



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE
REGIONAL JATAÍ

**AVALIAÇÃO DA GLICOPROTEINA CRISP-3 COMO POTENCIAL
BIOMARCADOR NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA**

APARECIDA DE LOURDES CARVALHO

JATAÍ - GO

2016

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1 **1. Identificação do material bibliográfico:** ☒ Dissertação ☐ Tese

1 **2. Identificação da Tese ou Dissertação**
2

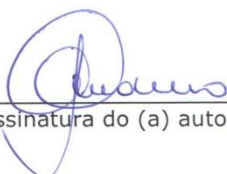
Nome completo do autor: **Aparecida de Lourdes Carvalho**

Título do trabalho: **Avaliação da glicoproteína CRISP-3 como potencial biomarcador no prognóstico do câncer de próstata.**

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do (a) autor (a)

Data: 05 / 11 / 2016

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

APARECIDA DE LOURDES CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA GLICOPROTEINA CRISP-3 COMO POTENCIAL
BIOMARCADOR NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, da Universidade Federal de Goiás, como pré-requisito para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Aplicadas à Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos

JATAÍ - GO

2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

de Lourdes Carvalho, Aparecida
AVALIAÇÃO DA GLICOPROTEINA CRISP-3 COMO POTENCIAL
BIOMARCADOR NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA
[manuscrito] / Aparecida de Lourdes Carvalho. - 2016.
50 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Unidade
Acadêmica Especial de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, Jataí, 2016.
Bibliografia. Anexos.
Inclui siglas, fotografias, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de
figuras, lista de tabelas.

1. Adenocarcinoma prostático. 2. Imunomarcção. 3. Score de
Gleason . I. Gouvêa dos Santos, Wagner , orient. II. Título.

CDU 575



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CÂMPUS JATAÍ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE

Rod. BR 364, km 192, n. 3800, Setor Industrial
75.801.615 – Jataí/GO- Brasil

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos cinco dias do mês de Outubro do ano de dois mil e dezesseis às 09:00 horas no Auditório do Prédio da Pós-Graduação, Unidade Jatobá, Regional Jataí da universidade Federal de Goiás, realizou-se a sessão pública de defesa de dissertação, intitulada “ **AVALIAÇÃO DA GLICOPROTEINA CRISP-3 COMO POTENCIAL BIOMARCADOR NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PROSTATA**”, de autoria da candidata: **Aparecida de Lourdes Carvalho** aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Saúde, em nível de Mestrado. A Comissão Examinadora foi constituída pelos professores: Prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos, Presidente. Prof. Dr. Fernando Paranaíba Filgueira, membro interno e. Prof. Dr. Daniel Cortes Beretta, membro externo.

Concluídos os trabalhos de apresentação e arguição, os membros da banca consideraram a aluna:

☒ aprovado

☐ reprovado

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos. UFG/Jataí
Presidente

Prof. Dr. Fernando Paranaíba Filgueira. UFG/Jataí
Membro interno

Prof. Dr. Daniel Cortes Beretta. UFG/Jataí
Membro externo

Foi concedido um prazo máximo de 30 dias, a contar da data de defesa o candidato a efetuar as correções sugeridas pela Comissão Examinadora e apresentar o trabalho em redação definitiva, sob pena de não expedição do Diploma. E, para constar, foi lavrada a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão.

Dedico este trabalho ao amigo, companheiro e amado marido!

“Cada um sabe a alegria e a dor que traz no coração”

Sérgio Britto

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus pais pela dádiva da vida e ao meu marido e filhos a continuidade dela.

Agradeço de coração às sobrinhas Jessica e Laura pelo tempo disponibilizado no fornecimento de algumas bibliografias.

Ao meu orientador pela parceria e confiança, o meu sincero e profundo agradecimento.

Em especial, agradeço à equipe do Centro de Prevenção de Jataí, e do laboratório INGOH, no nome do Professor Sebastião Alves Pinto, pelo auxílio nas colorações imunohistoquímicas.

