

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA

JOAO HERMÓGENES RIBEIRO DE CASTRO NETO

HISTOQUÍMICA COM LECTINAS EM DIAGNÓSTICOS DE HIPERPLASIA
PROSTÁTICA BENIGNA E ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO HUMANOS

.

RECIFE-PERNAMBUCO
2008

JOÃO HERMÓGENES RIBEIRO DE CASTRO NETO

HISTOQUÍMICA COM LECTINAS EM DIAGNÓSTICOS DE HIPERPLASIA
PROSTÁTICA BENIGNA E ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO HUMANOS

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Patologia, na área de
concentração Morfologia Aplicada, da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito à obtenção de título de
Mestre.

Orientadora: *Profa. Dra. Paloma Lys de Medeiros*

Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão

RECIFE-PERNAMBUCO
2008

Castro Neto, João Hermógenes Ribeiro de

Histoquímica com lectinas em diagnósticos de hiperplasia prostática benigna e adenocarcinoma prostático humanos / João Hermógenes Ribeiro de Castro Neto. – Recife: O Autor, 2008.

xi, 32 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2008.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Hiperplasia prostática benigna. 2. Adenocarcinoma prostático. I.Título.

616.65
616.68

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS2008-111



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA

AUTOR: JOÃO HERMÓGENES RIBEIRO DE CASTRO NETO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MORFOLOGIA APLICADA

NOME DA TESE: "HISTOQUÍMICA COM LECTINAS EM DIAGNÓSTICOS DE
HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA E ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO".

ORIENTADOR: PROFA. DOUTORA PALOMA LYS DE MEDEIROS

TESE DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

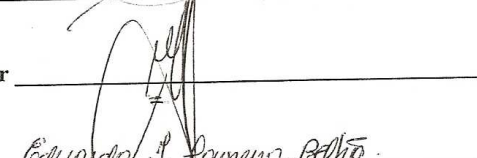
DATA: 28 DE AGOSTO DE 2008.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Prof. Dr. Ademar Afonso de Amorim Júnior

Prof. Dr. Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão


UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE- REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIA DA SAÚDE

Prof. José Thadeu Pinheiro

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Prof. Adriana Maria da Silva Telles

COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Hilton Justino da Silva

RECIFE

2008

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha amada mãe, Inacia por seu amor incondicional e por sempre me apoiar em minhas decisões; à minha querida esposa Ângela, por me fazer acreditar que tudo é possível quando se quer de verdade e ao meu caríssimo mestre Eduardo Beltrão, por ter decidido me honrar com sua valiosa e imprescindível experiência científica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido a vida e por sempre ter reservado bênçãos em todos os instantes de minha existência.

Agradeço à minha mãe Inácia de Castro por me amar de forma imensurável e por sempre estar ao meu lado, nos instantes mais difíceis, nos que parecem impossíveis insistir.

Agradeço à minha esposa Ângela Bertulino por, com seu amor e preocupação, ter me ensinado muito sobre a vida, sobre o valor do esforço, por ter me estimulado à coragem, a enfrentar os obstáculos e vencê-los.

Sou grato ao Prof. Dr. Carlos Eduardo de Queiros, quem primeiro me inspirou a aprofundar-me nos estudos da citologia patológica.

Agradeço a mestre Graças Hermínia Ferras, por ter gentilmente me cedido material para a realização do trabalho.

Agradeço a Prof. Dra. Ana Conceição Suassuna, por ter se interessado por minha causa e me apresentado novos rumos de pesquisa.

Registro minha gratidão pela Profa. Dra. Paloma L. de Medeiros que de forma bastante humana compreendeu e se dispôs a modificar minha situação, não medindo esforços para, através de sua acolhida, me reintegrar ao programa de mestrado quando tudo parecia perdido.

Agradeço de forma toda especial ao Prof. Dr. Eduardo Beltrão, sem o qual seria impossível a concretização desse trabalho, desse sonho. Ao meu grande mestre Dr. Eduardo Beltrão, meu sentimento de mais profunda gratidão por ter viabilizado e abrilhantado meu trabalho através de seu imenso prestígio e experiência em pesquisas acadêmicas, algo que é motivo de grande orgulho, ter alguém de tal grandeza me levando a descobrir e ter prazer com as recompensas da ciência.

Agradeço a todos que de forma direta ou indireta torceram e acreditaram em mim.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo utilizar a histoquímica com lectinas para investigar o perfil sacarídico de tecidos prostáticos humanos diagnosticados como hiperplasia prostática benigna (HPB, n = 30) e adenocarcinoma prostático (AP, n = 30). As biópsias foram obtidas nos arquivos do Setor de Patologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da UFPE. Os cortes histológicos (4µm) foram tratados com tripsina e metanol-H₂O₂ e incubados com as lectinas conjugadas a peroxidase, Con A, LTG e LTA (15, 30 e 30µg/mL, respectivamente). A marcação foi revelada com DAB-H₂O₂ seguida pela contra-coloração com hematoxilina. Com a lectina Con A, verificou-se uma diminuição no padrão de marcação das células transformadas sendo inversamente proporcional ao nível de malignidade, isto é, no AP as células foram menos marcadas do que no HPB. Este resultado indica uma diminuição ou inacessibilidade de resíduos de glicose/manose resultante da mudança no perfil deste carboidrato nestes dois diagnósticos. A LTG não apresentou especificidade para as células transformadas bem como para o estroma da próstata, em ambos diagnósticos, contudo marcou as células do endotélio vascular. A LTA falhou em reconhecer resíduos de L-fucose nos tecidos estudados. Desta forma os resultados indicam que Con A apresentou-se como um marcador histoquímico para HPB e AP, enquanto que a LTG não. Sendo esta última um marcador de células dos vasos sanguíneos exclusivamente no AP. A diferença de marcação entre os tecidos com AP e HPB, pela lectina Con A, corrobora achados que sugerem existir modificação no padrão glicídico de células malignas, quando comparadas com células transformadas benignamente.

Palavras – Chave: hiperplasia prostática benigna, adenocarcinoma prostático, histoquímica, lectinas.

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the saccharide profile of human prostatic tissues diagnosed as benign prostatic hyperplasia (BPH, n = 30) and prostatic adenocarcinoma (PA, n = 30) using lectin histochemistry. Biopsies were obtained from the Archives of the Pathology Sector of the Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) of UFPE. Slides (4µm) were treated with a trypsin solution and a methanol-H₂O₂ solution followed by incubation with horseradish peroxidase conjugated lectins, Con A, LTG e LTA (15, 30 e 30µg/mL, respectively). Staining was developed with a solution of DAB-H₂O₂ and counter-staining with haematoxylin. It was observed that Con A staining for transformed cells decreased inversely to the level of malignancy, that is, in PA these cells were less stained than in BPH. This finding indicates a decrease or inaccessibility to glucose/mannose residues as a result of a change in the profile of these saccharides in both diagnoses. LTG did not show specificity for the transformed cells as well as to the stroma in PA and BPH but stained the blood vessel cells. LTA failed to recognize L-fucose residues in both diagnoses. The results allow to conclude that Con A can be used as a histochemistry marker for BPH and PA while LTG no. The later can be used as blood vessel marker exclusively in PA. The different staining for Con A in PA and BPH help to prove the changes in the carbohydrate profile in malign cell when compared to their benign counterparts.

