



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

ROMILDO LUCIANO DA SILVA

**EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA METALOPROTEÍNASE DE
MATRIZ-26 NA HIPERPLASIA NODULAR E NO CARCINOMA PROSTÁTICO.**

RECIFE

2019

ROMILDO LUCIANO DA SILVA

**EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA METALOPROTEÍNASE DE MATRIZ-26 NA
HIPERPLASIA NODULAR E NO CARCINOMA PROSTÁTICO.**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal do Pernambuco para obtenção de título de mestre em Morfotecnologia.

Área de concentração: Morfologia: Métodos clássicos e avançados

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto

CO-ORIENTADORA:

Prof.^a Dr.^a Mariana Montenegro de Melo Lira

RECIFE

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia - CRB-4/1788

Silva, Romildo Luciano da
Expressão imunohistoquímica da metalaproteínase de matriz-26 na hiperplasia nodular e no carcinoma prostático / Romildo Luciano da Silva- 2019.

54 f. : il.

Orientador: Prof^ª. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto
Coorientadora: Prof^ª. Dr^ª. Mariana Montenegro de Melo Lira.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia, 2019.
Inclui referências e anexos.

1. Próstata – Câncer. 2. Tumores. 3. Imuno-histoquímica. I. Silva Neto, Jacinto da Costa (orientador). II. Lira, Mariana Montenegro de Melo (coorientadora) III. Título.

616.65

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2019 - 209

ROMILDO LUCIANO DA SILVA

**“EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA METALOPROTEÍNASE DE
MATRIZ-26 NA HIPERPLASIA NODULAR E NO CARCINOMA PROSTÁTICO”**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal do Pernambuco como pré-requisito para obtenção do título de mestre em Morfotecnologia.

Aprovado em: 21/05/2019.

BANCA EXAMINADORA

1º examinador: Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto (presidente) -UFPE

2º examinador: Prof. Dr. André de Lima Aires- UFPE

3º examinador: Prof.^a. Dr.^a Luciana Maria Silva de Seixas Maia- UFPE

4º examinador: Prof.^a. Dr.^a. Carina Scanoni Maia- UFPE

1º suplente: Prof.^a. Dr.^a. Eliete Cavalcante da Silva

2º suplente: Prof.^a. Dr.^a. Ingrid Tavares de Lima

À Deus, toda honra e toda glória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar sempre presente em minha vida e ter colocado pessoas capacitadas para me ajudarem na conclusão deste mestrado.

Agradeço a minha família que durante todo curso me ajudou em todos os sentidos para que eu pudesse fazer o melhor possível.

A minha Esposa, Sandra Assis, pelo imenso amor, dedicação e presença constante em minha vida.

A minha colega Marciana, pelos ensinamentos técnicos e práticos na imunohistoquímica.

Ao meu colega de trabalho Francisco, que me incentivou a iniciar o mestrado.

Ao meu orientador, Jacinto Neto e Co orientadora, Mariana Lira por suas contribuições, orientações e paciência nesta dissertação.

Ao professor Luciano Montenegro pelas dicas no preenchimento do comitê de ética.

A Plínio pela ajuda dada na coleta dos dados, no SAME-HC.

Aos meus amigos Bruna, Sidcley, Sandra, Célia, Deise e Edvan pela amizade demonstrada ao longo dos anos.

A banca examinadora por suas contribuições na correção e organização desta dissertação.

A colega Ingrid Tavares do Programa de Pós-Graduação em Biologia aplicada a Saúde (UFPE) por seu apoio e organização neste trabalho.

Aos colegas da pós-Morfotec pelo companheirismo ao longo de todo o curso.

A coordenadora Sônia e a assistente administrativa Stella, obrigado pelas conversas, pela atenção, pelos conselhos “infalíveis”.

Enfim, agradeço a todos aqueles que colaboraram de uma forma ou de outra para a realização deste mestrado, minha profunda gratidão.

RESUMO

Estudos demonstraram que a alta expressão de metaloproteinase da matriz está diretamente associada ao potencial invasivo e metastático de vários tumores malignos humanos, tais como os de mama, cólo do útero, pulmão e próstata. O presente trabalho teve como objetivo investigar o perfil de expressão da metaloproteinase de matriz 26 em tumores benigno e maligno de próstata. Foram obtidos 150 blocos de parafina de pacientes que realizaram biópsia de próstata no serviço de anatomia patológica do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. As amostras foram divididas em: grupo atrofia; com 25 blocos, grupo hiperplasia prostática benigna; com 50 blocos, Grupo adenocarcinoma prostático; com 50 blocos e grupo neoplasia intraepitelial prostática; com 25 blocos. A análise imuno-histoquímica foi realizada em espécimes colhidas para biopsias e emblocadas em parafina. Foram realizados cortes em material parafinado de 4µm de espessura. Inicialmente as amostras foram desparafinadas em xilol e reidratadas. Depois foi realizada a recuperação antigênica a 125°C em câmara de pressão Pascal da Dakocytomation. As lâminas passaram pela solução bloqueadora de peroxidase. Após, foram incubadas em overnight com anticorpo contra as proteínas em estudo em geladeira à 8°C e em seguida lavadas com tampão fosfato. Novamente as lâminas foram incubadas com solução de ampliação, depois lavada em tampão novamente e incubada em solução cromógena de diaminobenzidina, lavadas em água, contracoradas em hematoxilina, desidratadas e montadas. A idade dos participantes variou de 41 a 88 anos, com média de 66,83 anos. O maior percentual correspondeu aos pacientes com 60 a 69 anos. A etnia parda foi a mais prevalente e a menor foi a branca, com relação a hábitos de risco para doenças prostáticas, foram registrados que 29,3% dos participantes são adeptos do etilismo e 32,7% do tabagismo. Os resultados da imuno-histoquímica mostraram associação significativa com os valores do PSA total. As maiores diferenças percentuais ocorreram no grupo PSA<4 ng/ml, onde foi mais elevada entre os que tiveram a imuno-histoquímica negativa, já o grupo PSA>10 ng/ml, mostrou valor mais elevado entre os que tinham imuno-histoquímica positivo. Observou-se maior expressão de metaloproteinases de matriz 26 nos carcinomas prostáticos, tendo em vista que esta endopeptidase está associada a um fenótipo tumoral mais agressivo presentes nas lesões malignas prostática. Nas lesões benignas as expressões foram diminuídas, praticamente negativas, com isto, nós mostramos que a imuno-histoquímica de metaloproteinase de matriz 26 é útil para diferenciar tumores benignos dos malignos da próstata, podendo auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias para o diagnóstico, prognóstico e tratamento do câncer de próstata. Estes resultados corroboraram, em parte, no

esclarecimento dos mecanismos carcinogênicos tumorais e revela a associação entre o diagnóstico morfológico e o perfil de expressão dessa molécula em ensaios imunohistoquímicos.

Palavras chaves: Metaloproteinase de matriz. Carcinogênese. Câncer de próstata.

ABSTRACT

Studies have shown that the high expression of matrix metalloproteinase is directly associated with the invasive and metastatic potential of various human malignancies, such as breast, uterine, lung and prostate. The present work aimed to investigate the expression profile of matrix metalloproteinase 26 in benign and malignant prostate tumors. 150 paraffin blocks were obtained from patients who underwent prostate biopsy at the pathology department of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Pernambuco. The samples were divided into: atrophy group; with 25 blocks, benign prostatic hyperplasia group; with 50 blocks, prostatic adenocarcinoma group; with 50 blocks and group prostatic intraepithelial neoplasia; with 25 blocks. Immunohistochemical analysis was performed on specimens collected for biopsies and embedded in paraffin. Cuttings were made of 4µm thick waxed material. Initially the samples were dewaxed in xylol and rehydrated. Then antigen retrieval was performed at 125 ° C in Pascal pressure chamber of Dakocytomation. The slides passed through the peroxidase blocking solution. Afterwards, they were incubated overnight with antibody to the test proteins in a refrigerator at 8 ° C and then washed with phosphate buffer. Again, the slides were incubated with magnification solution, then washed in buffer again and incubated in chromogenic diaminobenzidine solution, washed in water, hematoxylin-counterstained, dehydrated and assembled. The participants' ages ranged from 41 to 88 years, with a mean of 66.83 years. The highest percentage corresponded to patients aged 60 to 69 years. The ethnic group was the most prevalent and the lowest was white, with respect to risk habits for prostate diseases, 29.3% of the participants were recruited from alcohol and 32.7% from smoking. The results of immunohistochemistry showed a significant association with total PSA values. The highest percentage differences occurred in the PSA group <4 ng / ml, where it was higher among those with negative immunohistochemistry, whereas the PSA group > 10 ng / ml showed a higher value among those with positive immunohistochemistry. Further expression of matrix metalloproteinases 26 has been observed in prostatic carcinomas, since this endopeptidase is associated with a more aggressive tumor phenotype present in prostatic malignancies. In the benign lesions the expressions were decreased, practically negative, with this, we showed that the matrix metalloproteinase immunohistochemistry 26 is useful to differentiate benign tumors from the malignant ones of the prostate, and can help in the development of new strategies for the diagnosis, prognosis and treatment of prostate cancer. These results corroborate, in part, the clarification of the tumor carcinogenic mechanisms and reveal the association between the

morphological diagnosis and the expression profile of this molecule in immunohistochemical assays.

Key words: Matrix metalloproteinase. Carcinogenesis. prostate cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura1 –	Estimativa 2018 dos dez tipos de câncer mais incidentes em 2018 segundo o Instituto Nacional do Câncer.....	17
Figura 2 –	lâmina histológica de segmento de próstata corada em HE, mostrando áreas de hiperplasia prostática benigna (HPB).....	19
Figura 3 –	lâmina histológica de segmento de próstata corada em HE, mostrando Neoplasia prostática de alto grau (HG PIN) com presença de células atípicas com núcleo hipercromático e nucléolo proeminente numa estrutura glandular.....	20
Figura 4 –	A) Esquematização da nova graduação proposta pela ISUP para o CaP e as curvas de sobrevida livre de recidiva de acordo com a nova graduação B) tabela do gráfico acima, retirado de um estudo multi-institucional apresentado na reunião da ISUP.....	22
Figura 5 –	A) Imagem representativa da formação molecular comum as MMP. Constituída por um domínio pró-peptídeo, um domínio catalítico de ligação ao Zn^{2+} , o qual se liga a uma região de dobradiça que faz a comunicação com o domínio conservado de hemopexina B) A MMP-26 também chamada de endometase ou matrisilina 2 é a menor do membro da família, pois possui só um domínio mínimo.....	26
Figura 6 –	Fotomicrografias da próstata (10 μ M). Análise histológica (HE) e imuno-histoquímica (MMP-26) nos grupos atrofia, hiperplasia benigna, neoplasia intraepitelial e adenocarcinoma prostático.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Resultado dos fatores de risco: faixa etária, etnia, etilismo e tabagismo.....	34
Tabela 2 –	Resultado dos exames PSA por grupos, exames de toque retal e histopatológico da amostragem total.....	35
Tabela 3 –	Estatísticas de PSA livre, PSA total e relação percentual do PSA livre em relação ao PSA total em cada grupo e na amostragem total.....	36
Tabela 4 –	Avaliação da intensidade da IHQ para MMP26.....	38
Tabela 5 –	Avaliação dos exames PSA e toque retal segundo a IHQ.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Adenocarcinoma Prostático
AJCC	Comitê Conjunto Americano sobre Câncer
AR	Receptor de Andrógeno
ASAP	Proliferação Atípica de Pequenos Acinos
CaP	Câncer de Próstata
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DAB	Diaminobenzidina
DHT	Di-hidrotestosterona
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ERG	Fator de Crescimento Epidérmico
GSTP1	Glutathione S-transferase P1
HPB	Hiperplasia Prostática Benigna
IHQ	Imuno-histoquímica
INCA	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
ISUP	Sociedade Internacional de Patologia Urológica
MEC	Matriz Extracelular
MMP	Metaloproteinase de Matriz
MT-MMP	Metaloproteinase de matriz tipo membrana
NIP	Neoplasia Intraepitelial Prostática
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato-salino
PCA3	Gene 3 do câncer de próstata
PDGF	Fator de Crescimento derivado de plaqueta
PIA	Atrofia Inflamatória Proliferativa
PSA	Antígeno prostático específico
RECK	Proteína rica em Cisteína, indutora de reversão, com motivos Kazal
RMR	Região Metropolitana do Recife
RNA	Ácido Ribonucleico
SAME	Serviço de Arquivo médica e estatística
TIMP	Inibidor Tecidual de Metaloproteinase
TNM	Classificação de Tumores Malignos

TMPRSS2	Protease de Serina Transmembrana tipo 2
TR	Toque Retal
VA	Vigilância Ativa
Zn ²⁺	Zinco no estado de Oxidação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.2	OBJETIVOS	16
1.2.1	objetivo geral	16
1.2.2	objetivos específicos.....	16
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1	EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER PROSTÁTICO.....	17
2.2	DOÊNCIAS PROSTÁTICAS E DIAGNÓSTICO.....	18
2.3	ESTADIAMENTO.....	21
2.4	PROGRESSÃO DO CÂNCER DE PRÓSTATA.....	23
2.5	MMP: ESTRUTURA E REGULAÇÃO.....	24
2.6	MMP E A CARCINOGENESE.....	26
3	METODOLOGIA.....	28
3.1	OBTENÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	28
3.2	ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA PARA MMP-26.....	28
3.3	ANÁLISE DOS FATORES BIOLÓGICOS.....	29
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
4	RESULTADOS.....	30
	ARTIGO CIENTÍFICO – EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA ESPECÍFICA DE MMP-26 EM ADENOCARCINOMA PRÓSTATICO.....	30
5	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS.....	43
	ANEXOS	49
	ANEXO A- TABELA COM CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA PESQUISADA.....	49
	ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO CEP/CCS/UFPE.....	51

1 INTRODUÇÃO

O câncer é um problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que, no ano 2030, pode-se esperar 27 milhões de casos incidentes. A neoplasia da próstata é o sexto tipo mais comum no mundo e o de maior incidência nos homens. As taxas da manifestação da doença são cerca de seis vezes maiores nos países desenvolvidos, quando comparados aos países em desenvolvimento.