Aos membros do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde e à banca avaliadora.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O CRISP-3 é uma glicoproteína e potencial biomarcador expressado em baixos níveis na próstata humana normal e fortemente regulado no câncer de próstata. O objetivo deste estudo foi investigar a presença do biomarcador CRISP-3 em espécimes de tecido prostático parafinizados e correlacionar com os atuais parâmetros prognósticos pré e pós tratamento de pacientes com câncer de próstata. Foram selecionados casos diagnosticados como adenocarcinoma prostático, dos arquivos do Centro de Prevenção de Jataí, no período de 2009 a 2013. Histologicamente analisou-se lâminas do material prostático de acordo com o score de Gleason e o estadiamento do adenocarcinoma prostático foi feito usando o sistema TNM. Fez-se avaliação dos parâmetros clínicos pela busca no prontuário médico dos pacientes obtendo-se os dados de PSA anterior à cirurgia e no segmento. Cortes histológicos corados por imunohistoquímica foram avaliados por médico patologista e classificados de acordo com a intensidade da coloração/marcação específica para CRISP-3. Foram analisados 25 cortes histológicos de material prostático quanto à imunoexpressão da proteína CRISP-3 sendo 14 (56%) de marcação forte, 4 (16%) moderada e 7 (28%) fraca. Não houve correlação entre a intensidade da reação imunohistoquímica e as dosagens bioquímicas de PSA pré e pós tratamento cirúrgico. A maioria dos espécimes, 24 (96%) foram classificados como adenocarcinoma acinar usual, 15 (60%) apresentaram extensão do tumor primário pT2 e 13 (52%) apresentaram score de Gleason igual a sete, em todas as análises não se observou diferença estatística significativa entre os parâmetros analisados e a intensidade da marcação por CRISP-3. Neste estudo todas as análises foram positivas para a presença do CRISP-3 sugerindo a possibilidade de utilizar essa glicoproteína como importante biomarcador diagnóstico do câncer de próstata, principalmente na ocasião do diagnóstico com o exame de biópsia por agulha, processo importante na vigilância ativa dessa complicação.

PALAVRAS-CHAVE: Adenocarcinoma prostático, Imunomarcção, Score de Gleason

ABSTRACT

CRISP-3 is a glycoprotein and a biomarker expressed at low levels by normal human prostate and strongly regulated in prostate cancer. The aim of this study was to investigate the presence of CRISP-3 biomarker in paraffin embedded prostate tissue specimens and to correlate the prognostic parameters pre and post treatment of prostate cancer patients. Cases diagnosed as prostate adenocarcinoma were selected from Centro de Prevenção de Jataí archives, from 2009 to 2013. Prostate specimens were analyzed histologically according to the Gleason score and the staging of prostate cancer was performed using the TNM system. The evaluation of clinical parameters was performed by searching the medical records of patients obtaining PSA data prior to surgery and during the follow-up. Immunohistochemical slides were evaluated by a pathologist and classified according to the intensity of staining / marking specific for CRISP-3. It was analyzed 25 tissue sections of prostate material and the expression of CRISP-3 protein was classified as strong in 14 (56%) patients, moderate in 4 (16%) and weak in 7 (28%) specimens. There was no correlation between the intensity of the immunohistochemical reaction and the levels of PSA pre and post treatment. The majority of the specimens, 24 (96%) were classified as usual acinar adenocarcinoma, 15 (60%) showed extension of the primary tumor pT2 and 13 (52%) had Gleason score equal to seven. In all analyzes there was no significant statistical differences among these parameters and the intensity of CRISP-3 staining. In this study, all prostate cancer analysed were positive for the presence of CRISP-3 suggesting the possibility of using this glycoprotein as an important biomarker for diagnosis of prostate cancer, especially at the time of diagnosis with the examination of needle biopsy, an important process in the active surveillance of this complication.