Keywords: benign prostatic hyperplasia, prostate adenocarcinoma, histochemistry, lectins

LISTA DE ABREVIATURAS

INCA – Instituto Nacional de Câncer

PSA - Antígeno prostático específico

HPB – Hiperplasia prostática Benigna

CRD – Domínio de reconhecimento de carboidratos

Con A- *Concanavalia ensiformis*

LTG – *Lotus tetragonolobus*

PNA - *Peanult aglutinina*

HE - Hematoxilina/eosina

DHT - Dihidrotestosterona

LISTA DE FIGURAS E TABELA

Figura 1. Imagem histológica da próstata.....	04
Figura 2. Representação anatômica da próstata.....	04
Figura 3. Representações de HPB em graus distintos.....	08
Figura 4 . Glicoconjugados de superfície celular.....	12
Figura 5. HPB: marcação pela Con A.....	16
Figura 6. A.P: Ausência de marcação pela Con A.....	17
Figura 7. Marcação de endotélio vascular pela LTG.....	18
Figura 8. HPB: Não marcação pela LTA.....	18
Tabela 1. Relação entre tipos celulares marcados e lectinas.....	19

SUMÁRIO

Dedicatória	V
Agradecimentos	VI
Resumo	VII
Abstract	VIII
Lista de Abreviaturas	IX
Lista de Figuras	X
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1 A PRÓSTATA	03
2.2 NEOPLASIA	05
2.3 LECTINAS	10
3 OBJETIVOS	13
3.1 OBJETIVO GERAL	13
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
4 METODOLOGIA	14
4.1 MATERIAL	14
4.2 HISTOQUÍMICA COM LECTINAS	14
4.3 HISTOQUÍMICA COM LECTINAS (INIBIÇÃO)	15
4.4 HEMATOXILINA E EOSINA (HE)	15
5 RESULTADOS	16
6 DISCUSSÃO	20
7 CONCLUSÃO	23
8 REFERÊNCIAS	24
9 ANEXO	33

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença comum tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento. Com o aumento da expectativa de vida da população mundial, bem como, a redução da taxa de mortalidade por afecções como as doenças vasculares, o câncer vem assumindo maiores proporções como causa de morte (WÜNISCH-FILHO, MONCAU, 2002; GUERRA, GALLO, MENDONÇA, 2005).

Em 1995, dados do Ministério da Saúde apontavam o câncer de próstata como o terceiro de maior incidência no Brasil entre os homens, atrás apenas do câncer de estômago e do de pulmão. Já em 2005, ou seja, 10 anos após, o câncer de próstata já configurava o segundo mais incidente, conforme dados do INCA. A estimativa para 2006 era de uma taxa de 8.730 novos casos para o Nordeste, destes, 2.060 só para Pernambuco.

Atualmente, dados do INCA mostram uma estimativa de câncer de próstata para 2008 de 52,43 por 100.000 habitantes, ocupando a primeira colocação entre os mais frequentes para o sexo masculino no Brasil. No Nordeste, a taxa é de 37,97 por 100.000 habitantes, sendo Pernambuco o Estado de maior índice na região, com 54,04 casos por 100.000 habitantes.

A incidência do câncer de próstata vem sendo mais bem detectada através do teste de PSA (do inglês “prostate specific antigen”), implantado em meados dos anos de 1990. Homens com câncer de próstata tendem a ter taxas de PSA no soro mais elevadas do que em indivíduos normais. No entanto, alguns homens com câncer de próstata não apresentam elevações significativas nas taxas de PSA e dois terço dos homens com elevação de PSA não apresentam neoplasia prostática (QUINN, BABB, 2002).

Vários estudos têm apoiado o uso de marcadores de tecidos como ferramenta no aprimoramento da identificação de alterações sofridas pela célula. Nessa seara, destacam-se as lectinas, proteínas com capacidade ligante, de alta especificidade, a carboidratos da superfície celular encontrando aplicação em histoquímica (BRINDA, SUROLIA, VISHVESHWARA, 2005; MELO-JUNIOR et al., 2006).

O presente estudo utilizou a capacidade que lectinas possuem em se ligar de modo diferente às células normais e às células transformadas de hiperplasia prostática benigna e adenocarcinoma prostáticos, contribuindo para a caracterização do perfil sacarídico de glicoconjugados de superfície celular do tipo de câncer masculino mais prevalente no Estado de Pernambuco.

2 REVISÃO

2.1 A PRÓSTATA

A próstata é um órgão glandular, tem a forma de castanha, com consistência elástica, superfície lisa e um sulco que a divide. É um órgão retroperitoneal que circunda o colo da bexiga e uretra e é desprovido de uma cápsula nítida (COTRAN, KUMAR, COLLINS et al, 2000). É um conjunto de até 50 glândulas túbulo-alveolares ramificadas compondo um epitélio cuboide simples ou pseudo-estratificado colunar, envolto por tecido conjuntivo formando um estroma fibromuscular (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2004). É palpável parcialmente pela sua face posterior através da parede retal (FERRAZ, 2004). Pesa cerca de 20g no adulto normal. É um órgão retroperitoneal que circunda o colo da bexiga e uretra (COTRAN, KUMAR, COLLINS et al, 2000; HAYNES, VENTURA, 2005); dividi-se em três zonas ou regiões biológicas: a zona central, responsável por 25% do volume total do órgão; zona periférica, ocupando o volume de 70% e de grande importância clínica por ser o local principal de aparecimento do câncer prostático; e a zona intermediária, lugar de maior prevalência das hiperplasias prostáticas benignas (KONISHI et al, 2005).

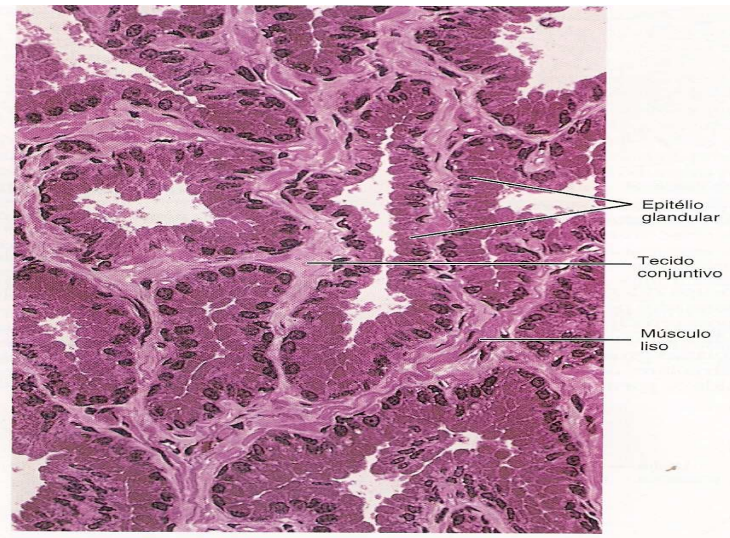


Fig. 1 Imagem de corte histológico da próstata.

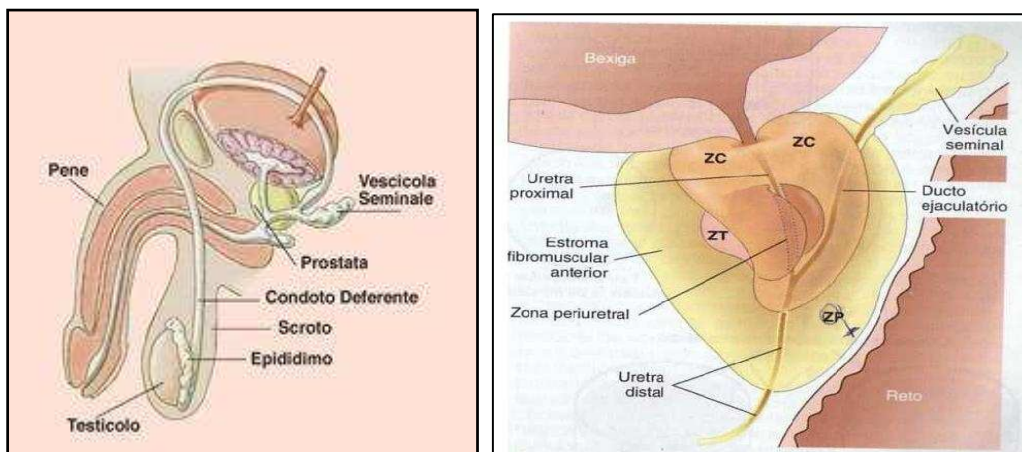


Fig. 2 Representação anatômica da próstata.