Desde a década de 1980 com a introdução do teste PSA na rotina médica, houve grande aumento de casos diagnosticados e uma redução de 20% na taxa de mortalidade por câncer de próstata. O PSA sérico é medido para detecção precoce, estadiamento e monitoramento da doença, apesar disso, pode apresentar baixa especificidade quando os valores se encontram entre 3 e 10 ng /ml, mostrando-se elevados também em condições benignas como HPB e prostatite (CHENG et al., 2017; EL CHAER et al., 2018). Dada a necessidade de encontrar novos biomarcadores que combinados ao PSA pudessem conferir maior precisão ao diagnóstico, diversos estudos têm sido realizados sobre a expressão das metaloproteinases tanto no soro quanto no tecido de pacientes com câncer de próstata. Kanoh et al. (2002) e Zhang et al. (2004) observaram respectivamente, elevados níveis séricos de MMP-2 e MMP-9 em pacientes com CaP e HPB cuja expressão aumentava conforme progressão da doença. Morgia et al. (2005) encontraram além de MMP-2 e -9, a MMP-13 com níveis significativamente maiores nos pacientes com CaP do que naqueles com HPB ou saudáveis. Já a MMP-7 foi analisada por Szarvas et al. (2011) e seus níveis também foram fortemente elevados, sobretudo em pacientes com CaP metastático em comparação aos casos focais.

O primeiro relato sobre as metaloproteinases (MMPs) foi publicado na década de 60 por Jerome Gross e Charles Lapière, onde encontraram uma enzima ativa em cultura de pele que degradava colágeno tipo I (GROSS, 1962). Para Kerkela et al (2003) e Chaudhary et al. (2013) as metaloproteinases formam um grupo de enzimas com a habilidade comum de degradar vários componentes da matriz extracelular (MEC), principalmente colágeno, elastina, laminina, fibronectina e proteoglicanos e estão envolvidas em vários processos fisiológicos normais, como, por exemplo, desenvolvimento embrionário, ovulação, renovação e remodelação da MEC. Entretanto, elas também estão presentes em situações patológicas, tais como a tumorigênese, a metástase e a artrite reumatóide. Conforme Justulin (2010) e Väisänen et al. (2011) a alta expressão de MMP está diretamente associada ao potencial invasivo e metastático de vários tumores malignos humanos, como os de mama, cólo do útero, pulmão e próstata (VIHINEN and KAHARI, 2002; YADAV et al, 2014).

A imuno-histoquímica (IHQ) está amplamente disponível em laboratórios de histopatologia, por se tratar de um método relativamente fácil e barato para avaliar semiquantitativamente a expressão de proteínas, principalmente, como uma ferramenta de diagnóstico (WILLEMS et al, 2005). Vários estudos têm associado as MMPs a fenótipos mais agressivos de diversos tipos de câncer, incluindo o carcinoma de próstata, portanto faz-se necessária a identificação de novos biomarcadores que permitam um diagnóstico precoce, preciso e que possa contribuir com o valor prognóstico. Neste trabalho propusemos investigar a expressão da metaloproteinase de matriz 26 em tumores benignos e malignos da próstata visando contribuir no esclarecimento do processo carcinogênico.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 objetivo geral

Investigar a superexpressão da metaloproteinase de matriz 26 em tumores benignos e malignos de próstata.

1.2.2 objetivos específicos

Correlacionar o grau de lesão das amostras com os fatores biológicos.

Avaliar a associação entre a imunohistoquímica da MMP-26 e o exame serico de PSA.

Avaliar a associação entre a imunohistoquímica da MMP-26 e o exame físico do toque retal.

avaliar a associação entre a imunohistoquímica da MMP-26 e a graduação histologica de gleason.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER PROSTÁTICO

As transições demográficas e epidemiológicas globais sinalizam um impacto cada vez maior da carga de câncer nas próximas décadas (FERLAY et al., 2013). O Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima que para cada ano do biênio 2018/2019, sejam diagnosticados 68.220 novos casos de câncer de próstata (CaP) no Brasil, como se observa detalhadamente na figura 1, sendo 3.050 novos casos em Pernambuco. Esses valores correspondem a um risco estimado de 66,12 casos novos a cada 100 mil homens. Cerca de 1 em 9 homens será diagnosticado com câncer de próstata durante a vida. O câncer de próstata ocorre principalmente em homens mais velhos. Cerca de 6 em cada 10 casos são diagnosticados em homens com mais de 65 anos, sendo raro antes dos 40 anos. A média de idade no momento do diagnóstico é de 66 anos. O CaP é a segunda principal causa de morte por câncer em homens, perdendo apenas para o câncer de pulmão. A cada 41 homens, pelo menos 1 morrerá de câncer de próstata (INCA, 2017)

Figura1: Estimativa 2018 dos dez tipos de câncer mais incidentes em 2018 segundo o Instituto Nacional do Câncer

Localização Primária	Casos	%	Homens	Mulheres	Localização Primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%			Mama Feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%			Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%			Colo do Útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%			Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%			Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%			Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%			Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%			Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%			Leucemias	4.860	2,4%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: <http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/estimativa-2018.pdf>

Assim como outros cânceres o de próstata se desenvolve através do acúmulo de mutações somáticas e alterações epigenéticas que resultam em inativação de genes supressores tumorais e ativação de oncogenes (DE MARZO et al., 2007). A mutação nos genes afetados ocorre de uma maneira que subverte sua função normal, contribuindo assim para os vários processos considerados característicos como a autossuficiência em sinais de crescimento, insensibilidade aos sinais anticrescimento, evasão de apoptose, aquisição de potencial replicativo ilimitado, angiogênese sustentada, invasão tecidual e metástase (HANAHAHAN & WEINBERG, 2011; UMAR et al., 2012).

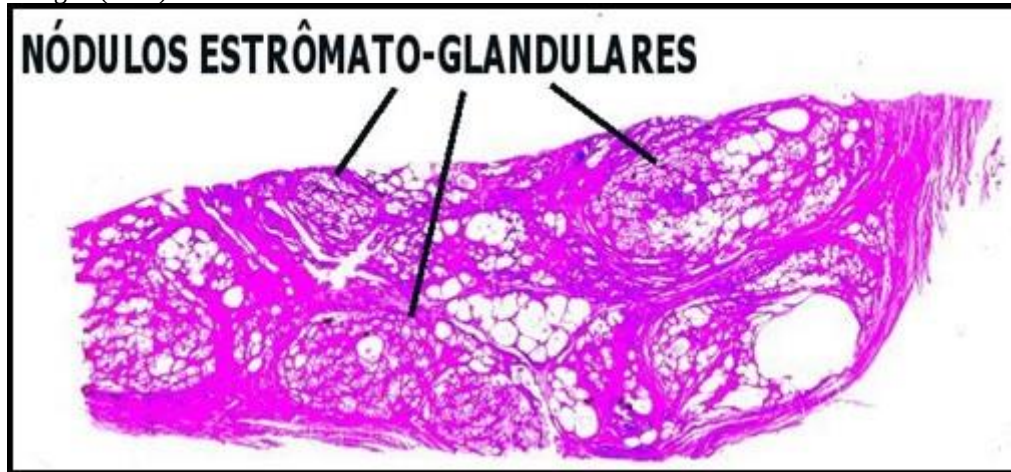
A maioria dos cânceres de próstata tem uma evolução muito lenta (leva cerca de 15 anos para atingir 1 cm³), o que leva a um aparecimento tardio dos sintomas ou fica de forma assintomática por toda a vida e não se torna problema de saúde ao homem. Mas alguns tumores aumentam rapidamente e se alastram para outros órgãos e podem levar o paciente à morte (Moyer et al., 2012). Existem alguns fatores de risco que parecem contribuir para o desenvolvimento do câncer de próstata, tais como, elevado consumo de carne vermelha, gorduras e derivados do leite, além de tabagismo, exposições ambientais e raça dos indivíduos (SCHULMAN et al, 2000; BARRINGTON et al, 2015).

O histórico familiar de pai ou irmão com câncer de próstata antes dos 60 anos de idade pode aumentar de 3 a 10 vezes a possibilidade de o indivíduo desenvolver a doença em relação à população em geral. Os estilos de vida compartilhados entre os membros da família e as características herdadas podem elevar a probabilidade de o homem desenvolver a doença (DE MEDEIROS et al, 2011). No entanto, o principal fator de risco é a idade, este tumor raramente é encontrado em homens com idade inferior a 40 anos e aumenta significativamente a incidência por cada década de vida, por isso, esta patologia é conhecida como doença da terceira idade, por ser mais comum em homens com idade superior a 50 anos, e 85% dos casos são constatados em idades acima de 65 anos. O número de casos vem crescendo lentamente, e se tem pouco conhecimento de sua etiologia (AMORIM et al., 2011).

2.2 DOENÇAS PROSTÁTICAS E DIAGNÓSTICO

A próstata é alvo de várias patologias, como por exemplo, a hiperplasia benigna, a prostatite e o câncer. A prostatite trata-se do estado inflamatório e/ou infeccioso da glândula prostática, ou seja, descreve-se como uma combinação de doenças infecciosas (prostatite bacteriana aguda e crônica) e ainda como uma inflamação assintomática. A hiperplasia benigna prostática (HBP) caracteriza-se por um aumento no número de células do epitélio e do estroma prostático (ver figura 2), resultando numa alteração estrutural acompanhada por remodelação nodular da zona de transição e também da região periuretral da próstata. A hiperplasia afeta tanto o estroma como o parênquima glandular e causa aumento de tamanho da zona de transição (RIYACH et al., 2014; SHAH & ZHOU, 2012). Apesar de serem desconhecidas às causas exatas da HBP, existem fatores que podem estar na origem da mesma, a idade, aumento dos níveis de testosterona, dieta e predisposição familiar (MIRONE et al 2004).

Figura 2: lâmina histológica de segmento de próstata corada em HE, mostrando áreas de hiperplasia prostática benigna (HPB)

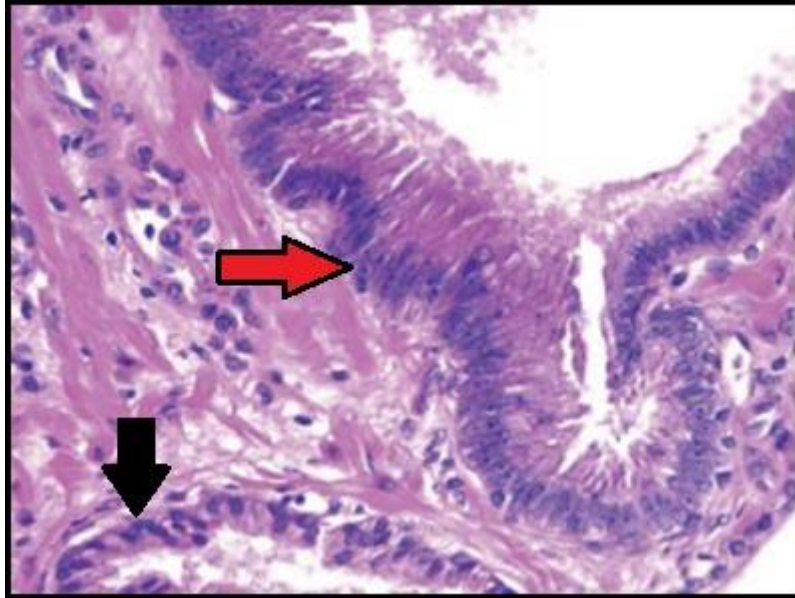


Fonte: <http://anatpat.unicamp.br/lamuro20.html>

A testosterona é necessária para estimular o desenvolvimento e crescimento das células da próstata uma vez que sua hiperplasia depende do androgênio mais potente, a di-hidrotestosterona (DHT), um metabolito da testosterona. A DHT liga-se a receptores de androgênio (AR) presentes no núcleo, de modo a promover a transcrição de sequências específicas de DNA, influenciando a síntese proteica e o aumento do número de células da próstata (HEILEIN, 2004). Assim como os demais tecidos do corpo humano, a glândula prostática é composta por células que se desenvolvem de forma ordenada e controlada, e em caso de disfunção do ciclo celular, ocorre divisão desordenada que pode originar o tumor. A neoplasia pode ser benigna ou maligna (CORRÊA et al., 2003), porém, o câncer de próstata pode ser precocemente detectado através de triagem (RHODEN; AVERBECK, 2010).