KEYWORDS: Prostatic adenocarcinoma, Immunostaining, Gleason Score

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Ilustração esquemática de corte sagital do aparelho gênito-urinário. FONTE: GUYTON, 2006.	14
FIGURA 2 - Ilustração esquemática das zonas ou regiões biológicas de uma próstata adulta normal. (ZC) Zona central, (ZP) zona periférica, (ZT) zona de transição e zona periuretral. FONTE: EPSTEIN, 2016.	15
FIGURA 3 - Corte histológico de glândula prostática benigna com camada de células basais e células secretórias. Coloração hematoxilina e eosina, aumento de 400x. FONTE: EPSTEIN, 2016.	16
FIGURA 4 - Esquema representativo da análise de corte histopatológico de glândula prostática de acordo com o score de Gleason. Coloração hematoxiliana eosina, aumento 200x. FONTE: Adaptado de KUMAR, 2010. ...	25
FIGURA 5 - Fotomicrografias de lâminas histológicas de neoplasia prostática ao aumento de 200x, câmera Leica®, modelo DS750. (A e B) Coloração com hematoxilina e eosina. (C) Coloração imunohistoquímica para CRISP-3 fraco. (D) Coloração imunohistoquímica para CRISP-3 moderado. (E) Coloração imunohistoquímica para CRISP-3 forte.	29
FIGURA 6 - Distribuição dos valores de PSA de acordo com a fase de tratamento em relação à avaliação do biomarcador CRISP-3 à imunohistoquímica, dos pacientes submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013. Análise estatística por <i>GraphPad Prism</i> versão 5.0 com One Way ANOVA, considerado estatisticamente significativo quando $p < 0,05$	33
FIGURA 7 - Distribuição dos pacientes de acordo com o score de Gleason e a avaliação do biomarcador CRISP-3 à imunohistoquímica, dos pacientes submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013. Análise estatística por <i>GraphPad Prism</i> versão 5.0 com teste qui-quadrado de Pearson (χ^2), considerado estatisticamente significativo quando $p < 0,05$	36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Estadiamento do adenocarcinoma prostático usando o sistema TNM. FONTE: KUMAR (2010).	266
TABELA 2 - Parâmetros clínico epidemiológicos dos indivíduos submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013 e analisados neste estudo.	30
TABELA 3 - Parâmetros clínico patológicos dos casos analisados histologicamente e de acordo com a presença do biomarcador CRISP-3 à imunohistoquímica, submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013.	355

LISTA DE ABREVIATURAS

ACAT1 – Acetil-CoA Acetiltransferase 1
AKR1C3 – Aldo-Keto Reductase 1C3
CD4 – Célula dendrítica 4
CRISP-3 – Cysteine-Rich Secretory Protein 3
HPB – Hiperplasia Prostática Benigna
INCA – Instituto Nacional do Câncer
LH – Hormônio Luteinizante
LHRH – Hormônio Liberador do Hormônio Luteinizante
MMP – Metaloproteínas da Matriz
NUCB2 – Nuclobindin 3
P27 – Proteína 27
PSA – Prostate Specific Antigen
PSP 94 - Prostate Secretory Protein of 94 Aminoacids
PTEN e ERG – Genes associados ao câncer
RABEX-5 – Fator de Troca de Nucleotídeo guanina para Rab -5

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS.....	13
1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Características morfológicas e fisiológicas da próstata	14
1.2. Processos patológicos que acometem a próstata	16
1.2.1. Epidemiologia do câncer prostático.....	17
1.2.2. Diagnóstico do câncer de próstata	18
1.2.3.Tratamento	19
1.3. Biomarcadores para o prognóstico do câncer de próstata	19
1.3.1. CRISP-3	21
2. OBJETIVOS	22
2.1.Objetivo geral	22
2.2.Objetivos específicos	22
3. METODOLOGIA.....	23
3.1. Seleção dos casos	23
3.2. Processamento histopatológico.....	23
3.3. Avaliação dos parâmetros clínicos	26
3.4. Imunohistoquímica	27
3.4.1. Colheita e preparação do material	27
3.4.2. Procedimento de pré-tratamento	27
3.4.3. Procedimento de coloração	27
3.4.4. Análise das lâminas.....	29
3.5. Análise Estatística	29
4.RESULTADOS	30
5.DISSCUSSÃO	37
6.CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXO1.....	42
ANEXO2.....	45

1. INTRODUÇÃO

1.1. Características morfológicas e fisiológicas da próstata

A próstata é um órgão retroperitoneal que circunda o colo vesical e a uretra masculina, sem cápsula distinta, como demonstrado na Figura 1 (MOORE, 2013; EPSTEIN, 2016).