Esse órgão é responsável por secreção que integra o líquido seminal e confere a este odor característico (DÂNGELO, FATTINI, 2000). A secreção prostática integrada ao sêmen contribui para tornar o ambiente favorável aos espermatozóides, mantendo-os viáveis, tanto no trato genital masculino quanto no feminino. No ato da ejaculação, o estroma prostático, por meio das fibras musculares lisas, contrai e libera para a uretra o fluido armazenado nos ácinos (HAYNES, VENTURA, 2005).

A próstata contribui na composição do fluido seminal e suas secreções são importantes para otimizar o meio ambiente dos espermatozóides melhorando as condições de fertilização (HAYNES, VENTURA, 2005). A secreção prostática é ácida (pH 6,5), contém fibrolisina que atua na liquefação do coágulo seminal, por meio de proteólise. Em altas concentrações, estão presentes no fluido prostático secretado no sêmen: ácido cítrico, zinco, amilase, PSA, fosfatase ácida (FERRAZ, 2004).

Assim como para outros componentes do trato genital masculino, os androgênios testiculares são de fundamental importância no controle do crescimento prostático, algo que pode ser provado mediante a castração experimental em animais de laboratório, o que resulta em atrofia prostática (COTRAN, KUMAR, COLLINS, 2000). O estroma prostático produz a enzima 5- α -redutase, envolvida na formação de DHT a partir da testosterona. A DHT é o mediador de crescimento prostático e atua tanto no epitélio quanto no próprio estroma da próstata (HAYNES, VENTURA, 2005; CARRUBA, 2006).

2.2 NEOPLASIA

Neoplasias são desordens do crescimento e da diferenciação celular que resultam de uma série de mudanças bioquímicas no ambiente celular (CALIFICE et al, 2004). Quando ocorre em órgãos sólidos, o maior número de células resultantes dá origem a um tumor. O termo câncer é a tradução latina da palavra grega carcinoma (do grego kakrinos que significa caranguejo), dado por Galeno ao observar a disposição celular de um tumor mamário (BELTRÃO, 2003).

De um modo geral, a diferenciação entre crescimento benigno e maligno é dado pelos critérios de: diferenciação, velocidade de crescimento, invasão local e metástase. Na neoplasia benigna as células se assemelham ao tecido de origem e possuem um crescimento lento,

permitindo a formação de vasos para sua nutrição. Necrose e degeneração são incomuns. Já na neoplasia maligna, as células apresentam morfologia bastante distinta da do tecido que as originou, possuem um crescimento rápido, o que resulta muitas vezes em hemorragia e necrose. Geralmente as células são mais volumosas, perdem sua aderência entre si e têm com isso sua disseminação facilitada, caracterizando a metástase. Por seu caráter invasivo, o limite entre esta e o tecido normal é difícil, tornando a remoção limitada (BRASILEIRO-FILHO, 2000). As células cancerígenas, através de seus carboidratos modificados de superfície, conseguem escapar do reconhecimento célula-célula no seu tecido de origem e tornam-se capazes de migrar para outros tecidos (PRATIMA et al., 2002).

Quanto às funções bioquímicas, as moléculas de adesão e vias de transdução dos sinais para o crescimento tumoral são bastante alterados durante a progressão tumoral (GUA et al. 2006). Diferentes tipos de carboidratos em glicoconjugados apresentam uma importante função no controle de vários processos fisiológicos, bioquímicos e patológicos no organismo (PHIPPS et al, 2005). Mudanças quantitativas e/ou qualitativas nos componentes sacarídicos em lipídios e proteínas das membranas, organelas celulares e citoplasma também são evidentes durante o desenvolvimento dos processos patológicos (ASTOUL et al, 2000).

Neste contexto o mecanismo de reconhecimento molecular na superfície da célula, responsável por reconhecer células semelhantes e assim interagir com as mesmas mantendo a homeostase, é afetado quando células normais sofrem neoplasia. O resultado é um crescimento e divisão incontrolados, sem limites teciduais, que dentre outros fatores se deve às alterações nos mecanismos de reconhecimento que agem na membrana celular (SHEKHAR et al., 2004).

Seguindo o mesmo mecanismo geral para as demais neoplasias malignas, o câncer de próstata resulta de acúmulo de modificações genéticas e epigenéticas. Paulatinamente, levam às

alterações morfológicas e funcionais no epitélio glandular, fazendo com que a célula deixe seu estado fisiológico e progrida até o câncer de próstata (KONISHI et al, 2005).

Nas últimas três décadas a taxa de mortalidade do câncer de próstata aumentou bastante. O carcinoma de próstata (adenocarcinoma), o câncer maligno mais comum nos homens, é também a segunda causa mais comum de morte por câncer no sexo masculino (KAPUR, 2000).

Em função de suas altas taxas de incidência e mortalidade, lesões tumorais como a hiperplasia prostática benigna e neoplasias malignas de próstata representam um sério problema de saúde pública no Brasil (INCA, 2008).

A Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) é a afecção mais comum do órgão e aumenta sua incidência com a idade do paciente. Causa aumento do órgão através dos nódulos hiperplásicos, causando compressão da uretra prostática e com isso retenção urinária, levando ao prostatismo. Como a HPB pode fazer saliência na parede retal, o toque retal é importante no diagnóstico clínico da doença (BRASILEIRO-FILHO et al; 2000).

Esta patologia é a responsável pela maioria dos sintomas urinários que acometem homens com idade superior a 50 anos e por 20 a 30% das prostatectomias radicais nos indivíduos que vivem mais de 80 anos (PHIPPS et al, 2005).

O surgimento da hiperplasia prostática relaciona-se não apenas com o avanço da idade, mas também com o aumento dos estrógenos, aumento de metabólitos da testosterona, aumento da atividade da 5- α -redutase (enzima encarregada em converter testosterona em diidrotestosterona) e outros fatores de crescimento (FERRAZ, 2004; CARRUBA, 2006).

O HPB é uma doença característica da glândula interna: 95% originando-se na zona de transição e 5% a partir do tecido glandular periuretral, ela pode ocorrer em grau leve, moderado ou severo (Figura 3).