A presença de neoplasia prostática de alto grau (NIP, ou HGPIIN, em inglês) é considerada lesão precursora de neoplasia e não um câncer propriamente dito (ver detalhes na figura 3). A presença de NIP de baixo grau não deve ser relatada no laudo histopatológico devido à confusão com epitélio normal, pois a sua relação com a neoplasia não está definida (THOMPSON IM, 2007). É indicada a rebiópsia apenas nos casos de NIP alto grau em mais de 2 fragmentos, quando a biópsia não foi representativa (menos de 8 fragmentos). Ou quando há aumento do PSA no seguimento. Nos demais casos a frequência de detecção de neoplasia é baixa (13,3%) na rebiópsia, e essa não deve ser indicação de rotina (HERAWI, 2006).

Figura 3: lâmina histológica de segmento de próstata corada em HE, mostrando Neoplasia prostática de alto grau (HGPIN) com presença de células atípicas com núcleo hiper cromático e nucléolo proeminente (seta vermelha) numa estrutura glandular benigna (seta preta).



Fonte: EPSTEIN, J.I., 2012.

A proliferação atípica de pequenos ácinos (ASAP), em linhas gerais, é usado para descrever a identificação de glândulas atípicas cujos critérios morfológicos são insuficientes para um diagnóstico definitivo de câncer (WARLICK C, 2015). O exame anatomopatológico pode mostrar ASAP, o que pode corresponder a um câncer da próstata em fase inicial ou uma lesão simuladora de câncer histologicamente. Entretanto, ainda que haja incerteza quanto à existência da doença, significa que há algo de anormal acontecendo (CARAPEBA, 2010).

A detecção precoce do câncer de próstata se dá pelo exame de toque retal (TR) e determinação da concentração sérica do antígeno prostático específico (PSA) (CANDAS et al, 2000). É importante à associação da dosagem de PSA ao TR, já que o TR tem alta especificidade (94%), porém baixa sensibilidade (50%), assim como baixo valor preditivo positivo (21%-53%). Elevados níveis séricos de PSA é indicação de biópsia prostática guiada pela ultrassonografia transuretral, único método diagnóstico de neoplasia (RODAM et al, 2005). Devido a sua baixa especificidade, quando uma biópsia prostática é realizada em pacientes com níveis de PSA entre 3,0 e 10,0 ng/ml são observadas taxas de resultados negativos de aproximadamente 70 a 80% (DJAVAN et al., 2000). Devido à baixa sensibilidade do ultrassom, os protocolos convencionais de biópsia têm demonstrado taxas elevadas falso-negativos (WELSH et al., 2007). Atualmente ganha espaço a ressonância magnética multiparamétrica da próstata e o uso de outros marcadores, como o PCA3 e o 4Kscore. O PCA3 é um RNA

tecido-específico da próstata e que está superexpresso no câncer. O 4Kscore utiliza uma combinação de parâmetros clínicos com frações do PSA e Kalicreína humana tipo 2 e informa a probabilidade de uma biópsia apresentar câncer de próstata de alto grau (VICKERS et al, 2010; PAREKH et al, 2015).

2.3 ESTADIAMENTO

O prognóstico depende fundamentalmente do estágio tumoral, chamado de classificação de tumor maligno (TNM) e do grau de diferenciação histológica. A progressão do câncer de próstata, entretanto, é variada; existem tumores de baixo grau que têm evolução lenta enquanto outros possuem alta capacidade de progressão (NAGAR M, 2011). Atualmente, não há nenhum marcador definitivo que permita a diferenciação entre estas formas de tumores, no entanto, um dos mais importantes fatores prognósticos é a graduação histológica, sendo a graduação de Gleason a mais utilizada. Existem cinco padrões na escala de graduação de Gleason para o câncer de próstata considerando o padrão glandular e a sua relação com o estroma prostático. O diagnóstico final é dado pela soma dos valores dos dois focos neoplásicos mais representativos do tumor, de forma que as neoplasias serão classificadas em um escore de 2-10 (GLEASON, 1992; EPSTEIN et al, 2005).

Tumores com escore de Gleason 2-6 são considerados bem diferenciados e têm uma progressão lenta (indolente), enquanto os tumores com escore de 7-10 têm uma progressão mais acelerada (GLEASON, 1992). As diversas revisões do sistema de graduação de Gleason mostraram que muito raramente se diagnostica um tumor com escore de 2 a 5, sendo que na biópsia a menor graduação é o Gleason 6 (3+3) (EPSTEIN et al, 2012). Analisando os dados da literatura que demonstram um comportamento indolente da neoplasia Gleason 6 (CARTER et al, 2012) a Sociedade Internacional de Patologia Urológica (ISUP) propôs um novo sistema de graduação que classifica os tumores de 1 a 5 como exposto na Figura 4 A e B, sendo grau 1 correspondente a Gleason 3+3, grau 2 ao Gleason 3+4, grau 3 Gleason 4+3, grau 4 Gleason 3+5, 5+3 e 4+4 e por fim o grau 5 corresponde aos Gleason 4+5, 5+4 ou 5+5 (EPSTEIN et al, 2016). Essa nova graduação recomendada pela ISUP se mostra mais realista ao prognóstico dos pacientes acometidos pelo CaP e busca melhorar o desempenho de grau histológico.

Figura 4. A) Esquematização da nova graduação proposta pela ISUP para o CaP e as curvas de sobrevida livre de recidiva de acordo com a nova graduação (Epstein et al, 2014).

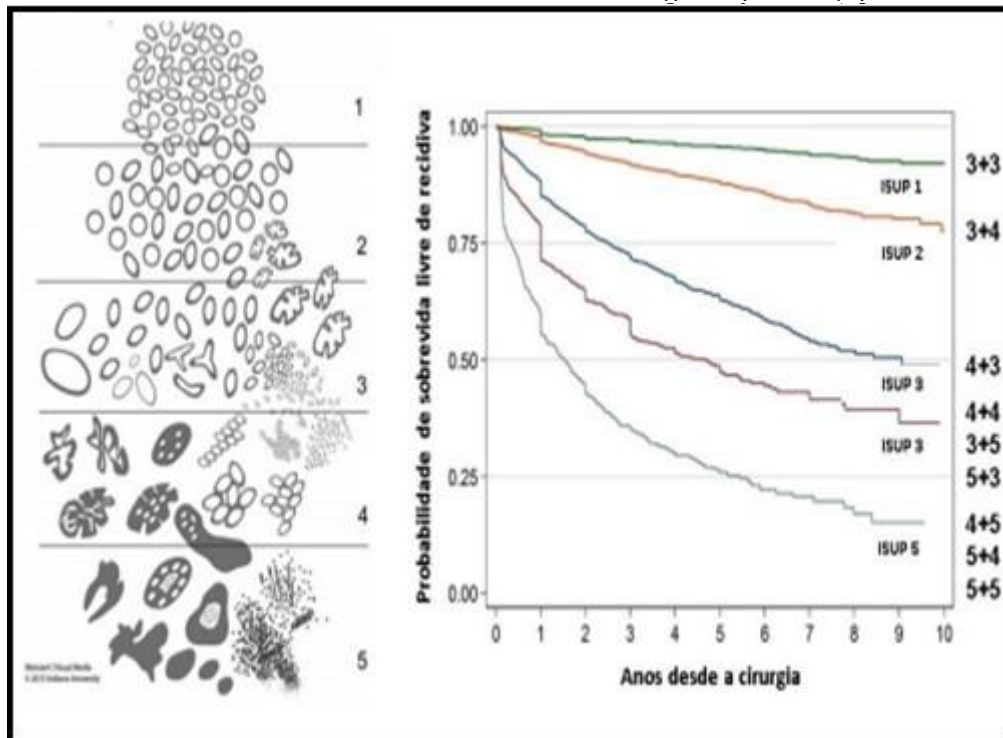


Figura 4. B) tabela do gráfico acima, retirado de um estudo multi-institucional apresentado na reunião da ISUP (novembro/2014, Chicargo)

Contagem final de Gleason na biópsia	Grupos prognósticos	5 anos livre de progressão bioquímica
≤6	1	97.5%
3+4=7	2	93.1%
4+3=7	3	78.1%
8	4	63.6%
9 ou 10	5	48.9%

Um segundo valor prognóstico importante é o volume tumoral, que pode ser avaliado na biópsia prostática ou na peça cirúrgica após a prostatectomia radical. Porém tumores de qualquer tamanho apresentando Gleason > 7 tendem a evoluir a distância (LEITE et al, 2005). O estadiamento também é um dos principais fatores prognósticos. A classificação TNM no câncer de próstata segue a recomendação do AJCC (AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER - 2010).

2.4 PROGRESSÃO DO CÂNCER DE PRÓSTATA

Vários estudos têm demonstrado uma relação entre o câncer de próstata e a inflamação. Pensa-se que a exposição a fatores ambientais, como agentes infecciosos, substâncias cancerígenas, alimentares e desequilíbrios hormonais, pode levar à lesão da próstata e ao desenvolvimento da inflamação crônica, que se caracteriza como atrofia inflamatória proliferativa (PIA) da próstata, que serve de “precursor” para a neoplasia intraepitelial prostática e para o câncer (DE MARZO et al, 2007).

O câncer de próstata desenvolve-se a partir de uma lesão precursora, de elevado grau de NIP, que geralmente se caracteriza por diferenciação e proliferação celular inapropriada, onde a sobrevivência das células epiteliais glandulares pode levar ao carcinoma invasivo. O carcinoma invasivo pode progredir localmente ou para metástase, com pior prognóstico da doença (SHUKLA et al, 2009). O mecanismo de progressão do câncer de próstata ainda é pouco compreendido, mas acredita-se que envolve um acúmulo de alterações genéticas, como por exemplo, a fusão do gene TMPRSS2 ao fator de transcrição ERG que tem sido identificado como uma alteração molecular frequentemente observada no câncer de próstata (NAM e cols, 2007) ou a hipermetilação do gene GSTP1 que é observada em mais de 90% dos casos.

Para pacientes com tumores de baixo risco e expectativa de vida maior que 10 anos e menor que 20 anos, a vigilância ativa (VA) pode ser a primeira opção de conduta. Na verdade, a prática da vigilância ativa pode ser considerada como uma possibilidade de postergar o tratamento curativo para um melhor momento futuro sem acarretar um risco aumentado de progressão da doença (DAHABREH, 2012; THOMPSON, 2007). Os critérios para entrada na VA são variados, porém o mais utilizado é o do grupo do professor Klotz de Toronto que considera estágio clínico T1c ou T2a, Gleason ≤ 6 e PSA ≤ 10 ng/ml. Os pacientes em vigilância ativa são monitorados por PSA, toque retal e novas biópsias da próstata, porém ainda não existem dados apropriados para se definir os intervalos e quais alterações deveriam desencadear a intervenção. O aparecimento de tumor de alto grau na biópsia parece ser o parâmetro mais utilizado para intervenção atualmente (KLOTZ, 2010).

2.5 MMP: ESTRUTURA E REGULAÇÃO

A quantidade de atividades realizadas pelas MMP requisita de um sistema de regulação refinado e coordenado por diferentes categorias de controle, já que níveis desregulados das metaloproteinases podem representar um risco elevado à constância da homeostasia (CHANG et al., 2015; GAFFNEY et al., 2015; NAVRATILOVA; KOLEK; PETREK, 2015).

A atividade das MMP é estreitamente regulada por inibidores endógenos em fluidos (α -macroglobulina e trombospondina-2) e os tecido específicos – inibidor tecidual de metaloproteinase (TIMP) e o RECK (MELDOLESI, 2015; NAVRATILOVA; KOLEK; PETREK, 2015). Os inibidores teciduais compreendem quatro membros, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 e TIMP-4, com alta homologia estrutural e que atuam antagonicamente as MMP, ao formar uma ligação específica e quase sempre irreversível com essas proteases (EGEBLAD; WERB, 2002; LIZOTTE-WANIEWSKI; BREW; HENNEKENS, 2015). O aumento desses inibidores, ou, a superexpressão dos mesmos, têm sido associados a patologias de natureza inflamatória como a um fator protetor e/ou procrastinador da progressão da doença (NAVRATILOVA; KOLEK; PETREK, 2015).

A degradação específica de componentes da matriz extracelular (MEC) é feita por cinco famílias de proteases distribuídas intra e extracelularmente, são elas: as metaloproteases, as serinas proteases, as cisteínas proteases, os ácidos aspárticos proteases e as treoninas proteases (THEOCHARIS et al., 2015). Em especial, a grande família de proteases formada pelas metaloproteinases de matriz (MMP) desempenha importante repercussão fisiológica ao clivarem especificamente componentes da MEC. Atividades essas que modulam a biodisponibilidade de fatores de crescimento, a migração celular, a angiogênese, entre outros. Além das ações envolvidas em processos patológicos, como os presentes na inflamação e no câncer (GIANNANDREA; PARKS, 2014; NISSINEN; KÄHÄRI, 2014; SWINEHART; BADYLAK, 2015).