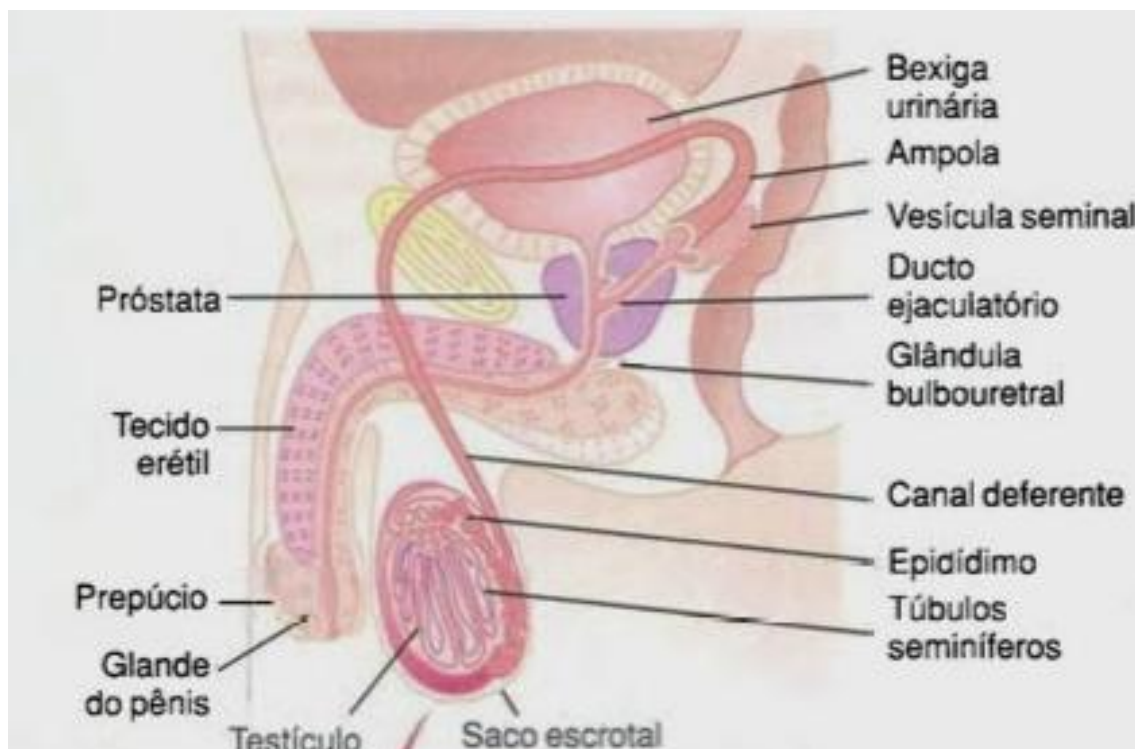


FIGURA 1 - Ilustração esquemática de corte sagital do aparelho gênito-urinário. FONTE: GUYTON, 2006.

No adulto a próstata normal mede aproximadamente três centímetros (cm) de altura, quatro de largura e dois centímetros de profundidade antero-posterior, este órgão pesa em torno de 20 gramas, sendo a maior glândula acessória do sistema reprodutor masculino (YOUNG, 2000; EPSTEIN, 2016).

Epstein (2016) aponta que o parênquima prostático, no indivíduo adulto, pode ser dividido em quatro zonas ou regiões biológicas e anatomicamente distintas: periférica, central, transicional e a região do estroma fibromuscular anterior, apresentado na Figura 2.

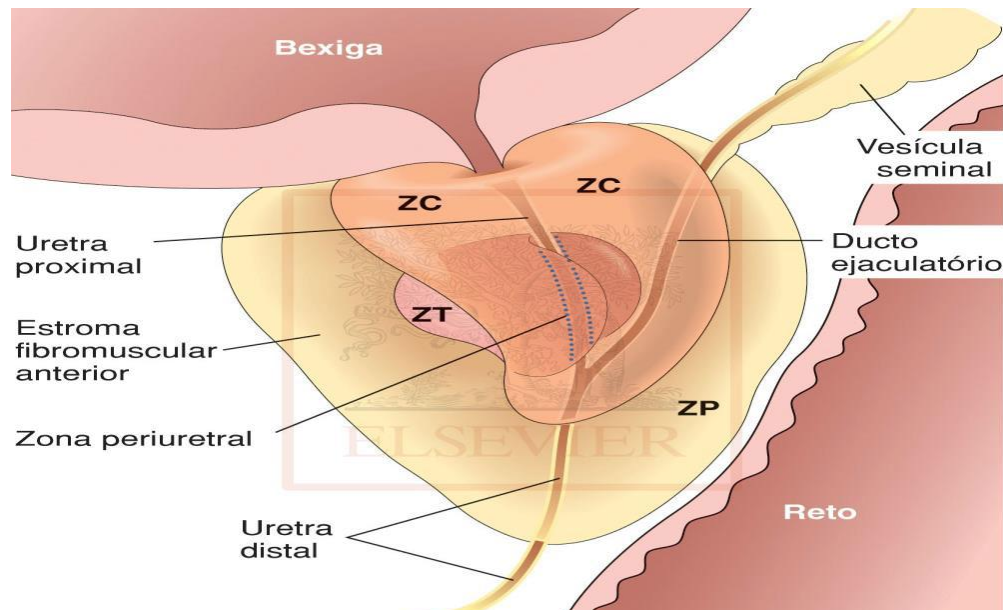


FIGURA 2 - Ilustração esquemática das zonas ou regiões biológicas de uma próstata adulta normal. (ZC) Zona central, (ZP) zona periférica, (ZT) zona de transição e zona periuretral. FONTE: EPSTEIN, 2016.