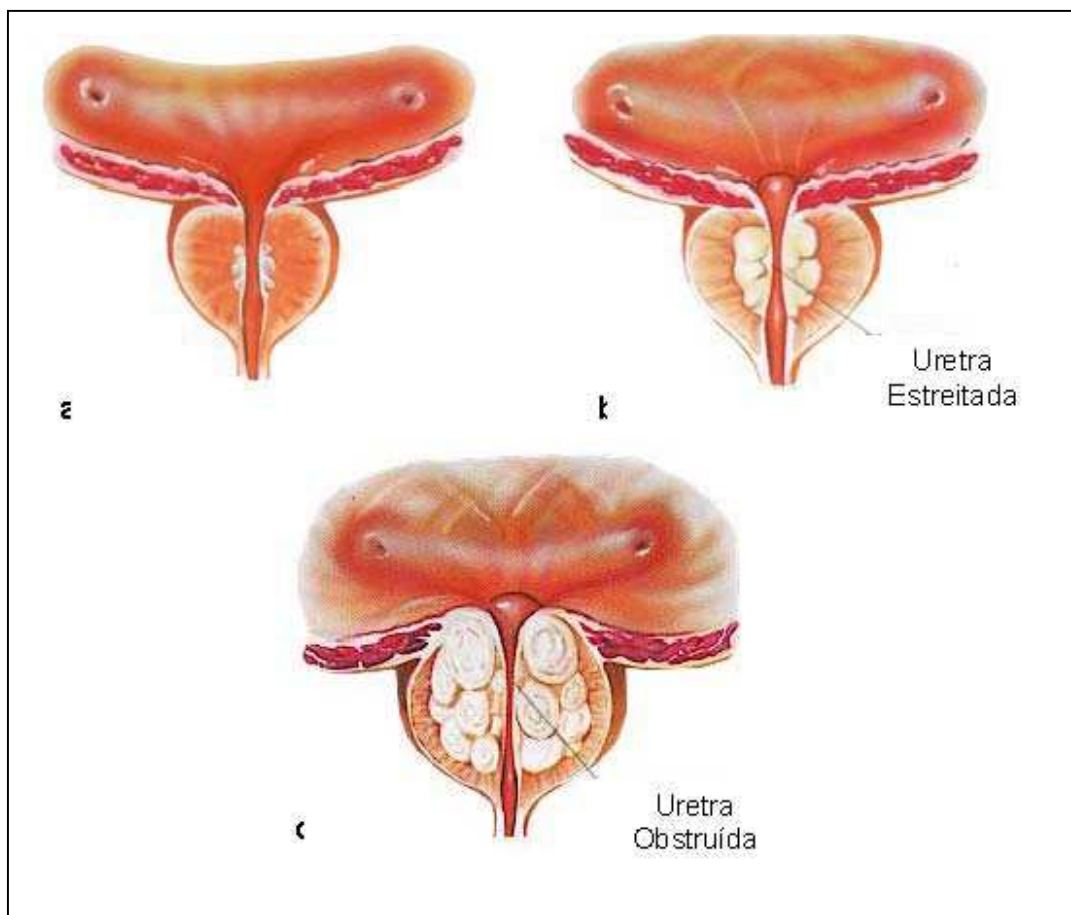


Figura 3. HPB. (a) em grau leve causando pouca obstrução da uretra; (b) em grau moderado causando estreitamento na uretra; (c) em grau severo resultando na obstrução da uretra.

O câncer de próstata atinge principalmente os homens acima de 50 anos de idade, e o aumento de sua incidência na população é também uma decorrência do aumento da expectativa de vida do brasileiro verificada ao longo deste século, cuja tendência é ultrapassar os 70 anos no ano 2020 (INCA, 2005).

O grande número de trabalhos realizados com esta neoplasia é justificado pela alta incidência desta patologia, que representa cerca de 40% dos tumores que acometem os homens, bem como pela necessidade de compreender melhor a etiologia dessa malignidade, tão complexa e heterogênea (AKIMOTO et al, 2006).

Apesar de não existir uma inter-relação consistente, os fatores ambientais e genéticos

parecem participar da etiologia do câncer de próstata. Assim, os hormônios masculinos apresentam papel crucial na promoção do tumor, porém, não desempenham a mesma função na manutenção desses (GUA et al, 2006).

O carcinoma prostático é uma neoplasia maligna constituída pela proliferação de células epiteliais dos ácinos e ductos prostáticos. Dados do INCA estimavam para o ano de 2006, uma taxa de 8.730 novos casos para o Nordeste, destes 2.060 só no nosso Estado.

Em Pernambuco, as mortes por câncer de próstata, nos anos 1999, 2000 e 2001 corresponderam a 1%, 1,14%, 0,96% do total de óbitos do sexo masculino, respectivamente (SES/PE, 2003).

O antígeno específico da próstata (PSA) é um bom marcador do tumor que desempenha um papel significativo no diagnóstico e no tratamento do câncer de próstata (CALVETE et al 2003). Mesmo com o aumento do PSA na doença, seus valores podem se sobrepor aos valores da HPB, prostatites, infartos, ou seja, outras afecções do órgão ou fora dele podem levar ao aumento nos níveis de PSA sérico. Com isto, outros testes, como relação de PSA livre/PSA total, são utilizados (BRASILEIRO-FILHO et al, 2000).

Mudanças morfológicas e alterações moleculares vêm sendo descritas em tecidos aparentemente normais de próstata e em casos de câncer de próstata (MONTIRONI et al, 2000).

Alterações na expressão de glicoconjugados, freqüentemente observadas em tumores, estão entre os diversos distúrbios celulares que contribuem em neoplasias. Apesar deste fato, estudos quanto às mudanças na glicosilação celular em determinados estágios da carcinogênese prostática são escassos (CHAN et al, 2001). Assim, conhecer a regulação da proliferação celular através de alterações bioquímicas específicas, como a mudança no perfil sacarídico de glicoconjugados, no câncer de próstata é de grande importância para o desenvolvimento de novas soluções (LIN et al, 2001).

2.3 LECTINAS

Lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não imunológica que reconhecem de forma reversível a carboidratos livres ou conjugados. A interação com carboidratos ou com outras substâncias ocorre através de pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas, com especificidades características (SHARON & LIS, 2004).

As alterações sofridas em glicoconjugados celulares podem ser detectadas pelas lectinas, que apresentam alta especificidade por carboidratos da superfície e por isso são excelentes marcadores de alterações celulares estruturais e bioquímicas em diferentes situações de injúrias (MELO-JUNIOR et al., 2006).

Estas proteínas são ubíquas na natureza e estão envolvidas em uma variedade de funções celulares tais como interação célula-célula, reconhecimento de superfície celular, sistema imune nato, etc (BRINDA, SUROLIA, VISHVESHWARA; 2005).

Sames e colaboradores (2001) realizaram histoquímica com lectinas em um tipo específico de células cancerígenas da pele e concluíram que o padrão da expressão das glicosaminas superficiais dessas células diferia bastante quando comparado à glicosilação de células da pele normais.

As lectinas vêm sendo largamente utilizadas como ferramentas histoquímicas para descrever alterações na superfície das células tumorais. Essas alterações são associadas ao crescimento de células tumorais na indução de apoptose ou metástase (BELTRÃO et al, 1998, BELTRÃO et al, 2003; CAMPOS et al, 2006). Sua alta especificidade no reconhecimento de carboidratos distintos é de grande relevância nas pesquisas bioquímicas e biomédicas (PRATIMA et al, 2002).

Carboidratos têm um enorme potencial para transmitir informações sobre a célula. Complexos de carboidratos estão envolvidos em processos de reconhecimento, incluindo adesão entre as células, adesão de células à matriz extra-celular e o reconhecimento específico de uma célula por outra (PRATIMA et al., 2002). As lectinas ligam-se aos carboidratos através de um domínio de reconhecimento de carboidrato (CRD), descrito por Drickamer em 1988 (SHARON, 2004).

Sua propriedade de ligação a carboidratos constitui a base da interação célula-célula e célula-matrix e progressão do câncer (CALIFICE et al., 2004). Distúrbios na glicosilação de carboidratos são atributos comuns em muitos grupos celulares durante o desenvolvimento dos processos patológicos, como por exemplo, a diminuição da invasividade e metástase de células neoplásicas, o que é considerado um dos principais determinantes da progressão do câncer no organismo (BRASILEIRO-FILHO et al, 2000). Diante disso, mudanças qualitativas e quantitativas nos gliconjugados das membranas celulares (Figura 3) tornam-se altamente significativas no desenvolvimento e evolução de muitas doenças (SHARON, LIS, 2004).

Em células neoplásicas o aumento no conteúdo e/ou na expressão de carboidratos superficiais tem sido amplamente documentado através de histoquímica e imunoistoquímica (LANGBEIN et al, 2007). As lectinas particularmente, estão sendo utilizadas como ferramentas sensíveis, estáveis e de fácil utilização para distinguir células transformadas e não-transformadas (CALIFICE et al., 2004).

Em histoquímica, citoquímica e citometria de fluxo as lectinas são amplamente empregadas auxiliando no mapeamento de carboidratos em glicoconjugados celulares do tecido hematopoético (VISSER, VRIES, 1990), de mama (BELTRÃO et al, 1998, 2001, 2006); de cérvix uterino (REMANI et al, 1994); de cérebro humano (BELTRÃO et al, 2003); glândulas salivares humanas (RÊGO et al, 2005) entre outros tecidos.