As MMPs pertencem a uma família de enzimas que necessitam da presença do zinco para realizarem suas funções. São classificadas de acordo com seu domínio e organização estrutural, além do substrato específico para degradação (VISSE R, 2003). O primeiro relato sobre as metaloproteinases foi publicado por Jerome Gross e Charles Lapière, onde encontraram uma enzima ativa em cultura de pele que degradava colágeno tipo I (GROSS, 1962). Conforme Woessner JF Jr, 1991, dentre as enzimas degradadoras da MEC, as MMPS se destacam, pois podem agir em um ou mais componentes, sendo que juntas têm a capacidade de degradar todos os elementos proteicos conhecidos da MEC.

Essas proteases são sintetizadas como pré e pró-MMP, das quais o peptídeo sinal é removido resultando na forma pró-MMP, estado ainda inativo. Para a bioatividade dessas enzimas é necessário a remoção enzimática do grupo cisteína-sulfidril ligado ao sítio catalítico Zn^{2+} dependente, como ilustra a figura 5, (MACCOLL; KHALIL, 2015). A maioria das ativações das MMP é feita no ambiente extracelular por outras MMP, com exceção das MT-MMP que têm sua ativação no meio intracelular por serinas proteases ou furinas convertases (PAHWA; STAWIKOWSKI; FIELDS, 2014).

De acordo com Khamis et al (2013), diferente da maioria das MMPs, a MMP-26 é expressa na região intracelular, o que sugere papéis incomuns nas células e tecidos. Guo et al (2018) detectaram imunorreatividade da MMP-26 principalmente no citoplasma de células de glioma e Hu et al (2014) encontraram coloração predominantemente no citoplasma e/ou membrana em células de carcinoma colorretal. Em nossa análise, observamos que a expressão em células malignas de próstata revelou padrão nuclear e citoplasmático, confirmando essa localização diferenciada da MMP-26.

As MMPs podem atuar como moduladoras de processos inflamatórios, uma vez que sua capacidade proteolítica da MEC pode ajudar na migração leucocitária e promover catálise de fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas. Apesar disso, ainda não se tem estabelecido os efeitos pró ou anti-inflamatórios das MMPs (NISSINEM, KAHARA, 2014). O estudo de Khamis et al (2013) sugeriu que MMP-26 pode desempenhar um papel anti-inflamatório. Eles observaram que células transfectadas com cDNA de MMP-26 apresentavam diminuição da expressão de genes inflamatórios, por outro lado, células com silenciadores gênicos de MMP-26 mostravam baixa expressão do receptor B da interleucina-10 (IL10RB), sugerindo que a deficiência de MMP-26 pode promover inflamação pela inibição da sinalização mediada por IL10RB. Por outro lado, Li et al (2004) mostrou que a clivagem de $\alpha 1$ -antitripsina (AAT) mediada por MMP-26 correlaciona-se com maior infiltração de leucócitos, sugerindo a capacidade da MMP-26 de promover inflamação.

Figura 5 A: Imagem representativa da formação molecular comum as MMP. Constituída por um domínio pró-peptídeo, um domínio catalítico de ligação ao Zn^{2+} , o qual se liga a uma região de dobradiça que faz a comunicação com o domínio conservado de hemopexina.

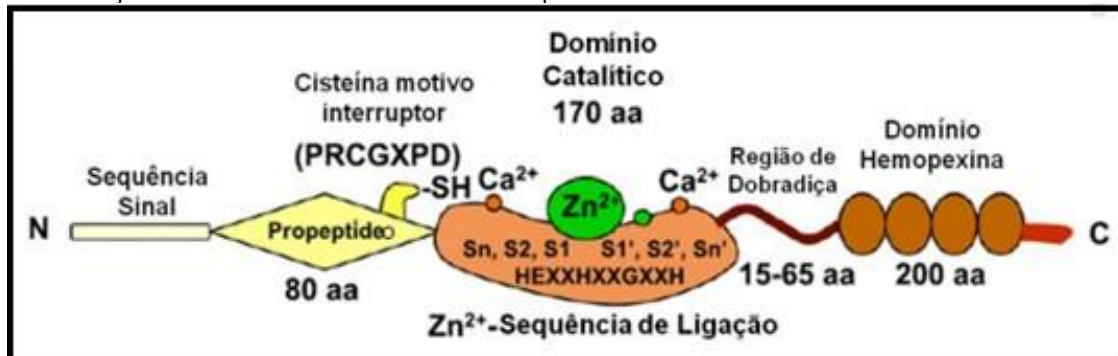


Figura 5 B: A MMP-26 também chamada de endometase ou matrisilina 2 é a menor do membro da família, pois possui só um domínio mínimo,



Fonte: MACCOLL; KHALIL (Adaptado), 2015.

A expressão gênica das metaloproteinases pode ser estimulada pela interleucina-1, pelo fator de crescimento epidérmico (EGF), pelo fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e pelo fator de necrose tumoral alfa ($TNF-\alpha$) (RUNDHAUG, 2005). As metaloproteinases de matriz degradam a membrana basal, que são barreiras normais para a migração das células e invasão vascular (VISSE, 2003; DUFFY, MAGUIRE, HILL, 2000). Além disto, interagem com as moléculas de adesão celular, como a laminina-5 e a e-caderina, alterando a adesão entre as células tumorais e facilitando o movimento destas através da matriz extracelular (CURRAN; MURRAY, 2000). A interação entre as células tumorais e o estroma é uma condição vital para o crescimento do tumor, invasão celular e metastização, este processo envolve fatores de crescimento, moléculas de adesão, estímulos angiogênicos, fatores de coagulação e metaloproteinases de matriz (FOX, GENERALI, HARRIS, 2007; UZZAN et al., 2004).

2.6 MMP-26 E A CARCINOGENESE

Para Kerkela et al, 2003, as metaloproteinases de matriz formam um grupo de enzimas com a habilidade comum de degradar vários componentes da matriz extracelular, principalmente colágeno, elastina, laminina, fibronectina e proteoglicanos e estão envolvidas em vários processos fisiológicos normais, como, por exemplo, desenvolvimento embrionário,

ovulação, renovação e remodelação da matriz extracelular. Entretanto, elas também estão presentes em situações patológicas, tais como a tumorigênese, a metástase e a artrite reumatóide. Conforme Justulin (2010), tem sido demonstrado que uma alta expressão de metaloproteinase da matriz está diretamente associada ao potencial invasivo e metastático de vários tumores malignos humanos, como os de mama, cólo do útero, pulmão e próstata.

A capacidade das MMPs de modular a invasão tumoral e metástase advém de sua atividade proteolítica nos componentes da MEC bem como ativação de fatores de crescimento como o TGF- β que resulta em aumento de proliferação celular e ativação de receptores ativados por proteinases (PARs). Entretanto, MMPs também apresentam efeitos protetores e anti-tumorigênicos em vários estágios do câncer (Khamis et al, 2016). O estudo de Savinov et al (2006) mostrou que a expressão de MMP-26 no carcinoma ductal de mama in situ resultou em prognóstico favorável e maior sobrevivência de pacientes devido à proteólise do receptor de estrogênio β (ER β). Já Khamis et al (2016) forneceram evidências para um papel protetor da MMP-26 em próstata. Seu trabalho revelou que muitas células tumorais prostáticas expressando MMP-26 estavam sofrendo apoptose via Bax. A hiperregulação de MMP-26 estaria desempenhando um papel pró apoptótico relacionado a um menor grau de invasão e progressão da doença.

A expressão desses inibidores nas enfermidades pode ser ilustrada na formação das placas ateroscleróticas com os níveis de expressão elevados de TIMP-1 e baixos níveis de TIMP-2 (DI GREGOLI et al., 2015). Assim como o TIMP-2, que se apresenta em baixos níveis em crianças que vieram a desenvolver displasia broncopulmonar, sugerindo uma associação inversamente proporcional entre expressão de inibidor e o risco da doença (LEE et al., 2015), já outros pesquisadores encontraram níveis aumentados de mRNA de TIMP-2, in vitro, foram associados ao aumento da taxa de proliferação celular em tumores de pulmão. Podendo os TIMP futuramente funcionarem como eficientes biomarcadores do câncer, potenciais alvos terapêuticos e/ou adjuvantes quimioterápicos (VANDENBROUCKE; LIBERT, 2014; KIM et al., 2015a; RICCI; BRUZZESE; DI CARLO, 2015).

Portanto, faz-se necessária a identificação de novos biomarcadores que permitam um diagnóstico precoce, preciso e que auxiliem no desenvolvimento de novas estratégias para o diagnóstico, prognóstico e tratamento do câncer de próstata. Vários estudos têm associado as MMPs a fenótipos mais agressivos de diversos tipos de câncer, incluindo o carcinoma de próstata. Este trabalho investigou a expressão da metaloproteinase de matriz 26 em tumores benignos e malignos da próstata, visando contribuir no esclarecimento do processo carcinogênico.

3 METODOLOGIA

3.1 OBTENÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

Foram obtidos 150 blocos de parafina de pacientes que realizaram biópsia de próstata, entre 2012 e 2016, no serviço de anatomia patológica do Hospital das Clínicas da UFPE, bem como os respectivos prontuários resgatados no Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do hospital. Foram incluídos pacientes com neoplasia intraepitelial prostática, adenocarcinoma de próstata e hiperplasia nodular prostática e excluídos pacientes com diagnóstico de prostatites. As amostras foram divididas em 4 grupos: 1º- grupo atrofia (regiões periféricas de tecido prostático livre de tumor) com 25 blocos, 2º- grupo hiperplasia (hiperplasia prostática benigna) com 50 blocos, 3º- Grupo Tumor (adenocarcinoma prostático – Invasivo) com 50 blocos e 4º- grupo NIP (neoplasia intraepitelial prostática) com 25 blocos. O presente trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em Pesquisa/ Centro de Ciências da Saúde/ Universidade Federal de Pernambuco, sob o Número de: 2.419.019, tendo sido obediente integralmente os princípios éticos estabelecidos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

3.2 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA PARA MMP-26

A imuno-histoquímica (IHQ) foi realizada em espécimes colhidas para biópsias e emblocadas em parafina que foram utilizadas para o diagnóstico histopatológico contendo representativas porções do tumor. Foram realizados cortes em material parafinado de 4µm (micras) de espessura. Inicialmente as amostras foram desparafinadas em xilol e reidratadas. Depois foi realizada a recuperação antigênica a 125°C em câmara de pressão Pascal da Dakocytomation. As lâminas passaram por resfriamento a temperatura ambiente e a peroxidase endógena foi bloqueada por 7,5 minutos na solução bloqueadora de peroxidase. Após resfriadas foram incubadas em overnight com anticorpo monoclonal(clone: TG-9), (Santa Cruz Biotechnology) na diluição de 1:500 contra as proteínas em estudo em geladeira à 8°C e em seguida lavadas com tampão fosfato (PBS). Novamente as lâminas foram incubadas com solução de ampliação (envision-DAKO), depois lavada em tampão novamente e incubada em solução cromógena de diaminobenzidina (DAB), lavadas em água, contracoradas em hematoxilina, desidratadas e montadas. A análise da reatividade foi realizada através do núcleo e citoplasma das células epiteliais usando os seguintes escores: Negativo (ausência de

reatividade ou reatividade pontual fraca). Positivo (reatividade difusa na camada epitelial com marcação de fraca à forte), Os casos Positivos foram classificados semiquantitativamente, dependendo da proporção de células reativas, de 1 a 3 pontos (1-de 10% a 25% das células epiteliais reativas, classificada de fraca; 2- de 26 a 50%, classificada de moderada e 3- acima de 51% de reatividade, classificada de forte). Todas as amostras foram analisadas em duplicata, em seguida, foram escaneadas pelo sistema de captura de imagem.

3.3 ANÁLISE DOS FATORES BIOLÓGICOS

Foi analisado o nível da atividade ocupacional dos pacientes, além da faixa etária etnia, etilismo, tabagismo e os níveis de PSA livre, PSA total e sua relação.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar diferença significativa entre os grupos em relação às variáveis categóricas foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson, ou alternativamente o teste Exato de Fisher e no caso da impossibilidade de obtenção do teste Exato de Fisher foi utilizado teste da Razão de Verossimilhança. Para a comparação entre os grupos em relação às variáveis numéricas foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Mann-Whitney na comparação entre o IHQ positivo ou negativo; no caso de diferença significativa pelo teste de Kruskal-Wallis foram utilizadas comparações múltiplas do referido teste. A margem de erro utilizada foi de 5,0%. Os dados foram digitados no EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos foi o IMB-SPSS versão 23.

4 RESULTADOS

ARTIGO CIENTÍFICO

EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA ESPECÍFICA DE MMP-26 EM ADENOCARCINOMA PRÓSTATICO

Romildo Luciano da Silva¹, Ingrid Tavares de Lima², Jacinto da Costa Silva Neto³.

1 Pós-Graduação em Morfotecnologia (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE), 2 Pós-Graduação em Biologia aplicada a Saúde (UFPE), 3 Departamento de Histologia e Embriologia (UFPE).