Histologicamente, a próstata é um órgão tubuloalveolar composto, que, aos cortes, apresenta espaços glandulares com tamanhos variados, revestidos por epitélio. As glândulas são revestidas por duas camadas de células, uma camada basal cuboide baixa, coberta por uma camada de células epiteliais colunares secretoras, separadas por um estroma fibromuscular abundante (composto de fibras musculares lisas, fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos, filetes nervosos e esparsos linfócitos), na Figura 3 (EPSTEIN, 2016).

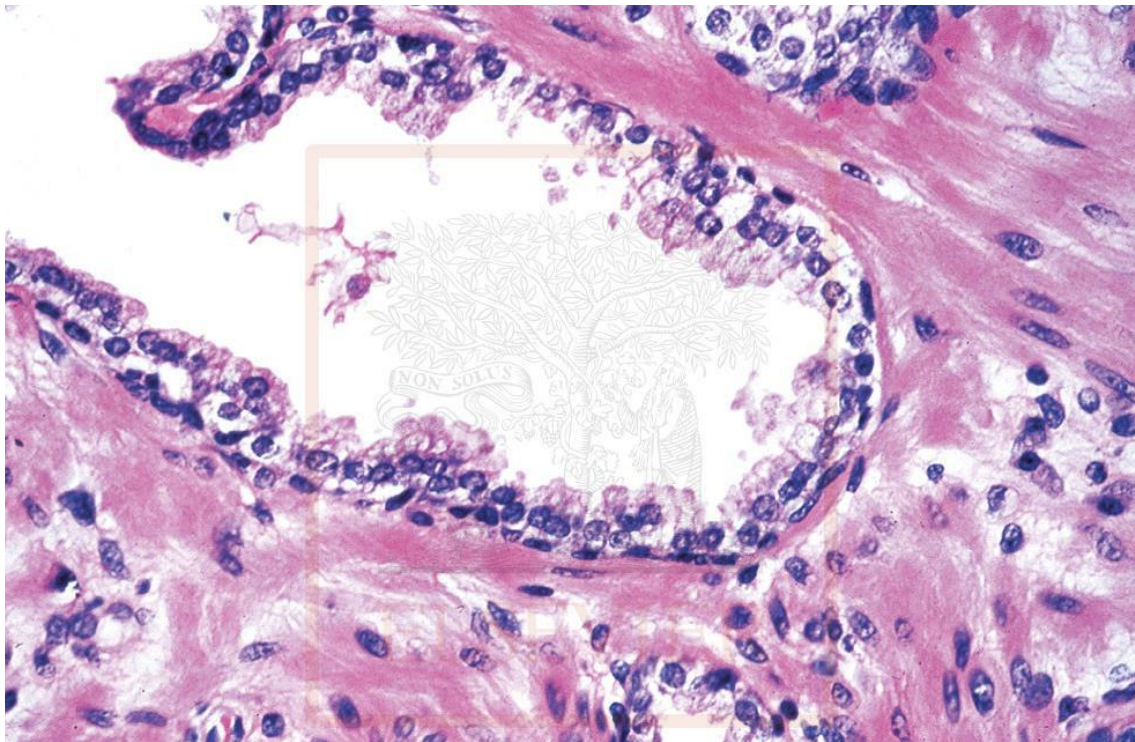


FIGURA 3 - Corte histológico de glândula prostática benigna com camada de células basais e células secretórias. Coloração hematoxilina e eosina, aumento de 400x. FONTE: EPSTEIN, 2016.

A próstata secreta um líquido fino, leitoso, que contém cálcio, íon citrato, íon fosfato, enzima de coagulação e pró-fibrinolise. Durante a emissão, ela se contrai simultaneamente com as contrações do canal deferente, de modo que seu líquido opaco seja adicionado ao sêmen. O líquido prostático ligeiramente alcalino ajuda a neutralizar a acidez dos outros líquidos seminais durante a ejaculação, e favorece a mobilidade e fertilidade do espermatozoide (GUYTON, 2006).

A próstata sofre influência hormonal. O hormônio luteinizante (LH), produzido na adenohipófise por ação do hormônio liberador do LH (LHRH) sintetizado no hipotálamo, estimula as células Leydig do testículo a produzirem testosterona, dessa forma o epitélio glandular prostático responde à ação da di-hidro-testosterona (influyente no crescimento do epitélio glandular prostático), que resulta da ação da enzima 5 α redutase sobre a testosterona nas células estromais (BILLIS, 2006).