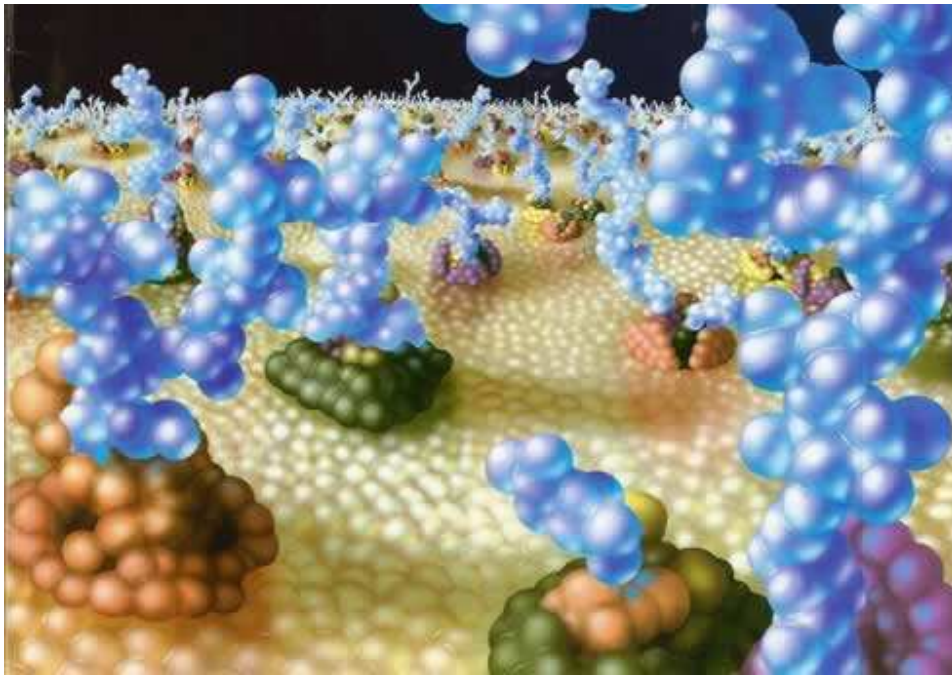


Figura 4. Glicoconjugados de superfície celular.

Trabalhos recentes relatam que, no câncer de próstata, há uma expressão reduzida de uma determinada lectina endógena, à medida que ocorre a progressão da doença. Em contrapartida, há maior expressão dessa proteína em fragmentos de tecido normal quando comparados à contraparte maligna (VAN DEN BRULE, 2004 *apud* ARAÚJO et al, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Utilizar a histoquímica com lectinas para investigar o perfil sacarídico de tecidos prostáticos humanos diagnosticados com hiperplasia prostática benigna e adenocarcinoma prostático.

3.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar o padrão de carboidratos de superfície celular de tecidos de próstata normal, com hiperplasia prostática benigna e adenocarcinoma prostático utilizando histoquímica com lectinas (Con A, Lotus tetragonolobus e LTA);
- Avaliar qualitativamente a marcação quanto ao diagnóstico;

4 METODOLOGIA

4.1 Material

Biópsias de próstata humana, diagnosticadas como hiperplasia prostática benigna (n = 30) e adenocarcinoma prostático (n = 30), com média de idade dos pacientes entre 54 a 96 anos foram obtidas nos Arquivos do Setor de Patologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami. As bordas livres dos tumores foram utilizadas como tecido normal (controle). Todos os blocos utilizados estão arquivados a mais de cinco anos. A identificação dos blocos se deu exclusivamente por numeração correspondente ao diagnóstico, sendo assim, resguardada a identidade de cada indivíduo. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco (no. 085/2008).

4.2 Histoquímica com lectinas

O protocolo de marcação dos tecidos com lectinas foi desenvolvido de acordo com Beltrão et al. (2003). Cortes (4 μ m) dispostos em lâminas, fixados em formalina e embebidos em parafina, foram desparafinizados em xilol e tratados com concentrações decrescentes de etanol até hidratação em água (5 minutos em água corrente). Em seguida, o material foi submetido a tampão fosfato de sódio 10 mM, contendo NaCl 0,15 M (PBS), pH 7,2 (2 x 5 min). Este procedimento de lavagem foi repetido entre todas as demais etapas subsequentes.

Em sequência, as lâminas foram tratadas com solução de tripsina a 1% (p/v), por 2 min a 37°C para clivar os excessos de moléculas dos açúcares de superfície que compõem a árvore

glicídica celular e depois com solução de metanol-peróxido de hidrogênio a 0,3 % (v/v), por 20 min. afim de inativar a peroxidase endógena. Após isso, durante 2 horas, os cortes foram incubados com Con A, LTA e *Lótus tetragonolobus* a 4°C nas concentrações de 30µg/mL, conjugadas a peroxidase. A marcação foi revelada com DAB-H₂O₂ seguida pela contracoloração com hematoxilina. Para montagem das lâminas, utilizaram-se lamínulas 24x20mm e Etelan. A marcação foi visualizada por microscopia óptica (Olympus modelo BH-2.).

4.3 Histoquímica com Lectinas (Inibição)

Ensaio de inibição da ligação das lectinas aos tecidos foram efetuados utilizando-se metil- α -D-manosídeo para Con A, L-fucose para LTA e Lotus tetragonolobus, em concentrações variando de 100mM a 600mM, segundo Beltrão et al. (2003).

4.4 Hematoxilina e Eosina (HE)

Os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina para caracterização histológica.

5 RESULTADOS

Todas as biópsias tiveram seus diagnósticos confirmados com H.E.

Na hiperplasia prostática benigna (HPB) as células epiteliais glandulares foram marcadas pela lectina Con A, indicando o reconhecimento de resíduos de glicose e/ou manose. A marcação foi fraca, heterogênea e citoplasmática (Figura 5). O estroma adjacente não apresentou marcação.

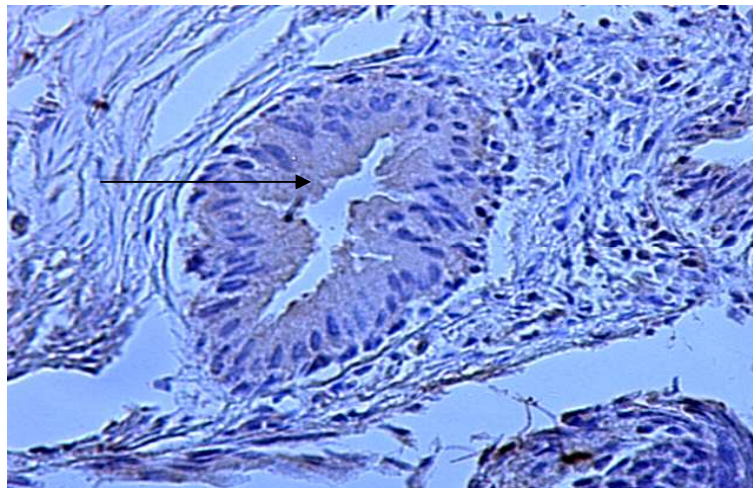


Fig. 5. Padrão de marcação da lectina Con A em tecido com hiperplasia prostática benigna. Marcação citoplasmática em células acinares e a ausência de marcação no estroma (Aumento 400x).

Nos casos de adenocarcinoma prostático, a lectina Con A não reconheceu as células malignas (Figura 6). O estroma também não foi marcado por esta lectina.