RESUMO

O câncer de próstata é o segundo câncer mais incidente nos homens em todo o mundo. As metaloproteinases de matriz (MMP) têm sido apontadas como biomarcadores para diversas doenças, inclusive câncer. A elevação da expressão dessas enzimas tem sido relacionada a uma maior agressividade tumoral, uma vez que favorecem processos de invasão, angiogênese e metástase. A MMP-26 é expressa constitutivamente no endométrio e também em células cancerígenas de origem epitelial. Sua regulação positiva foi observada em diferentes linhagens celulares malignas, porém ainda são poucas as pesquisas em carcinoma prostático. Para avaliar a expressão de MMP-26, nós realizamos imuno-histoquímica (IHQ) em 150 amostras de lesões prostáticas benignas e malignas de pacientes atendidos no hospital das clínicas de Pernambuco. Os níveis séricos de PSA foram mais elevados nos casos de carcinoma do que na hiperplasia ou atrofia prostática. 70 das 150 amostras apresentaram imunopositividade na IHQ, sendo mais prevalente nos casos de carcinoma (44 de 70 casos) com intensidade moderada e ou forte. A expressão e a intensidade da reação de MMP-26 mostraram associação significativa com os valores do PSA total. Muitos estudos vêm demonstrando o potencial de MMP-26 como marcador tumoral, nossos resultados revelaram que sua imunoexpressão foi útil para diferenciar casos benignos e malignos da próstata, podendo auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias para o diagnóstico, prognóstico e tratamento do câncer de próstata.

Palavras chave: Metaloproteinase. Imuno-histoquímica. Câncer de próstata.

ABSTRACT

Prostate cancer is the second most common cancer in men around the world. Matrix metalloproteinases (MMPs) have been identified as biomarkers for various diseases, including cancer. The elevation of the expression of these enzymes has been related to a greater tumor aggressiveness, since they favor processes of invasion, angiogenesis and metastasis. MMP-26 is constitutively expressed in the endometrium and also in cancer cells of epithelial origin. Its positive regulation was observed in different malignant cell lines, however, there are still few studies on prostatic carcinoma. To evaluate the expression of MMP-26, we performed immunohistochemistry (IHC) on 150 samples of benign and malignant prostatic lesions of patients treated at the hospital of the clinics of Pernambuco. Serum PSA levels were higher in cases of carcinoma than in hyperplasia or prostatic atrophy. 70 of the 150 samples showed immunopositivity in IHC, being more prevalent in cases of carcinoma (44 of 70 cases) with moderate and / or strong intensity. The expression and intensity of the MMP-26 reaction showed a significant association with total PSA values. Many studies have demonstrated the potential of MMP-26 as a tumor marker. Our results have shown that its immunoexpression has been useful in differentiating benign and malignant cases from the prostate and may help in the development of new strategies for the diagnosis, prognosis and treatment of prostate cancer.

Keywords: Metalloproteinase. Immunohistochemistry. Prostate cancer.

INTRODUÇÃO

O carcinoma prostático (CaP) é um dos mais incidentes no mundo, ocupando a segunda posição entre as neoplasias malignas que acometem os homens, atrás apenas do câncer de pulmão (Ferlay et al., 2012; Noone et al., 2017). As ferramentas de triagem do CaP incluem a dosagem sérica de antígeno específico da próstata (PSA), exame retal e biópsia. Apesar do nome, o PSA apresenta baixa especificidade, elevando-se também em condições benignas como prostatite e hiperplasia (HBP), o que resulta em tratamentos excessivos e altas taxas de biópsia negativas (El Chaer et al., 2018). Diante disso, tem sido frequente a pesquisa por novos marcadores para um diagnóstico precoce e diferencial e/ou que possa contribuir com o valor prognóstico do CaP.

As MMPs são endopeptidases que promovem degradação e remodelamento da matriz extracelular e desempenham importante papel em vários processos fisiológicos e patológicos (Mohd et al., 2013). Sua expressão exacerbada está associada a invasão, angiogênese, metástase e mau prognóstico em diversos tipos de câncer, como tireoide (Meng et al., 2014), mama (Cid et al., 2018) e próstata (Pouyanfar et al., 2016). A MMP-26 é o menor membro da família MMP. Foi descoberta recentemente com expressão constitutiva no endométrio e placenta, bem como, em células cancerígenas de origem epitelial (Park et al., 2000). Seus principais substratos incluem fibronectina, fibrinogênio, vitronectina, laminina e colágeno tipo IV. Possui também capacidade de ativar a pró-MMP-9, conhecida por promover invasão e angiogênese em diversos tumores humanos (Khamis et al., 2013; Wang et al., 2014).

Alta expressão de MMP-26 já foi demonstrada em linhagens celulares de câncer de mama, pulmão, fígado, endométrio, ovário e esôfago (Lee et al., 2011; Zhao et al., 2015; Yu et al., 2015; Nishi et al., 2013; Ripley et al., 2006; Yamamoto et al., 2004), contudo, pesquisas sobre sua atuação no câncer de próstata ainda são escassas. Recentemente, o valor prognóstico de MMP-26 foi avaliado no câncer colorretal, onde a expressão acentuada foi associada com invasão, metástases e menor sobrevida global dos pacientes (Hu et al., 2014) e no câncer de próstata, sua elevação tanto em níveis séricos quanto teciduais, revelou seu potencial como biomarcador (Cheng et al., 2017). Diante disso, nosso objetivo foi analisar a imunexpressão de MMP-26 em diferentes lesões prostáticas a fim de avaliar seu valor prognóstico para o carcinoma de próstata.

METODOLOGIA

Foram obtidas 150 amostras histológicas de pacientes apresentando lesões prostáticas atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE) no período de 2012 a 2016. De acordo com o tipo de lesão e diagnóstico, as amostras foram divididas em 4 grupos: atrofia prostática (N=25), neoplasia intraepitelial prostática (N=25), hiperplasia benigna prostática (N=50) e adenocarcinoma prostático (N=50). Os blocos histológicos bem como seus respectivos laudos foram resgatados no setor de patologia do mesmo hospital. Dados biológicos como dosagem de PSA, idade e etnia dos pacientes foram obtidas dos prontuários. Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da UFPE com número CAAE 79701517100005208.

Análise Imuno-histoquímica: Os blocos contendo parte representativa do tumor foram submetidos a microtomia e cortes de 4µm seguiram para reação. As lâminas foram desparafinizadas em xilol, banhadas em solução decrescente de álcool etílico (100%, 100% e 70%) e água deionizada por 5 minutos cada. Após a recuperação antigênica com tampão citrato (10 mM, pH 6,0) e o bloqueio da peroxidase endógena e proteínas inespecíficas com as soluções contidas no kit Envision Flex (Dako Denmark A/S), as amostras foram incubadas com o anticorpo anti-MMP-26 (FNab 05242, Fine Test, 1:500) em câmara úmida, overnight, a 4°C. Em seguida, o material foi imerso em tampão fosfato salino (PBS, 100 mM, pH 7,2) e incubado com o polímero HRP (Horseradish peroxidase). Após lavagens com PBS, os tecidos foram incubados com o revelador Diaminobenzidina (DAB) e contracolorados com hematoxilina, imersos em água corrente e solução alcoólica crescente (70%, 100% e 100%) por 5 minutos cada, imersos em xilol e as lâminas foram montadas com lamínulas interfaceadas com resina sintética. O controle negativo foi realizado utilizando o mesmo protocolo na ausência do anticorpo primário. Para controle positivo foram utilizadas amostras conhecidas de adenocarcinoma endometrial.

Obtenção e Análise de Imagens: As células marcadas foram observadas em microscópio Zeiss AxioCam e sistema de captura de imagens Zen Blue edition 2011. Utilizou-se o parâmetro de quantificação manual, considerando as células epiteliais do parênquima. A reação foi descrita como negativa, quando foram marcadas e observada menos de quatro células epiteliais por campo e positivas quando se observou mais de quatro células por campo. A intensidade da reação foi avaliada semiquantitativamente de acordo com a reação no núcleo e/ou citoplasma das células: fraca, tabulado com uma cruz nos resultados (04 a 09 núcleos e/ou citoplasmas

reativos), moderada, tubulado com duas cruz (10 a 15 e intensidade superior a leve) e intensa, com três cruz (acima de 15 e intensidade superior a moderada).

Análise Estatística: para avaliar variáveis categóricas foi realizado o teste Qui-Quadrado ou alternativamente o teste Exato de Fisher e no caso da impossibilidade deste, o teste da Razão de Verossimilhança. Para variáveis numéricas foram utilizados o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Mann-Whitney na comparação entre IHQ positivo ou negativo. A margem de erro utilizada foi de 5,0%. Os dados foram digitados no EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos foi o IMB- SPSS versão 23.

RESULTADOS

Análise do Perfil dos pacientes: A idade dos participantes variou de 41 a 88 anos, com média de 66,83 anos. O maior percentual correspondeu aos pacientes com 60 a 69 anos (45,3%), seguida dos pacientes com 70 anos ou mais (36,7%) e os 18,0% restante tinham 41 a 59 anos. A etnia parda foi a mais prevalente (44%) e a menor foi a branca (10%), para 26,7% a informação estava ausente e 19,3% eram de etnia negra. Com relação a hábitos de risco para doenças prostáticas, foram registrados que 29,3% dos participantes são adeptos do etilismo e 32,7% do tabagismo, conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1: Resultado dos fatores de risco: faixa etária, etnia, etilismo e tabagismo

Variáveis (n= 150)	Grupo		NIP (n=25)		HPB (n=50)		ACP (n=50)		Valor p
	Atrofia (n=25)		N	%	n	%	n	%	
	n	%							
Faixa etária (anos) p⁽¹⁾ = 0,447									
41 a 59 (n=27)	3	12,0	5	20,0	12	24,0	7	14,0	
60 a 69 (n= 68)	12	48,0	11	44,0	17	34,0	28	56,0	
70 ou mais (n=55)	10	40,0	9	36,0	21	42,0	15	30,0	
TOTAL	25	100,0	25	100,0	50	100,0	50	100,0	
Etnia/cor p⁽²⁾ = 0,010*									
Branca (n=15)	1	4,8	3	17,6	3	7,0	8	27,6	
Parda (n= 66)	9	42,9	9	52,9	30	69,8	18	62,1	
Negra (n = 29)	11	52,4	5	29,4	10	23,3	03	10,3	
TOTAL	21	100,0	17	100,0	43	100,0	29	100,0	
Etilismo p⁽¹⁾ = 0,286									
Sim (n=44)	7	63,6	3	25,0	17	48,6	17	51,5	
Não (n=47)	4	36,4	9	75,0	18	51,4	16	48,5	
TOTAL	11	100,0	12	100,0	35	100,0	33	100,0	
Tabagismo p⁽¹⁾ = 0,649									
Sim (n=49)	9	60,0	6	42,9	19	50,0	15	41,7	
Não (n=54)	6	40,0	8	57,1	19	50,0	21	58,3	
TOTAL	15	100,0	14	100,0	38	100,0	36	100,0	

(*) Diferença significativa ao nível de 5,0%. (1) Através do teste Qui-quadrado de Pearson. (2) Através do teste Exato de Fisher. Nesta tabela não foram considerados os casos sem informação em cada variável.

Análise dos níveis de PSA dos pacientes: Os valores do PSA dos pacientes foram divididos de acordo com os níveis séricos, pois segundo a Sociedade Americana de Câncer o nível de PSA maior que 4 ng/ml é considerado anormal e as células prostáticas cancerosas produzem 10 vezes mais PSA que as normais, daí foram dividido em grupos até 4 ng/ml, considerado normal (24,7%), 4 a 10 ng /ml (48%), maior que 10 ng/ml (18%) e 14 pacientes não tinham essa informação. Os maiores percentuais corresponderam aos diagnósticos: ACP (26,7%), seguido de HPB (19,3%) e atrofia (17,3%) (tabela 2). As estatísticas das variáveis PSA livre, PSA total e percentual do PSA livre em relação ao total em cada exame no grupo total foi resumida da tabela 3. Foi observada diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$), uma vez que o percentual do PSA com valor na faixa mais de 4 a 10 foi mais elevado no grupo com atrofia (69,6%) e menos elevado no grupo HPB (40,0%), enquanto que o percentual com PSA até 4 foi mais elevado no grupo HPB (47,5%), menos elevado no grupo ACP (12,5%) e variou de 24,0% a 26,1% nos outros dois grupos. A média e a mediana do PSA total foram correspondentemente mais elevadas no grupo da ACP do que nos outros grupos e a menos elevada ocorreu no grupo Atrofia. Através dos testes de comparações múltiplas se comprova diferença significativa entre o grupo ACP e os demais grupos.

Tabela 2: Resultados dos exames PSA por grupos e exames de toque retal e histopatológico da amostragem total

Variáveis Exames	Total (n= 150)		Atrofia (n= 25)		Quantidade por grupo						Valor p
					NIP (n= 25)		HPB (n= 50)		ACP (n= 50)		
PSA	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	p ⁽¹⁾ = 0,002*
Até 4 ng/ml	37	24,7	06	26,1	06	24,0	19	47,5	06	12,5	
Mais de 4 a 10 ng/ml	72	48,0	16	69,6	14	56,0	16	40,0	26	54,2	
Mais de 10 ng/ml	27	18,0	01	4,3	05	20,0	05	12,5	16	33,3	
Não informado	14	9,3,0									
Toque Retal											
Presença de nódulo	36	24									
Ausência de nódulo	71	47,3									
Não Informado	43	28,7									
Histopatologia											
Atrofia	26	17,3									
NIP	10	6,7									
HPB	29	19,3									
ACP	40	26,7									
ASAP	02	1,3									
Outros	08	5,3									
Não informado	35	23,3									

(*) Diferença significativa ao nível de 5,0%. (1) Através do teste Qui-quadrado de Pearson.