1.2. Processos patológicos que acometem a próstata

A glândula prostática pode estar afetada por alguns processos patológicos, sendo três de maior relevância devido às suas frequências, entre

esses estão a inflamação, a hiperplasia prostática benigna (HPB) e os carcinomas. A HPB é a mais comum e ocorre com elevada frequência na idade avançada, portanto é considerada praticamente como um processo “normal” do envelhecimento. Além dessa, o carcinoma prostático é também uma alteração comum, enquanto os processos inflamatórios têm, na maior parte das vezes, pouca importância clínica (EPSTEIN, 2016).

Os tipos de alterações proliferativas diferem em cada região da próstata, por exemplo, a maioria das hiperplasias surgem na zona transicional, enquanto a maioria dos carcinomas se origina na zona periférica (MOORE, 2013; EPSTEIN, 2016). Com relação aos carcinomas, alguns crescem de forma rápida, formando metástases que podem levar ao óbito. Outras, cresce de forma lenta sem sintomas clínicos aparentes, e não chegam a evidenciar sinais clínicos durante a vida e nem ameaçar a saúde do homem (WOLTERS et al., 2010; HOOLAND, et al., 2011).

Os métodos habituais de detecção desta complicação incluem exame retal digital, dosagem do *Prostate Specific Antigen* (PSA) no soro e biópsia transretal (KOSAIR et al., 2002). Contudo, devido à falta de especificidade, nenhum dos métodos é capaz de discriminar entre cânceres indolentes e cânceres agressivos fator determinante que enfatiza a necessidade de prognósticos adicionais, como a imunohistoquímica para o biomarcador CRISP-3.

1.2.1. Epidemiologia do câncer prostático

A neoplasia prostática tem incidência anual de um milhão de casos e causa 250.000 mortes por ano em todo o mundo, portanto, uma complicação importante de morbidade e mortalidade associada ao câncer humano (JEMAL et al., 2010; GRUPP et al., 2013).

O câncer de próstata é o tipo de neoplasia mais frequentemente diagnosticada em homens no mundo, sendo esta doença relacionada como a segunda maior causa de mortalidade por câncer no sexo masculino mundialmente, principalmente na região ocidental e nos países em desenvolvimento onde a taxa de incidência é seis vezes maior em relação aos países desenvolvidos (HOOGLAND et al., 2011; SIEGEL et al., 2012; KOO et al., 2016). Em 2009 o câncer de próstata representou 25% dos novos casos de

neoplasia na região ocidental e 9% das mortes por câncer em homens (JEMAL et al., 2009). No Brasil o câncer de próstata é o segundo mais comum entre os homens, atrás apenas do câncer de pele não-melanoma. Segundo o INCA (2016), estimava-se 68.800 novos casos em 2014 no Brasil, sendo que o número de mortos em 2011 foi de 13.129 casos.

Suspeita-se que fatores de risco endógenos como idade, raça, história familiar, níveis hormonais e estresse oxidativo e, ainda, influências ambientais, incluindo dietas e ocupação, possam estar associados à etiologia e patogenia da doença (BOSTWICK & CHENG, 2014, EPSTEIN, 2016).

1.2.2. Diagnóstico do câncer de próstata

A detecção precoce do câncer de próstata requer um exame retal digital, teste de PSA no soro e biópsia de próstata por agulha (BJARTELL et al., 2007; KOSAIR et al., 2012). Tais análises resultam nos parâmetros prognósticos pré-tratamento que incluem score de Gleason, extensão do tumor nas biópsias, antígeno específico da próstata pré-operatório e parâmetros clínicos (GRUPP et al., 2013).

De acordo com o critério diagnóstico o câncer de próstata pode ser classificado como tumor latente, detectado em necropsia, que representa 80% dos casos, o tumor clínico detectado pelo PSA e/ou pelo toque retal, os quais são 15% do total de cânceres prostáticos, e, o tumor metastático, chamado oculto, que tem frequência entorno de cinco por cento. Salienta-se que entre o tumor latente e o tumor clínico há pacientes que, embora tenham o tumor diagnosticado clinicamente, poderiam beneficiar-se apenas de uma vigilância ativa (acompanhamento periódico) e desta forma poderiam postergar um tratamento definitivo e curativo, muitas vezes agressivo, pois são portadores de tumores ditos “insignificantes” ou “tumores mínimos” ou “tumores indolentes”. O “tumor insignificante” é definido baseando-se em dados clínicos e histopatológicos obtidos na biópsia por agulha. Para que um tumor seja considerado “insignificante” é preciso que o PSA seja inferior a 10 ng/mL, o tumor não seja palpável (T1c), ausência de grau 4 ou 5 de Gleason, menos de três fragmentos positivos na biópsia por agulha e menos de 50% de comprometimento em cada fragmento (ORTIZ, 2009).