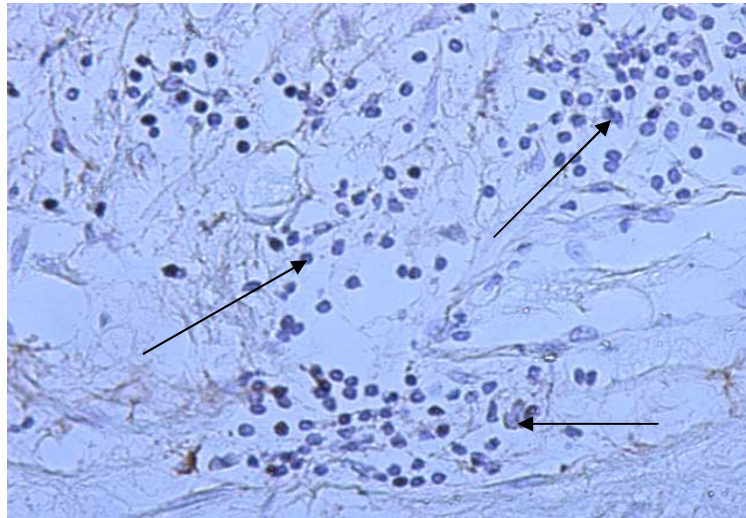


Fig 6. Adenocarcinoma prostático. Ausência de marcação pela Con A das células malignas e do estroma (100x).

A lectina de LTG, específica para L-fucose, não apresentou marcação para as células glandulares nem para as células do estroma, tanto na hiperplasia prostática benigna quanto para o adenocarcinoma. Esta lectina, no entanto, reconheceu este resíduo de carboidrato no endotélio vascular (Figura 7).

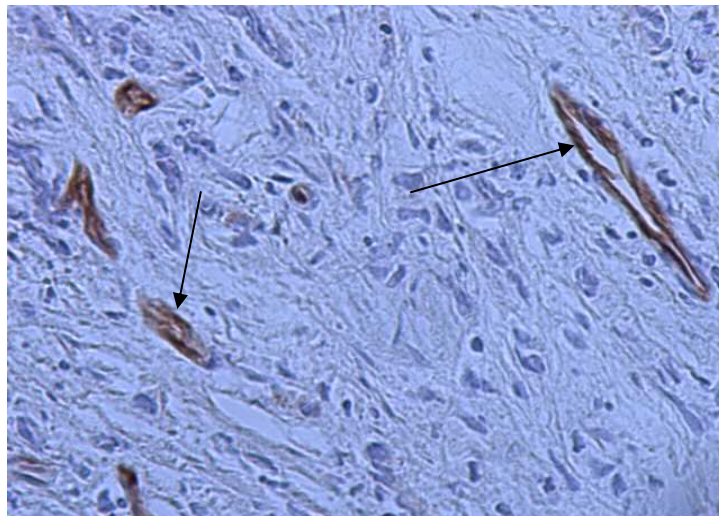


Fig 7. Adenocarcinoma prostático. Marcação do endotélio vascular pela LTG. (400x).

A LTA, específica para L-fucose, não marcou as células da hiperplasia prostática benigna e do adenocarcinoma prostático.

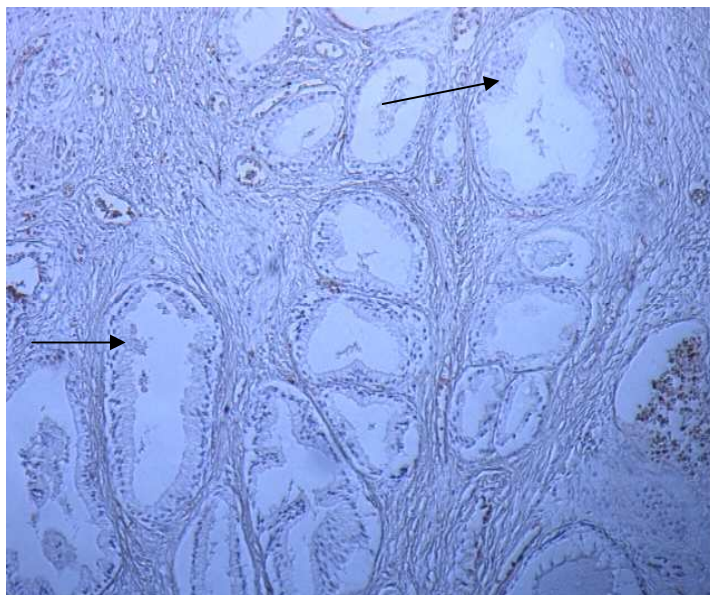


Fig 8. HPB. Não marcação das células epiteliais, LTA.

Diagnóstico/Lectina (30µg/mL)	Con A	LTA	LTG
1 Hiperplasia prostática benigna (n = 30)	+c	-	-
Células epiteliais glandulares	-	-	-
Endotélio vascular	-	-	
Estroma			
2 Adenocarcinoma prostático (n = 30)	-	-	-
Células epiteliais glandulares	-	-	+ +
Endotélio vascular	-	-	-
Estroma			

Tabela 1. Resultado da marcação com as lectinas Con A, LTA e LTG: células glandulares marcadas pela Con A na HPB; endotélio vascular marcado pela LTG no AP e ausência de marcação de células pela LTA.

6 DISCUSSÃO

O mecanismo de reconhecimento e adesão célula-célula mostra-se essencial na organização estrutural dos indivíduos pluricelulares. Sabe-se que nas células transformadas dos tumores esse mecanismo está comprometido e que os carboidratos da superfície celular são determinantes nesse processo (KAWAI, ISHIZU, KURODA, 2001). Mudanças na distribuição e expressão de carboidratos celulares ocorrem durante os estágios de desenvolvimento normal e progressão dos processos neoplásicos, modulando a perda de adesão e metastase (SCHUMACHER et al, 2001; CAMPOS et al, 2006).

No presente trabalho, pode-se observar que células neoplásicas da próstata apresentaram padrões diferenciados de expressão ou arranjo (disponibilidade) de resíduo de carboidratos em glicoconjugados. A marcação com a Con A evidenciou que a hiperplasia prostática benigna apresenta resíduos de glicose e/ou manose dispostos nos terminais das ramificações da porção glicosídica de glicoconjugados encontrados no citoplasma. O padrão heterogêneo de marcação pode estar relacionado com a acessibilidade e/ou diferença no estágio de transformação celular. Esta sensibilidade da Histoquímica com Lectinas amplia as possibilidades de avaliação das modificações sofridas pelas células durante os processos de transformação. Este tipo de observação não pode ser inferido utilizando-se o método de coloração HE. Os tecidos diagnosticados como adenocarcinoma prostático não apresentaram marcação com esta lectina.

A hiperplasia prostática benigna é caracterizada por hiperplasia das células epiteliais e do estroma da próstata, resultando em formações nodosas na região periuretral da próstata. É mais comum em homens após os 50 anos. Por se localizar em zona mais próxima da uretra, é comum nessa afecção ocorrer compressão e obstrução do canal uretral, ocasionando muitas vezes retenção urinária e favorecimento de infecções do trato urinário (HAYNES, VENTURA, 2005).

É notado também que na hiperplasia prostática a diferenciação celular é mantida e a célula glandular madura mantém a arquitetura tecidual, com as características formações acinares (BABINSKI et al, 2002)..

Os resultados de marcação com a Con A mostram que as células glandulares da hiperplasia prostática benigna foram marcadas evidenciando as características destas células. Na figura 5 observa-se que a marcação citoplasmática é mais intensa na porção voltada para o lúmen da formação acinar. Esse achado corrobora o fato de que com o aumento da idade ocorre um acúmulo de formações ricas em glicoproteínas nessa região chamadas de concreções prostáticas ou corpo amiláceo (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2004; CLAUDON et al, 1998).

No adenocarcinoma prostático, não houve marcação de células glandulares ou estromais. As imagens capturadas revelam um crescimento típico de células malignas, com desarranjo da estrutura morfológica normal dos ácinos, células com características monoclonais, invasão do estroma, aumento de relação núcleo/citoplasma e discariose. A não marcação dessas células pela ConA, a qual havia apresentado marcação para células hiperplásicas preservadas, sugere sim uma modificação na composição dos carboidratos das células malignas da próstata quanto à abolição de sua expressão ou localização interna na estrutura da ramificação glicosídica.