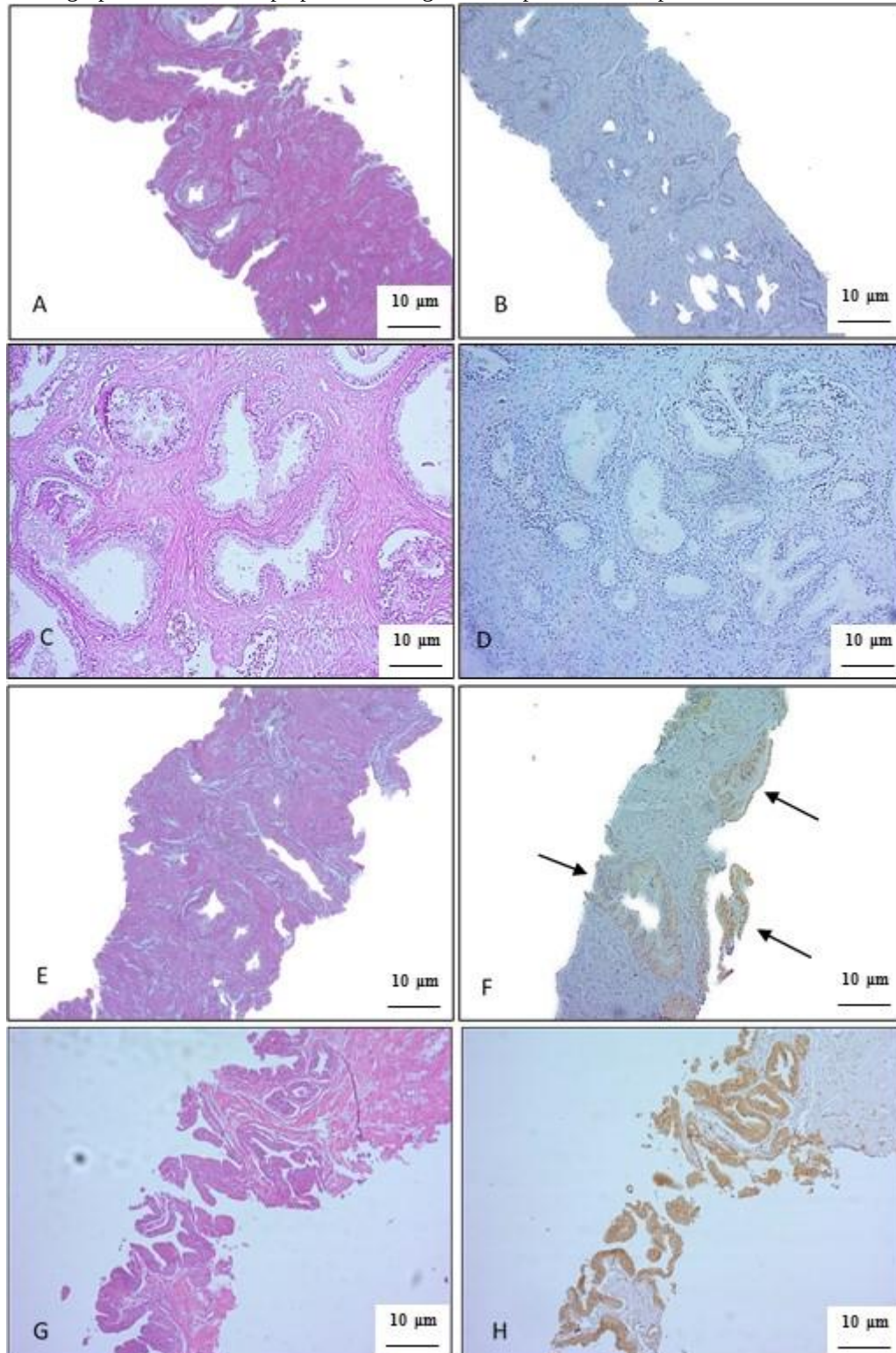
Tabela 3: Estatísticas de PSA livre, PSA total e relação percentual do PSA livre em relação ao PSA total em cada grupo e na amostragem total

Variáveis	Média ± DP Mediana (P25; P75)					Valor p
	Total (n=150)	Atrofia (n=25)	NIP (n=25)	HPB (n=50)	ACP (n=50)	
PSA total (n= 136)						
	10,68 ± 15,37 5,98 (3,85; 9,13)	5,95 ± 3,12 ^(A) 5,70 (3,90; 7,05)	8,22 ± 8,66 ^(A) 5,62 (3,70; 9,62)	8,81 ± 16,79 ^(A) 4,41 (2,13; 7,26)	15,80 ± 18,90 ^(B) 7,93 (5,46; 18,34)	p ⁽¹⁾ = 0,001*
PSA livre (n= 102)						
	1,19 ± 1,13 0,86 (0,50;1,42)	1,05 ± 0,37 0,88 (0,85; 1,43)	1,21 ± 1,36 0,81 (0,40; 1,56)	1,11 ± 1,09 0,82 (0,30; 1,37)	1,30 ± 1,25 0,86 (0,51; 1,74)	p ⁽¹⁾ = 0,628
PSA livre/total (n= 102)						
	17,56 ± 10,29 16,33 (10,30; 23,57)	21,20 ± 6,31 ^(A) 22,03 (16,30; 25,29)	19,29 ± 14,64 ^(A) 14,93 (8,27; 28,64)	19,93 ± 9,71 ^(A) 20,17 (15,25; 23,54)	12,85 ± 7,53 ^(B) 11,02 (8,43; 17,00)	p ⁽¹⁾ = 0,001*

(*) Diferença significativa ao nível de 5,0%. (1) Através do teste de Kruskal Wallis com comparações do referido teste. Se as letras entre parêntesis são todas distintas, comprova-se diferença significativa entre os grupos correspondentes.

Análise da expressão de MMP-26 por Imuno-histoquímica: A IHQ apresentou positividade em 70 das 150 amostras (46,7% dos casos), sendo mais prevalente no grupo carcinoma (63%), correspondendo a 46 casos (figura 1). Em relação a intensidade foi observada imunocoloração fraca em 35 casos (50%), sendo 22 de NIP, 02 de HPB e 10 de ACP; moderada em 29 casos (41%), sendo 01 em HPB e 28 em ACP; e intensa em 06 casos (8,5%), todos no grupo ACP. O padrão de coloração foi nuclear e citoplasmático. Na avaliação de intensidade se destaca que no grupo atrofia todos foram negativos, no grupo NIP a maioria (88,0%) tinham intensidade fraca e os 12,0% foram negativos, no grupo HPB a maioria (96,0%) foi negativa e os 8,0% restante tiveram intensidade fraca e no grupo ACP a maioria (62,0%) tinha intensidade moderada e os percentuais dos casos negativos, com intensidade fraca e intensidade forte foram respectivamente: 8,0%, 20,0% e 10,0% (tabela 4).

Figura 6: Fotomicrografias da próstata (10 μ M). Análise histológica (HE) e imuno-histoquímica (MMP-26) nos grupos atrofia, hiperplasia benigna, neoplasia intraepitelial e adenocarcinoma prostático.



Legenda: Ausência de reatividade nos grupos atrofia (A e B) e hiperplasia (C e D), reatividade fraca na maioria dos casos de neoplasia intraepitelial (E e F) e imunorreatividade moderada e intensa no grupo adenocarcinoma (G e H), respectivamente.

Tabela 4 – Avaliação da intensidade da IHQ para MMP26

Tabela 4 – Avaliação da intensidade da IHQ para MIMN 20											
Grupo	Intensidade da imuno-histoquímica (IHQ)								Grupo Total		Valor de p
	Negativo		Frac		Positiva		Forte				
	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%	
Atrofia	25	100,0	-	-	-	-	-	-	25	100,0	p ⁽¹⁾ < 0,001*
NIP	3	12,0	22	88,0	-	-	-	-	25	100,0	
HPB	48	96,0	2	4,0	-	-	-	-	50	100,0	
ACP	4	8,0	10	20,0	31	62,0	5	10,0	50	100,0	
TOTAL	80	53,3	34	22,7	31	20,7	5	3,3	150	100,0	

(*) Diferença significativa a 5%. (1) Através do teste Exato de Fisher.

Análise da relação entre IHQ e PSA: A expressão de MMP-26 por IHQ mostrou associação significativa com os valores do PSA total, pois os pacientes que tinham PSA <4 ng/ml tiveram IHQ negativa em 38,6% dos casos, já os pacientes com PSA >10 ng/ml, a IHQ foi positiva em 28,8% dos casos. Também foi encontrada associação entre a intensidade da reação com os valores do PSA. Houve variação de 15 a 17% entre as intensidades fraca e moderada e não na reação intensa no grupo PSA <4,0. Enquanto que no grupo PSA >10, a variação foi maior na reação intensa (40,0%), variando entre 27% e 28% nas outras duas categorias da intensidade (tabela 5).

Tabela 5: Avaliação dos exames PSA e toque retal segundo a IHQ

Tabela 3. Avaliação dos exames PSA e toque retal segundo a IRQ															
Variável	Imuno-histoquímica						Valor p	Intensidade (IHQ)						Valor p	
	Total		Negativo		Positivo			Frac		Moderada		Intensa			
	n	%	n	%	n	%		n	%	n	%	n	%		
PSA total							p ⁽¹⁾ = 0,002*							p ⁽²⁾ = 0,031*	
Ate 4	37	27,2	27	38,6	10	15,2	5	15,6	5	17,2	-	-			
Mais de 4 a 10	72	52,9	35	50,0	37	56,1	18	56,3	16	55,2	3	60,0			
Mais de 10	27	19,9	8	11,4	19	28,8	9	28,1	8	27,6	2	40,0			
TOTAL	136	100,0	70	100,0	66	100,0	32	100,0	29	100,0	5	100,0			
Toque retal							p ⁽¹⁾ = 0,945							p ⁽²⁾ = 0,905	
Com nódulo	36	33,6	18	34,0	18	33,3	7	30,4	9	33,3	2	50,0			
Sem nódulo	71	66,4	35	66,0	36	66,7	16	69,6	18	66,7	2	50,0			
TOTAL	107	100,0	53	100,0	54	100,0	23	100,0	27	100,0	4	100,0			

(*) Diferença significativa ao nível de 5,0%. (1) Através do teste Qui-quadrado de Pearson. (2) Através do teste Exato de Fisher.

DISCUSSÃO

Desde a década de 1980 com a introdução do teste PSA na rotina médica, houve grande aumento de casos diagnosticados e uma redução de 20% na taxa de mortalidade por câncer de próstata. O PSA sérico é medido para detecção precoce, estadiamento e monitoramento da doença, apesar disso, pode apresentar baixa especificidade quando os valores se encontram entre 3 e 10 ng /ml, mostrando-se elevados também em condições benignas como HPB e prostatite (Cheng et al., 2017; El Chaer et al., 2018). A busca por novos biomarcadores que combinados ao PSA possam conferir maior precisão ao diagnóstico tem levado a diversos estudos sobre a expressão das metaloproteinases tanto no soro quanto no tecido de pacientes com câncer de próstata.

Kanoh et al (2002) e Zhang et al (2004) observaram respectivamente, elevados níveis séricos de MMP-2 e MMP-9 em pacientes com CaP e HPB cuja expressão aumentava conforme progressão da doença. Morgia et al (2005) encontraram além de MMP-2 e -9, a MMP-13 com níveis significativamente maiores nos pacientes com CaP. Já a MMP-7 foi analisada por Szarvas et al (2011) e seus níveis também foram fortemente elevados, sobretudo em pacientes com CaP metastático. Em 2005, Riddick et al. avaliaram a expressão das MMP-10, -15, -24, -25 e -26, sendo que dessas, MMP-26 foi a que obteve maior grau de expressão em tecidos malignos de próstata, se correlacionando fortemente com o escore de Gleason.

Recentemente, Cheng et al (2017) observaram uma acentuada elevação sérica, bem como, forte imunorreatividade de MMP-26 no grupo com CaP em comparação aos grupos HBP e controle. Além disso, Zhao et al (2003) notaram que MMP-26 foi capaz de ativar MMP-9 em células cancerígenas de próstata. Ensaio com inibidores específicos para MMP-26 gerou redução de MMP-9 e significativa diminuição do potencial invasivo dessas células, suportando a hipótese de que a ativação de MMP-9 pela MMP-26 pode promover aumento da invasividade celular e consequente piora na evolução da doença.

Nossos resultados também demonstraram maior expressão de MMP-26 nos casos de carcinoma (63%), além de associação positiva entre a expressão IHQ de MMP-26 com os valores de PSA, sugerindo que esta enzima poderia ser usada como adjuvante a dosagem deste marcador para o diagnóstico diferencial entre CaP e HPB bem como para estimar o prognóstico

dos casos de câncer, uma vez que também mostrou fraca reatividade em amostras de NIP. A ruptura da continuidade entre a camada celular e a membrana basal é essencial para a progressão da neoplasia intraepitelial para o carcinoma da próstata. Lee et al (2006) demonstraram que houve maior expressão de MMP-26 em casos de NIP do que CaP e que seus níveis declinaram na progressão para câncer invasivo, sugerindo que MMP-26 pode desempenhar um papel integral durante a transformação tecidual entre essas lesões, servindo como marcador precoce do câncer de próstata.