Assim pode-se perceber que um dos maiores problemas no diagnóstico e tratamento do câncer de próstata se deve à dificuldade em discriminar entre cânceres indolentes com crescimento lento e aqueles tumores mais agressivos com um êxito letal.

1.2.3.Tratamento

Como o câncer da próstata muitas vezes tem uma progressão lenta e normalmente afeta homens idosos é evidente que nem todos os pacientes requerem tratamento potencialmente curativo e agressivo, visto que as opções terapêuticas variam de vigilância ativa, terapia cirúrgica ou radioterapia, à deprivação hormonal (GRUPP et al., 2013). Assim, tem sido com frequência enfatizado nas pesquisas sobre o câncer de próstata a necessidade em discriminar entre tumores indolentes e agressivos (PATHAK et al., 2016).

1.3. Biomarcadores para o prognóstico do câncer de próstata

Muitas pesquisas têm sido desenvolvidas para identificação de biomarcadores que possam prever quanto à progressão da doença e resultado do tratamento do câncer de próstata. Os principais biomarcadores são: RABEX-5 (ZHANG et al., 2014), NUCB2 (ZHANG et al., 2013), ACAT1 (SARAON et al., 2014), PSP94 (BREED et al., 2013), PTEN e ERG (GRUPP et al., 2013), CD4 e P27 (NASSIF et al., 2010), MMP (REIS et al., 2011); AKR1C3 (FUNG et al., 2006; CHEN et al., 2012) e CRISP 3 (EYNDE et al., 2011; GRUPP et al., 2013; BERJAL et al., 2006; HOOGLAND et al., 2011; DAHLMAN et al., 2011).

A expressão do RABEX-5 e sua significância no câncer de próstata foi estudada por Zhang e colaboradores em 2013. Eles demonstraram que alta expressão do mRNA do RABEX-5 estavam associados à metástase linfonodal, pior estágio clínico, recorrência bioquímica, mais alto nível de PSA pré-operatório e mais elevado score de Gleason.

Zhang et al. (2014) estudaram ainda o nível de expressão da Nucleobindin 2 (NUCB2) uma oncoproteína altamente expressa no câncer de mama e no câncer de próstata na qual constatou que sua elevada expressão esta correlacionada a invasão da vesícula seminal, metástase para nódulos

linfáticos, invasão agiolinfática, alto *score* de Gleason, recorrência bioquímica e alto nível de PSA pré-operatório.

ACAT1 é uma enzima da via cetogênica, foi estudada por Saraon e colaboradores (2014), indicando uma elevada expressão em câncer de próstata em comparação ao tecido prostático adjacente naqueles tumores com *score* de Gleason maior que 8 ng/mL, estágio clínico pT3/pT4 e recorrência bioquímica.

PSP94 é uma proteína secretória prostática de 94 aminoácidos, conhecida ainda como β -micro-seminoproteína. Ela é pequena, rica em cisteína e não glicosilada, sendo observada no epitélio da próstata normal. Além da sua utilidade diagnóstica e prognóstica, também seu potencial como terapia alvo tem sido pesquisado. Bhakti e colaboradores (2010) propõem um efeito regulatório desta proteína no crescimento de linhagens de células do câncer de próstata e Grupp e colaboradores (2013) demonstram em estudo de tecido prostático com adenocarcinoma proveniente de prostatectomia radical que enquanto há uma elevação do CRISP 3 nos tumores de alto grau o PSP94 tem seus níveis reduzidos, o que leva a pensar em uma perda da regulação do crescimento celular.

PTEN e ERG são proteínas também associadas ao câncer de próstata sendo a agressividade tumoral associada à deleção do PTEN e fusão do ERG e definindo assim subgrupos fenotípicos distintos de câncer de próstata (GRUPP et al., 2013).

Nassif e colaboradores (2010) sinalizam os marcadores tumorais CD4 e P27 com fator prognóstico em câncer de próstata. O CD34 um biomarcador associado à angiogênese tumoral é utilizado para quantificar a densidade microvascular de tumores. O gene P27 pertencente à família cip/kip inibidores da proteína quinase dependente da ciclina apresenta uma expressão diminuída no câncer de próstata e assim tem sua ação reguladora negativa do ciclo celular comprometida.