A observação do padrão de expressão de açúcares de superfície e intracelular não se mostra obrigatoriamente igual quando se usa lectinas diferentes. Ao invés de ausência de marcação de células modificadas, alguns estudos encontraram a expressão de carboidratos aumentada nesses tecidos, quando comparada com os tecidos normais (MELO-JÚNIOR et al., 2006). Um estudo realizado com células malignas da mama mostrou que a lectina PNA se ligou preferencialmente às células cancerígenas, quando comparadas com as normais. Os próprios autores supracitados concluem que a lectina PNA liga-se preferencialmente ao perfil sacarídico de células cancerígenas (CHACKO, APPUKUTTAN, 2001).

As lectinas LTG e LTA, específica para L-fucose, não apresentaram marcação nos casos estudados. A utilização de duas lectinas diferentes com a mesma especificidade se deu pelo fato de que suas estruturas são diferentes e que tal fato pode influenciar o domínio de reconhecimento a carboidratos. Além do mais, a L-fucose é um carboidrato chave, por estar implicado em processos cruciais, como na determinação do tipo sanguíneo do sistema AB0. Tal aspecto foi corroborado pelo fato de que apenas a LTG marcou as células do endotélio vascular presente no adenocarcinoma, evidenciando o caráter particular de lectinas diferentes ligarem-se a complexos glicídicos, mesmo tendo a mesma especificidade. A evidencia de endotélio vascular nos casos de adenocarcinoma prostático pode ser avaliado pela necessidade de suprimento de sangue em tumores malignos, que induzem a angiogênese (CONTRAN, KUMAR, COLLINS, 2001). O HPB não apresentou esta característica.

Este trabalho, devido à escassez de informações referentes ao perfil sacarídico de tumores de próstata humana, contribui para aumentar as informações acerca destas afecções da próstata com potencial aplicação no desenvolvimento de terapias, como o direcionamento de drogas.

7 CONCLUSÃO

- A Con A mostrou-se ser um marcador histoquímico para HPB ao passo que a LTG reconheceu apenas células dos vasos sanguíneos em adenocarcinoma prostático;
- A LTA não se prestou no reconhecimento celular nos casos de hiperplasia nem de adenocarcinoma prostáticos;
- O tecido diagnosticado como adenocarcinoma prostático apresentou expressão de carboidratos de superfície diversa da encontrada nos casos de HPB, quando pelo uso da lectina Con A;
- Tais achados corroboram estudos que sugerem existir modificações no padrão glicídico de células malignas, quando comparadas com células transformadas benignamente.

8 REFERÊNCIAS

AKIMOTO et al. Anatomy-based inverse optimization in high-dose-rate brachytherapy combined with hypofractionated external beam radiotherapy for localized prostate cancer: comparison of incidence of acute genitourinary toxicity between anatomy-based inverse optimization and geometric optimization. **Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys**, v. 15, p. 234-41, 2006.

ARAÚJO-FILHO et al. Galectina-3 em tumores de próstata: imuno-histoquímica e análise digital de imagens. **J Bras Patol**; v. 42, n. 6, p. 469-475. 2006.

ARENAS et al. A lectin histochemistry comparative study in human normal prostate, benign prostatic hyperplasia, and prostatic carcinoma. **Glycoconj J**. v.16 -17, p. 375-382, julho 1999.

ASTOUL, C.H., PEUMANS, W.J., VAN DAMME, E.J. Accessibility of the high-mannose glycans of glycoprotein gp120 from human immunodeficiency virus type 1 probed by in vitro interaction with mannose-binding lectins. **Biochem Biophys Commun**, v. 274(2), p. 455-460, 2000.

BABINSKI et al. MORPHOLOGY AND AREAL FRACTION OF THE GLANDULAR LUMEN OF TRANSITION ZONE IN THE HUMAN PROSTATE. **Revista Chilena de Anatomia**, v. 20, p. 255-262, 2002.

BELTRÃO, E.I.C., CORREIA, M.T.S., FIGUEREDO-SILVA, J., COELHO, L.C.B. Binding Evaluation of Isoform 1 from *Cratylia mollis* Lectin to Human Mammary Tissue. **Appl Biochem Biotech**, 74(3):125-134, 1998.

BELTRÃO et al. Infiltrating ductal carcinoma: a lectin histochemistry study. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 46, p. 32-35, 2001.

BELTRAO et al. *Parkia pendula* lectin as histochemistry marker for meningothelial tumour. **Eur J Histochem**, v. 47(2), p. 139-142, 2003.

BOORJIAN et al. Impact of prostate-specific antigen testing on the clinical and pathological outcomes after radical prostatectomy for Gleason 8–10 cancers. **Jornal Compilation**, v. 101, p. 299-304, 2007.

BONACCORSI et al. Androgen receptor and prostate cancer invasion. **International Journal of Andrology**, v. 26, p. 21-25, 2003.

BRASILEIRO-FILHO. **Bogliolo Patologia**, p. 503-504, 2000.

BRINDA, K. V.; SUROLIA, A.; VISHVESHWARA, S. Insights into the quaternary association of proteins through structure graphs: a case study of lectins. **Biochem J**, v. 391, p. 1-15, 2005.

CALIFICE et al. Galectin-3 and cancer (Review). **Int J Oncol**, v.25, p.983-992, outubro 2004.

Câncer de Próstata, 2008. Disponível em: <<http://inca.gov.br>>. Acesso em: 14 de junho de 2008.

CALVETE et al. Avaliação da extensão da neoplasia em câncer da próstata: valor do PSA, da percentagem de fragmentos positivos e da escala de Gleason. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v.49, n.3 2003.

CARRUBA, G. Estrogens and Mechanisms of Prostate Cancer Progression. **New York, Academy of Sciences**, v. 1089, p. 201-217, 2006.

CERVI, A.; HERMSDORFF, H., H., M.; RIBEIRO, R., C., N. Tendência da mortalidade por doenças neoplásicas em 10 capitais brasileiras, de 1980 a 2000. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 8(4), 2005.

CHACKO, B., K.; APPUKUTTAN, P., S. Peanut (*Arachis hypogaea*) lectin recognizes α -linked galactose, but not *N*-acetyl lactosamine in *N*-linked oligosaccharide terminals. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 28, p. 365-371, 2001.

CHAN, F.L; CHOI, H.L.; HO, S.M. Analysis of glycoconjugate patterns of normal and hormone-induced dysplastic Noble rat prostates, and an androgen-independet Noble rat prostate tumor, by lectin histochemistry and protein blotting. **The Prostate**, v. 46, p. 124-132, 2001.

CLAUDON et al. Proteic composition of corpora amylacea in the bovine mammary gland. **Tissue & Cell**, v. 30, p. 589-595, 1998.

CONTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins Patología Estrutural e Funcional**, 6. ed., p. 12-51, 2000.

COOGAN et al. Increasing the number of biopsy cores improves the concordance of biopsy Gleason score to prostatectomy Gleason score. **BJU international**, v. 96, p. 324-327, 2005.

DÂNGELO, J. J.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar: para o estudante de medicina**, 2. ed., p. 671, 2000.

FAGGIANO et al. Differential expression of galectin 3 in solid cell nests and C cells of human thyroid. **J Clin Pathol**, vol. 56, p. 142-143, 2003.

FERNANDES et al. Biopsy Gleason score: how does it correlate with the final pathological diagnosis in prostate cancer? **British journal of urology**, v. 79, p. 615-617, 1997.

FERRAZ, GRAÇAS HERMÍNIA CAVALCANTI FRANÇA. **Relação do antígeno prostático específico com hiperplasia prostática benigna e adenocarcinoma prostático em casos em Pernambuco**, Dissertação de Mestrado. 2004.