O prognóstico do CaP também leva em conta a faixa etária do paciente, sendo o avanço da idade o fator de risco mais bem estabelecido. Estatísticas em todo o mundo indicam que tanto a incidência quanto a mortalidade aumentam após os 50 anos, sendo três quartos dos casos por volta dos 65 anos (Cheng et al., 2017; El Chaer et al., 2018). Em concordância, observamos que 56% dos pacientes portadores de CaP em nosso estudo tinham entre 60 e 69 anos. A cor da pele também pode contribuir para o desenvolvimento da doença, sendo os negros mais susceptíveis a esta neoplasia (Noone et al., 2017). Nesta pesquisa, 44% dos participantes eram pardos, 19% negros e destes, 10% apresentou CaP. O tabagismo é conhecido por promover aumento da mortalidade entre os portadores de CaP (Wilson et al., 2016), entretanto, não encontramos essa associação.

Diferente da maioria das MMPs, a MMP-26 é expressa na região intracelular (Khamis et al., 2013). A imunorreatividade citoplasmática de MMP-26 foi evidenciada por Guo et al (2018) em células de glioma e por Hu et al (2014) em carcinoma colorretal. Nós observamos padrão tanto citoplasmático quanto nuclear nas células malignas de próstata. Ao que parece, essa localização diferenciada possibilita novos papéis para essa enzima. Embora a expressão de MMP-26 seja elevada em diversos tipos de câncer como o de fígado, pulmão e mama (Yu et al., 2015; Zhao et al., 2015; Lee et al., 2011), alguns estudos também têm revelado funções protetoras.

Khamis et al (2013) sugeriram um papel anti-inflamatório para MMP-26. Células transfectadas com cDNA de MMP-26 mostraram baixa regulação de genes inflamatórios, enquanto que, células com gene silenciado tiveram redução do receptor da IL-10 (IL10R), sugerindo que a deficiência de MMP-26 pode promover inflamação por inibir a via IL10R. Posteriormente, Khamis et al (2016) forneceram evidências para um papel protetor em próstata. Foi observado que células tumorais prostáticas expressando MMP-26 estavam sofrendo apoptose via Bax e que a suprarregulação de MMP-26 teria função pró-apoptótica, reduzindo o

grau de invasão e progressão da doença. Também foi observado por Savinov et al (2006) que a elevação de MMP-26 resultou em prognóstico favorável e maior sobrevida de pacientes com carcinoma de mama in situ.

Diante da versatilidade de atuação da MMP-26 pode-se perceber que ainda há muito a ser investigado, contudo, diversos trabalhos têm deixado claro o seu potencial como marcador tumoral, sobretudo para carcinoma prostático. Nós mostramos que a IHQ de MMP-26 foi útil para diferenciar casos benignos e malignos da próstata, podendo auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias para o diagnóstico, prognóstico e tratamento do câncer de próstata.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o suporte da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), do LIKA (Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami) e do LPCM (Laboratório de Pesquisas Citológicas e Moleculares).

CONFLITO DE INTERESSES

Inexistente.

5 CONCLUSÃO

As imunomarcações da metaloproteinase de matriz 26 foram maiores nas lesões pré-malignas do tipo NIP e malignas (adenocarcinoma prostático), do que nas lesões benignas do tipo hiperplasia nodular e atrofia prostática. O mesmo ocorreu com a faixa etária, houve um aumento do grau das lesões com o avanço da idade, nos pacientes da faixa etária entre 41 a 59 anos, tiveram mais lesões benigna do tipo hiperplasia nodular, enquanto que na faixa etária entre 60 a 69 anos tiveram mais lesões malignas.

Na etnia parda prevaleceu as lesões de HPB e de ACP. A etnia negra foi a segunda mais prevalente, isto se deve a miscigenação da população brasileira. Embora o tabagismo seja conhecido por promover aumento da mortalidade entre os portadores de câncer de próstata, não encontramos essa associação entre nossa amostragem, provavelmente pelo baixo percentual de fumantes na pesquisa.

A MMP-26 mostrou associação significativa com os valores do PSA total, pois no grupo de $PSA < 4$ a maioria dos pacientes tiveram resultado negativo para MMP-26, já no grupo de $PSA > 10$, a maioria dos pacientes tiveram resultado positivo para MMP-26. No toque retal, não houve diferença significativa com a IHQ da MMP-26.

Na graduação histológica de Gleason, não observamos associação com a imuno-histoquímica de MMP-26. Concluimos que a expressão dessas proteínas está associada a um fenótipo tumoral maligno, pois quanto maior era a lesão maligna, maior era a intensidade da marcação na imuno-histoquímica.

REFERÊNCIAS

- AMORIM, V. M. S. *et al.* Factors associated with prostate cancer screening: a population-based study. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 2, p. 347-356, 2011.
- ARRIBAS, J.; BECH-SERRA, J.J.; SANTIAGO-JOSEFAT, B. ADAMS. cell migration and cancer. **Cancer Metastasis Rev.** Mar;25(1):57-68, 2006.
- BARRINGTON, W.E. *et al.* **Difference in association of obesity with prostate cancer risk between US African American and non-Hispanic white men in the selenium and vitamin e cancer prevention trial (SELECT).** JAMA Oncol. [Internet] 1(3) Disponível: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.0513>, 2015. acesso em 27 mar 2018.
- BEN-SHLOMO, Y. *et al.* Differences in the epidemiology and presentation of prostate cancer in black and white men in England: Lessons learnt from the PROCESS study. **BJU International**, Oxford, v. 103, n. 6, p. 723-724, 2009.
- BIAZZI, F. **Characteristics of the patients undergoing US-guided transrectal prostate biopsy with PSA determination lower or equal to 4.0 ng/mL.** Botucatu. 58 p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2010. Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bbo/33004064006P8/2010/biazzi_f_me_botfm.pdf>. Acesso em: 01/06/2019.
- CANDAS, B. *et al.* Evaluation of prostatic specific antigen and digital rectal examination as screening tests for prostate cancer. **Prostate**. 45(1):19-35, 2000.
- CARAPEBA, M.; HASHIMOTO, L.; NAI, G. importância da imuno-histoquímica nos casos de proliferação atípica de pequenos ácinos da próstata. **Colloquium Vitae**. ISSN: 1984-6436, v. 1, n. 2, p. 130-136, 31 mar. 2010.
- CARTER, H.B. *et al.* Gleason score 6 adenocarcinoma: should it be labeled as cancer? **J Clin Oncol**. 30(35):4294-6, 2012.
- CHAUDHARY, A. K. *et al.* Matrix metalloproteinase and its drug targets therapy in solid and hematological malignancies. **Mutation Research**, v. 753, p. 7–23, 2013.
- CORRÊA, N.A.B. *et al.* Diagnóstico precoce de carcinoma de próstata: antígeno prostático específico (PSA), um marcador quase ideal. **Rev. Bras. Anál. Clín.**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 2, p. 63-64, 2003.
- COUSSENS, L.M. *et al.* MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. **Cell**, n.103, p. 481-490, 2000.
- CHANG, J.H. *et al.* Matrix metalloproteinase 14 modulates signal transduction and angiogenesis in the cornea. **Survey of ophthalmology**, 2015.
- CHENG, T. *et al.* MMP26: A potential biomarker for prostate cancer. **J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci**. Dec;37(6):891-894, 2017.

- CID, S. et al. Prognostic Influence of Tumor Stroma on Breast Cancer Subtypes. **Clin Breast Cancer**. 18(1):123-133, 2018.
- CURRAN, S. MURRAY, G.I. Matrix metalloproteinases: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. **Eur J Cancer**, v.36, n.13, p.1621-1630, 2000.
- DE MARZO, A.M. et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. **Nat Rev Cancer**. v.7, n.4, p.256- 69, 2007.
- DE MEDEIROS, A. P.; DE MENEZES, M. F. B.; NAPOLEÃO A. A. Fatores de risco e medidas de prevenção do câncer de próstata: subsídios para a enfermagem. *Rev. bras. enferm.* [Internet] 64(2) Disponível: <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-71672011000200027>, 2011. acesso em 26 mar 2018.
- DE WEVER, O. et al. Stromal myofibroblasts are drivers of invasive cancer growth. **Int J Cancer**. Nov 15;123(10):2229-38, 2008.
- DI GREGOLI, K. et al. Differential Effects of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 on Atherosclerosis and Monocyte/Macrophage Invasion. **Cardiovascular research**, p. cvv268, 2015.
- DJAVAN, B. et al. Optimal predictors of prostate cancer on repeat prostate biopsy: a prospective study of 1,051 **men J Urol**. 163: 1144-8, 2000.
- DUFFY, M. J. et al. Metalloproteinases: role in breast carcinogenesis, invasion and metastasis. **Breast Cancer Res.**, v.2, n.4, p.252-257, 2000.
- EGEBLAD, M.; WERB, Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. **Nature Reviews Cancer**, v. 2, n. 3, p. 161–174, 2002.
- EL-CHAER, E.; MORAES, C.; NOBREGA O. Diagnosis and Prognosis of Prostate Cancer from Circulating Matrix Metalloproteinases and Inhibitors. **J Aging Res.**; 7681039, 2018.
- EPSTEIN, J.I. et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. **Am J Surg Pathol**. 29(9):1228-42, 2005.
- EPSTEIN, J.I. Pathology of Prostatic Neoplasia. In A. J. WEIN, L. R. KAVOUSSI, A. C. NOVICK, A. W. PARTIN, & C. A. PETERS (Eds.), *Campbell-Walsh Urology* (10th ed., pp. 2726–2734.e3). Elsevier Inc, 2012.
- EPSTEIN, J.I. et al. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. **Eur Urol**. 69(3):428-35, 2016.
- FCM-UNICAMP. Hiperplasia nodular da próstata. Disponível em: <<http://anatpat.unicamp.br/lamuro20.html>>. Acesso em: 12-12-2018.
- FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, Genève, v. 136, n. 5, p. 359-386, 2015.
- FRANTZ, C.; STEWART, K. M.; WEAVER, V. M. The extracellular matrix at a glance **J. cell sci**. V.123, n.pt 24, p.4195-200, Dec 15, 2010.

FOX, S. B.; GENERALI, D. G.; HARRIS, A. L. Breast tumour angiogenesis. **Breast Cancer Res**, v.9, n.216, 2007.

GAFFNEY, J. et al. Multilevel regulation of matrix metalloproteinases in tissue homeostasis indicates their molecular specificity in vivo. **Matrix Biology**, 2015.

GIANNANDREA, M.; PARKS, W. C. Diverse functions of matrix metalloproteinases during fibrosis. **Disease models & mechanisms**, v. 7, n. 2, p. 193–203, 2014.

GROSS, J.; LAPIÈRE, C. M. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. **Proc Natl. Acad. Sci. U S A**, Washington, DC, v. 48, n. 6, p. 1014-1022, 1962.

GUO, J.G. et al. High MMP-26 expression in glioma is correlated with poor clinical outcome of patients. **Oncol lett.** v. 16, p. 2237-2242, 2018.

HANAHAN, D.; WEINBERG R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell** 144, 646–674, 2011.

HU, Q. et al. Matrilysin-2 expression in colorectal cancer is associated with overall survival of patients. **Tumor Biol.** Apr;35(4):3569-74, 2014.

INCA. Estimativa 2016 Incidência de Câncer no Brasil. Instituto Nacional de câncer. Rio de Janeiro; 1996-2016. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2015/estimativa-2016.asp>>. Acesso em: 12-01-2018.

INCA. Estimativa dos dez tipos de câncer mais incidentes para 2018. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/estimativa-2018.pdf>>. Acesso em: 08-10-2018.

JUSTULIN, L. A. JR. et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 activity and localization during ventral prostate atrophy and regrowth. **International Journal of Andrology**, v. 33, n. 5, p. 696-708, OCT. Citações Web of Science: 13, 2010.

KANO, Y. et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and prostate-specific antigen in localized and metastatic prostate cancer. **Anticancer Res.** 2002, 22, 3, 1813, 2002.

KERKELA, E.; SAARIALHO-KERE, U. Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer. **Exp Dermatol.** Apr;12(2):109-25, 2003.

KHAMIS, Z. et al. Evidence for a Proapoptotic Role of Matrix Metalloproteinase-26 in Human Prostate Cancer Cells and Tissues. **J Cancer.** 7(1): 80-87, 2016.

KLEINER, D. E.; STELLER-STEVENSON, W. G. Matriz Metalloproteinas and Metastasis. **Cancer Chemother Pharmacol.** 43: S42, 1999.

LEE, S. et al. Protein Signatures in Human MDA-MB-231 Breast Cancer Cells Indicating a More Invasive Phenotype Following Knockdown of Human Endometase/ Matrilysin-2 by siRNA. **J Cancer.** 2:165-176, 2011.

LEE, C. et al. Low levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 at birth may be associated with subsequent development of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. **Korean journal of pediatrics**, v. 58, n. 11, p. 415–420, 2015.

LIZOTTE-WANIEWSKI, M.; BREW, K.; HENNEKENS, C. H. Hypothesis Metalloproteinase Inhibitors Decrease Risks of Cardiovascular Disease. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**, p. 1074248415615237, 2015.

