pacientes, siendo potenciales biomarcadores para el CT. Sin embargo, se necesitan aún más estudios detallados para la validación de estos genes en el CT.

APORTES

Todos los autores contribuyeron substancialmente en la concepción y en el planeamiento del estudio; en la obtención, análisis e interpretación de los datos; en la redacción y revisión crítica; y aprobaron la versión final a publicarse.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Nada a declarar.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

No hay.

REFERENCIAS

1. Baird DC, Meyers GJ, Hu JS. Testicular cancer: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2018;97(4):261-8.
2. Smith ZL, Werntz RP, Eggner SE. Testicular cancer. *Med Clin North Am*. 2018;102(2):251-64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2017.10.003>
3. Teng LK, Pereira BA, Keerthikumar S, et al. Mast Cell-Derived SAMD14 is a novel regulator of the human prostate tumor microenvironment. *Cancers*. 2021;13(6):1237. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13061237>
4. Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA*. 2019;69(5):363-85. doi: <https://doi.org/10.3322/caac.21565>



5. Mourão TC, Curado MP, Oliveira RAR, et al. Epidemiology of urological cancers in Brazil: trends in mortality rates over more than two decades. *J Epidemiol Glob Health* 2022;12(3):239-47. doi: <https://doi.org/10.1007/s44197-022-00042-8>
6. Kliesch S, Schmidt S, Wilborn D et al. Management of germ cell tumours of the testis in adult patients. german clinical practice guideline part i: epidemiology, classification, diagnosis, prognosis, fertility preservation, and treatment recommendations for localized stages. *Urol Int.* 2021;105(3-4):1-12. doi: <https://doi.org/10.1159/000510407>
7. Yang J, Yang Q. Identification of core genes and screening of potential targets in glioblastoma multiforme by integrated bioinformatic analysis. *Front Oncol.* 2021;10(615976):1-12. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.615976>
8. Souza KW, Reis PE, Gomes IP, et al. Estratégias de prevenção para câncer de testículo e pênis: revisão integrativa. *Rev Esc Enferm USP.* 2011;45(1):277-82. doi: <https://doi.org/10.1590/s0080-62342011000100039>
9. Leão R, Ahmad AE, Hamilton RJ. Testicular cancer biomarkers: a role for precision medicine in testicular cancer. *Clin Genitourin Cancer.* 2019;17(1):e176-83. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2018.10.007>
10. Nacional Cancer Institute, Center for Cancer Genomics [Internet]. Annapolis: NIH; 2006. The Cancer Genome Atlas (TCGA); 2006. [acesso 2024 mar 8]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>
11. GTEx: The Genotype-Tissue Expression [Internet]. Versão phs000424.v9.p2. Bethesda: NIH; [sem data]. [acesso 2024 mar 8]. Disponível em: <https://gtexportal.org/home/>
12. Conselho Nacional de Saúde (BR). Resolução nº 510, de 7 de abril de 2016. Dispõe sobre as normas aplicáveis a pesquisas em Ciências Humanas e Sociais cujos procedimentos metodológicos envolvam a utilização de dados diretamente obtidos com os participantes ou de informações identificáveis ou que possam acarretar riscos maiores do que os existentes na vida cotidiana, na forma definida nesta Resolução [Internet]. *Diário Oficial da União, Brasília, DF.* 2016 maio 24 [acesso 2024 jan 20]; Seção I:44. Disponível em: http://bvsm.sau.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2016/res0510_07_04_2016.html
13. Tang Z, Kang B, Li C, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(W1):W556-60. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz430>
14. Chandrashekar DS, Karthikeyan SK, Korla PK, et al. UALCAN: uma atualização para a plataforma integrada de análise de dados de câncer. *Neoplasia.* 2022;25:18-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neo.2022.01.001>
15. Buijn I, Kundra R, Mastrogiacomio B, et al. Analysis and visualization of longitudinal genomic and clinical data from the AACR project GENIE Biopharma Collaborative in cBioPortal. *Cancer Res.* 2023;83(23):3861-7. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-23-0816>
16. WebGestalt [Internet]. Versão 1.2. Houston: Zhang Lab; ©2024. [acesso 2024 mar 8]. Disponível em: <http://webgestalt.org/>
17. Toni L, Šabovic I, Cosci I, et al. Testicular cancer: genes, environment, hormones. *Front Endocrinol.* 2019;10(408):1-11. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00408>
18. Boccellino M, Vanacore D, Zappavigna S, et al. Testicular cancer from diagnosis to epigenetic factors. *Oncotarget.* 2017;8(61):104654-63. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20992>
19. Chieffi P, Franco R, Portella G. Molecular and cell biology of testicular germ cell tumors. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2009;278:277-308. doi: [https://doi.org/10.1016/s1937-6448\(09\)78006-2](https://doi.org/10.1016/s1937-6448(09)78006-2)
20. Murray MJ, Huddart RA, Coleman N. The present and future of serum diagnostic tests for testicular germ cell tumours. *Nat Rev Urol.* 2016;13(12):715-25. doi: <https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.170>
21. Nauman M, Leslie SW. Nonseminomatous testicular tumors. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2023. [acesso 2024 mar 8]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK568754/>
22. Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome — biological and translational implications. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(10):726-34. doi: <https://doi.org/10.1038/nrc3130>
23. Chung CC, Kanetsky PA, Wang Z, et al. Meta-analysis identifies four new loci associated with testicular germ cell tumor. *Nat Genet.* 2013;45(6):680-5. doi: <https://doi.org/10.1038/ng.2634>
24. Xu X, Chang X, Xu Y, et al. SAMD14 promoter methylation is strongly associated with gene expression and poor prognosis in gastric cancer. *Int J Clin Oncol* 2020;25(6):1105-14. doi: <https://doi.org/10.1007/s10147-020-01647-4>

Recebido em 31/1/2024
Aprovado em 4/6/2024