GUA, Y.; et al. Phenotypic characterization of telomerase-immortalized primary non-malignant and malignant tumor-derived human prostate epithelial cell lines. **Experimental Cell Research**, v. 312, p. 831-843, 2006.

GUERRA, M., R.; GALLO, C., V., M., MENDONÇA, G., A., S. Risco de Câncer no Brasil: Tendências e Estudos Epidemiológicos Mais Recentes. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51(3), p. 227-234, 2005.

HAYNES, J., M.; VENTURA, S. Current Models Of Human Postate Contractily. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 32, p. 707-804, 2005.

HERLING et al. Glycohistochemical monitoring of chemically induced sarcomas at different stages of tumorigenesis. **In Vivo**, v. 14, p. 499-506, 2000.

KAPUR, S. A medical hypothesis: phosphorus balance and prostate cancer. **Cancer Invest.** v. 18, p.664-669, 2000.

KAWAI, K.; ISHIZU, H.; KURODA, S. Lectin Cytochemistry of rat cerebral and cerebellar neuronal cells. **Neuropathology**, v. 21, p. 13-18, 2001.

KIM et al. Body mass index influences prostate-specific antigen in men younger than 60 years of age. **Inter J of Urology**, v. 14, p. 1009-1012, 2007.

KOBAYASHI et al. Prostate gland volume is a strong predictor of biopsy results in men 70 years or older with prostate-specific antigen levels of 2.0–10.0 ng/mL. **Inter J of Urology**, v. 12, p. 969-975, 2005.

KONISHI et al. Molecular pathology of prostate cancer. **Pathology International**, v. 55, p. 531-539, 2005.

KRZESLAK, et al. Differences in glycosylation of intracellular proteins between benign and malignant thyroid neoplasms. **Cancer letters**, v. 196, p. 101-107, 2003.

LANGBEIN et al. Gene-expression signature of adhesion/growth-regulatory tissue lectins (galectins) in transitional cell cancer and its prognostic relevance. **Histopathology**, v. 51, p. 681-690, 2007.

LERH, C.M. Lectin-mediated drug delivery: the second generation of bioadhesives. **J. Contr. Rel.**, v. 65, p.19-29, 2000.

LIN et al. Galectin-3 enhances cyclin D(1) promoter activity through SP1 and a cAMP responsive element in human breast epithelial cells. **Oncogene**, v. 21, p. 8001-8010, 2001.

LOEB et al. Is the utility of prostate-specific antigen velocity for prostate cancer detection affected by age? **J Compilation**, v. 101, p. 817-821, 2008.

LONG et al. Effect of prostate manipulation on the serum levels of complexed prostate-specific antigen and total prostate-specific antigen. **Inter J of Urology**, v. 13, p. 947-950, 2006.

MATCHARIYAKUL et al. A Risk Index for Prostate Cancer. **Inter J of Urology**, v. 11, p. 310-315, 2004.

MELO-JUNIOR et al. Altered Lectin-Binding Sites in Normal Colon and Ulcerative Colitis. **J Bras Patol Med Lab**, v. 40, p. 123-5, 2004.

MELO-JUNIOR et al. Avaliação Histoquímica da Mucosa Gastrointestinal de Ratos Expostos ao Álcool. **Revista Paraense de Medicina**, v. 20(4), 2006.

MOOT et al. MEN WITH COLORECTAL CANCER ARE PREDISPOSED TO PROSTATE CANCER. **Anz J. Surg**, v. 73, p. 289-293, 2003.

MONTIRONI et al. Nuclear changes in the normal-looking columnar epithelium adjacent to and distant from prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer. Morphometric analysis in whole-mount sections. **Virchows Archives**, v. 437(6), p. 625-34, 2000.

PHIPPS et al. Measurement of tissue mechanical characteristics to distinguish between benign and malignant prostatic disease. **Urology**. 66: 447-450, 2005.

PRANAB et al. Lectin and serum-PSA interaction as a screening test for prostate cancer. **Clinical Biochemistry**, v.36, p.373- 376, 2003.

PRATIMA et al. Carbohydrate-binding proteins in cancer, and their ligands as therapeutic agents. **Trends in Molecular Medicine**. v. 8, n. 04, abril 2002.

QUINN, M.; BABB, P. Patterns and trends in prostate cancer incidence, survival, prevalence and mortality. Part II: individual countries. **BJU international**, v. 90, p. 174-184, 2002.

RÊGO et al. Lectin Histochemistry of Mucoepidermoid Carcinoma. **Oral Oncology**, v. 1(1), p. 178-179, 2005.

REMANI et al. Lectin cytochemistry in the exfoliative cytology of uterine cervix. **Neoplasma**, v. 41(1), p. 39-42, 1994

RODRIGUES – COVARRUBIAS et al. The outcome of patients with pathological gleason score > 8 prostate cancer after radical prostatectomy. **Jornal compilation**, v 101, p. 305-307, 2007.

ROLIM, H., M., L. **Utilização de Lectinas Para Avaliação Físico-Química e Obtenção de Lipossomas Lectina-Conjugada**, Tese de doutorado, 2000.

RÜDIGER et al. Plant Lectins- More than just tools for glycoscientists: Occurrence, structure, and possible functions of plant lectins. **Acta Anatomica**, v.161, p. 130-152, 1998.

SAMES, et al. Lectin and Proteoglycan Histochemistry of Merkel cell Carcinomas. **Exp Dermatology**, v. 10, p. 100-9, 2001.

SCHUMACHER et al. Lectin and Proteoglycan Histochemistry of Merkel cell Carcinomas. **Exp Dermatology**, v. 10, p. 100-9, 2001.

SECRETARIA DE SAÚDE DE PERNAMBUCO. Gerência de epidemiologia. Unidade de informações epidemiológicas. **Sistema de Informação de Mortalidade**, Recife, 2008.

SHARON, N.; LIS, H. History of Lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, n. 11, p. 53-62, 2004.

SHEKHAR et al. Alterations in galectin-3 expression and distribution correlate with breast cancer progression: functional analysis of galectin-3 in breast epithelial-endothelial interactions. **Am J Pathol**, v. 165, p. 1931-41, 2004.

TABARES et al. Different glycan structures in prostate-specific antigen from prostate cancer sera in relation to seminal plasma PSA. **Glycobiology**, v.16, p. 132-145, fevereiro, 2006.

VILA NOVA, S. P. Tese de Doutorado (Doutorado em Química), CCEN - UFPE, 2003.

VILLANUEVA, M.A. Elimination of artifacts on native western blots arising from endogenous lectin activity. **Jornal of Biochemical and Biophysical Methods**, v 50, p. 141-149, 2002.

VISSER JW, DE VRIES P. Identification and purification of murine hematopoietic stem cells by flow cytometry. **Method Cell Biol**, v. 33, p. 451-468, 1990.

WÜNSCH-FILHO, V.; MONCAU, J., E. Mortalidade por câncer no Brasil 1980-1995: Padrões regionais e tendências regionais, **Rev Assoc Méd Bras**, v. 48, p. 250-7, 2002.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 085/2008 - CEP/CCS

Recife, 04 de abril de 2008

Registro do SISNEP FR – 179956

CAAE – 0051.0.172.000-08

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 053/08

Título: "Histoquímica com lectinas em tecidos diagnosticados como hiperplasia prostática benigna e adenocarcinoma prostático em casos de Pernambuco"

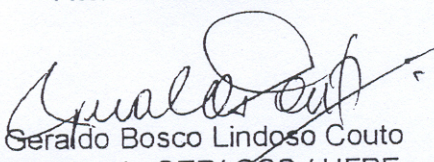
Pesquisador Responsável: João Hermógenes Ribeiro de Castro Neto

Senhor Pesquisador

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 02 de abril de 2008.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar relatório ao final da pesquisa (31/08/2008)

Atenciosamente


Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/CCS / UFPE

Ao
Mestrando João Hermógenes Ribeiro de Castro Neto
Mestrado em Patologia – CCS/UFPE