LYNCH, C. C.; Matrisian, L. M. Matrix Metalloproteinases: in Tumor-host cell communication. **Diferention** 70: 561-73, 2002.

MACCOLL, E.; KHALIL, R. A. Matrix Metalloproteinases as Regulators of Vein Structure and Function: Implications in Chronic Venous Disease. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 355, n. 3, p. 410–428, 2015.

MELDOLESI, J. Pharmacology of the cell/matrix form of adhesion. **Pharmacological research**, 2015.

Meng, X.Y. et al. Immunohistochemical levels of cyclo-oxygenase-2, matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor in papillary thyroid carcinoma and their clinicopathological correlations. *J Int Med Res.* 42(3): 619–627, 2014.

MOHD, A. et al. Role of Matrix Metalloproteinases in Cancer in: *Advances in Protein Chemistry*. OMICS Group eBooks, USA, 2013. Disponível em: www.esciencecentral.org/ebooks

MOYER, V. A. et al. Preventive Services Task Force. Screening for Prostate Cancer: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. **Ann Interned**, (2):120-134, 2012.

NAGASE, H.; WOESSNER, J.F. JR. Matrix Metalloproteinase, **J. Biol. Chem.** 274: 21491-4; 1999.

NAGAR, M.; EPSTEIN, J.I. Epithelial proliferations in prostatic stromal tumors of uncertain malignant potential (STUMP). **Am J Surg Pathol** (June) 35: 898-903, 2011.

NAVRATILOVA, Z.; KOLEK, V.; PETREK, M. Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **Archivum immunological et therapize experimentalism**, p. 1–17, 2015.

Nishi H, Kuroda M, Isaka K. Estrogen and estrogen receptor induce matrix metalloproteinase-26 expression in endometrial carcinoma cells. **Oncol Rep.** Aug;30(2):751-6, 2013.

NISSINEN, L.; KÄHÄRI, V.M. Matrix metalloproteinases in inflammation. **Biochemical et Biophysical Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1840, n. 8, p. 2571–2580, 2014.

NOONE, A. et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2015, **National Cancer Institute**. Bethesda, MD, https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/, 2017.

PAHWA, S.; STAWIKOWSKI, M. J.; FIELDS, G. B. Monitoring and inhibiting MT1-MMP during cancer initiation and progression. **Cancers**, v. 6, n. 1, p. 416– 435, 2014.

PARK H, et al. Identification and Characterization of Human Endometase (Matrix Metalloproteinase-26) from Endometrial Tumor. *J Biol Chem.* v. 275, n. 27, p. 20540–20544, 2000. Pouyanfar N, Monbat A, Sharifi AA, Dianatpour M. Expression Levels of MMP9 and PIWIL2 in Prostate Cancer: A Case-Control Study. **Clin Lab.** 62(4): 651-657, 2016.

RIYACH, O. et al. Bilateral ureteral obstruction revealing a benign prostatic hypertrophy: a case report and review of the literature. **Journal of Medical Case Reports**, 8(1), 42. <http://doi.org/10.1186/1752-1947-8-42>, 2014.

- RODDAM, A.W. et al. Use of prostate-specific antigen (PSA) isoforms for the detection of prostate cancer in men with a PSA level of 2- 10 ng/ml: systematic review and meta-analysis. **Eur Urol.** 48(3):386-99; discussion 98-9, 2005.
- RODHEN, E. L.; AVERBECK, M. A. Câncer de Próstata localizado. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, 54(1):92-99, 2010.
- RUNDHAUG, J. E. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. **J Cell Mol Med.**, v.9, n.2, p. 267-285, 2005.
- SEIKI, M. Membrane-Type Matrix Metalloproteinases. **APMIS** 107: 137-143, 1999.
- STERNLICHT, M.D.; WERB, Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. **Annul Rev Cell Dev Biol.**; 17: 463-516, 2001.
- SHUKLA, A. et al. Stimulation of mRNA export by an F-box protein, Mdm30p, in vivo. **J Mol Biol** 389(2):238-47, 2009.
- SCHULMAN, C. C. et al Prevention of prostate cancer. **Scand J Urol Nephrol**; 205(sup): 50-61, 2000.
- SHAH, R. B., & ZHOU, M. Anatomy and Normal Histology of the Prostate Pertinent to Biopsy Practice. In Prostate Biopsy Interpretation: An Illustrated Guide (pp. 1– 10). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. http://doi.org/10.1007/978-3-642-21369-4_1, 2012
- SWINEHART, I. T.; BADYLAK, S. F. Extracellular matrix bioscaffolds in tissue remodeling and morphogenesis. **Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, 23 dez., 2015.
- SZARVAS, T. et al. Elevated sérum matrix metalloproteinase 7 levels predict poor prognosis after radical prostatectomy. **Inter J Cancer**, vol. 128, no. 6, pp. 1486–1492, 2011.
- TANZER, M. L. Current concepts of extracellular matrix **J. orthop sci** v11, n.3, p. 326-31, may, 2006
- THEOCHARIS, A. D. et al. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev* [Internet]. [cited 2018 Apr 11]; Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X15002574>, acesso em: 15-06-2018.
- THOMPSON, I.M. et al. Finasteride decreases the risk of prostatic intraepithelial neoplasia. **J Urol.** 178:107–09, 2007.
- UMAR, A.; DUNN, B.K.; GREENWALD, P. Future directions in cancer prevention. **Nature Reviews Cancer** v.12, p.835-848, 2012.
- VÄISÄNEN, A. et al. A prognostic index in skin melanoma through the combination of matrix metalloproteinase-2, Ki67, and p53. **Human Pathology**, v. 42, p. 1103–1111, 2011.
- WANG, J.; SU, H.; HAN, X.; XU, K. Inhibition of fibroblast growth factor receptor signaling impairs metastasis of hepatocellular carcinoma. **Tumor Biol.** 35(11):11005-11, 2014.
- WARLICK, C. et al. Risk management: Rate of Gleason 7 or higher prostate cancer on repeat biopsy after a diagnosis of atypical small acinar proliferation. **Prostate Cancer Prostatic Dis.** 18(3):255–259, 2015.

WILSON, K. et al. A Snus use, smoking and survival among prostate cancer patients. **Int J Cancer**. 139 (12): 2753-2759, 2016.

WELCH H.G. et al. Detection of prostate cancer via biopsy in the Medicare-SEER population during the PSA era. **J natl Cancer Inst**. 99: 1395-400, 2007.

WILLEMS, A. et al. Terapia de anticorpos para câncer de mama. **Anticancer Res**. 25: 1483–1489, 2005.

YANG, P.; BAKER, K.A.; HAGG, T. Prog Neurobiol. The ADAMs family: coordinators of nervous system development, plasticity and repair. 2006 Jun;79(2):73-94. **Epub** Jul 7. Review, 2006.

YOON, S.O. et al. Roles of matrix metalloproteinases in tumor metastasis and angiogenesis. **BMB Reports**, v. 36, n. 1, p. 128–137, 2003.

YU, C. et al. Circulating Hepatocellular Carcinoma Cells are Characterized by CXCR4 and MMP26. **Cell Physiol Biochem**. 36(6):2393-402, 2015.

ZHAO, D. et al. Activation of FGF receptor signaling promotes invasion of non-small-cell lung cancer. **Tumor Biol**. May;36(5):3637-42, 2015.

ANEXOS

ANEXO A – TABELA COM CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA PESQUISADA

descrições das características da amostra de homens atendidos no setor de urologia do hospital de clínicas -ufpe.

Variável	n	%
TOTAL	150	100,0
Grupo		
Atrofia	25	16,7
NIP	25	16,7
HPB	50	33,3
ACP	50	33,3
Faixa etária		
41 a 59	27	18,0
60 a 69	68	45,3
70 ou mais	55	36,7
Etnia/cor		
Branco	15	10,0
Pardo	66	44,0
Negro	29	19,3
Não informado	40	26,7
Profissão/ocupação		
Atividade leve	41	27,3
Atividade moderada	9	6,0
Atividade intensa	29	19,3
Não informado	71	47,3
Hábito do etilismo		
Sim	44	29,3
Não	47	31,3
Não informado	59	39,3
Hábito do tabagismo		
Sim	49	32,7
Não	54	36,0
Não informado	47	31,3

Legenda: n= quantidade de cada amostra; NIP= neoplasia prostática intraepitelial; HPB= hiperplasia prostática benigna; ACP= adenocarcinoma de próstata.

ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO CEP/CCS/UFPE**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Expressão imuno-histoquímica das metaloproteinases de matriz (11, 13 e 14) e inibidor tecidual de metaloproteinase (TIMP-3) no desenvolvimento da hiperplasia nodular e no carcinoma prostático. **Pesquisador:** ROMILDO LUCIANO DA SILVA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 79701517.1.0000.5208

Instituição Proponente: CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Patrocinador Principal: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.419.019

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Patologia do CCS do aluno Romildo Luciano da Silva, sob a orientação do Prof. Jacinto Costa Silva Neto. O câncer de próstata é o sexto tipo mais comum no mundo e o de maior incidência nos homens. No Brasil, o INCA estima que mais de 61.200 novos casos da doença serão diagnosticados em 2016. O mecanismo de progressão do câncer de próstata ainda é pouco compreendido, mas acredita-se que envolve um acúmulo de alterações genéticas. Justulin em 2010 demonstrou que uma alta expressão de metaloproteinase da matriz está diretamente associada ao potencial invasivo e metastático de vários tumores malignos humanos, como os de mama, colo do útero, pulmão e próstata. O presente trabalho tem como objetivo investigar o perfil de expressão das metaloproteinases de matriz 11, 13 e 14, e do inibidor TIMP3 em tumores benigno e maligno de próstata. Tentar identificar se estas metaloproteinases estão presentes nos tumores benignos e malignos pode contribuir com a elaboração de um biomarcador para imuno-histoquímica que seja utilizado como parâmetro na intervenção cirúrgica dos casos em que os pacientes estão em vigilância ativa, que é um acompanhamento de perto dos pacientes, e com isso identificar antes do

aparecimento do tumor de alto grau, evitando possível metástase, assim será possível corroborar com o conhecimento da carcinogênese tumoral (microambiente tumoral), buscando uma associação entre o diagnóstico morfológico e o perfil de expressão dessas proteínas em ensaios imuno-histoquímicas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar o perfil de expressão das metaloproteinases de matriz 11, 13 e 14, e do inibidor TIMP3 em tumores benigno e maligno de próstata.

Objetivo Secundário:

3.2.1 Avaliar a expressão das metaloproteinases de matriz 11, 13, e 14, e o inibidor TIMP-3 em tumores benignos e malignos de próstata;3.2.2

Correlacionar o grau de lesão das amostras com dados socioeconômicos;3.2.3 Buscar associação entre o diagnóstico morfológico e imuno-histoquímico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

os riscos na hora da manipulação dos prontuários para coleta dos dados serão minimizados, usando a sala de pesquisa que fica dentro do SAME (serviço de arquivo médico e estatística, já os materiais coletados (blocos de parafinas e as respectivas lâminas) ficarão armazenados em caixas de arquivos no setor de anatomia patológica do hospital das clínicas da universidade federal de Pernambuco, poderá haver uma saída das amostras para o Laboratório de Pesquisas Citológicas e Moleculares-LPCM do departamento de histologia da mesma universidade, mas os mesmos serão devidamente embalados e transportados com segurança. quanto aos riscos biológicos, do experimento em si, serão minimizados com o uso de EPIs e EPCs.

Benefícios:

corroborar com a elaboração de um marcador para imuno-histoquímica que seja utilizado como parâmetro na intervenção cirúrgica dos casos em que os pacientes estão em vigilância ativa, e com isso identificar antes do aparecimento do tumor de alto grau, evitando possível metástase.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de pesquisa correlacionar o grau da lesão morfológica com a expressão imuno-histoquímica das metaloproteínas abordadas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta a documentação exigida.

Recomendações:

Nenhuma.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação com o Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via “Notificação”, pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link “Para enviar Relatório Final”, disponível no site do CEP/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética, relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). O CEP/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_962546.pdf	08/11/2017 00:11:49		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoromildo.docx	08/11/2017 00:08:19	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	autorizacaodeusodedaos.pdf	03/11/2017 21:40:01	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	declaracaodevinculo.jpg	03/11/2017 21:13:09	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	03/11/2017 21:10:50	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	autorizacaodeusodedadosassinada.jpg	03/11/2017 21:08:57	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	cartadeanuenciasameassinada.jpg	03/11/2017 21:03:33	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Orçamento	termosDeConcessao.pdf	03/11/2017 21:02:07	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	romildolucianosilva.pdf	03/11/2017 20:59:14	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	MarianaMontenegrodeMeloLira.pdf	03/11/2017 20:58:05	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	jacintodacostasilvaneto.pdf	03/11/2017 20:55:18	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Outros	cartadeanuenciapatologiaassinada.jpg	03/11/2017 20:51:27	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostroassinada.pdf	03/11/2017 20:45:35	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito

Declaração de Pesquisadore s	TERMODECONFIDENCIALIDADEE SIGI LO.docx	27/10/2017 23:27:59	ROMILDO LUCIANO DA SILVA	Aceito
---------------------------------------	--	------------------------	--------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 06 de dezembro de 2017

Assinado por:**LUCIANO TAVARES MONTENEGRO****(Coordenador)**