As metaloproteínas da matriz (MMP) são endoproteínas que degradam vários componentes da matriz extracelular. As MMP pertencentes ao grupo das gelatinases tem seus níveis de expressão alterados no câncer localizado da próstata sendo então um possível biomarcador no prognóstico desta neoplasia (REIS et al., 2011).

AKR1C3 (Aldo-keto reductase 1C3) é uma enzima envolvida na ação de regulação de pré-receptores de andrógenos na próstata e seu gene tem uma elevada expressão em câncer de próstata resistente à castração ou não, devido a sua ação catalizadora de redução de precursores androgênicos fracos em potentes andrógenos (FUNG et al., 2006; CHEN et al., 2012).

1.3.1. CRISP-3

A glicoproteína CRISP3 tem peso molecular de 28 KDa, composta de 225 aminoácidos codificada por um gene localizado no cromossomo 6 (KOSARI et al., 2002; EYNDE et al., 2011). Este pertence à uma grande família CRISP expressa nos vertebrados, insetos, plantas, fungos e leveduras (LU et al., 1993, FRITIG et al., 1998, SCHUREN et al., 1993, MIOGA et al., 1995; PATHAK et al., 2016). Nos humanos o CRISP-3 ocorre principalmente em tecidos do sistema reprodutor nos homens, como a próstata, e ainda nas glândulas salivares, pâncreas e células do sistema imune (BREED et al., 2013; GRUPP et al., 2013), e em menor quantidade no epidídimo, timo, ovários, testículos, cólon e glândulas lacrimais (KRATZCHMAR et al., 1997). Assim, o CRISP-3 supostamente está ligado ao sistema imune inato e na inflamação (GIBBS et al., 2008).

O mecanismo de funcionamento do CRISP no sistema reprodutor de mamíferos ainda não está totalmente claro, entretanto tem sido proposto papel desta glicoproteína em reações do acrossoma, na fusão entre o espermatozoide e o oócito, motilidade flagelar e imunossupressão. Devido observações da superexpressão do CRISP-3 em material de câncer de próstata pouco diferenciado, em relação ao epitélio prostático benigno, este marcador ganhou interesse diagnóstico e prognóstico para a doença maligna na glândula prostática (HOOGLAND et al., 2011). Aliado a estas observações Pathak e colaboradores (2016) concluíram associação do CRISP-3 em câncer prostático com células invasivas e/ou metástase e possibilidade de recorrência da doença após identificada e tratada. Outros estudos também encontraram superexpressão do CRISP3 associado com o aumentado risco de recorrência (BJARTELL et al., 2007), fenótipo tumoral desfavorável, câncer prostático resistente à castração e metástase (BERJAL et al., 2006).

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo geral

Investigar a presença da glicoproteína CRISP-3 em espécimes de tecido prostático parafinizados e correlacionar os parâmetros prognósticos pré e pós tratamento do câncer de próstata a fim de identificar cânceres desta glândula que possam ser submetidos a uma vigilância ativa.

2.2.Objetivos específicos

2.2.1. Classificar tecidos prostáticos obtidos de diferentes pacientes quanto ao grau de agressividade e classificação histológica;

2.2.2. Determinar a presença da proteína CRISP-3 em tecidos tumorais por imunohistoquímica;

2.2.3. Classificar o tipo de tumor de acordo com o nível de expressão da glicoproteína em cada amostra;

2.2.4. Correlacionar o índice de expressão de CRISP-3 com os valores pré-operatórios de PSA;

2.2.5. Correlacionar o índice de expressão de CRISP-3 com o *score* de Gleason;

2.2.6. Associar a expressão do CRISP-3 com invasão da vesícula seminal;

2.2.7. Associar a expressão de CRISP-3 com a recorrência bioquímica;

2.2.8. Avaliar o papel do biomarcador CRISP-3 como fator prognóstico para o câncer de próstata.

3. METODOLOGIA

3.1. Seleção dos casos

Foram escolhidos 27 blocos de parafina contendo fragmentos de tecido prostático, anteriormente diagnosticados como adenocarcinoma prostático dos arquivos do laboratório de anatomia patológica e citopatologia, do Centro de Prevenção de Jataí, do período de 2009 a 2013. O protocolo experimental desenvolvido no presente trabalho foi submetido e aprovado pelo comitê de ética de pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Federal de Goiás, parecer nº 1.500.280, participantes da pesquisa assinaram o Termo de Compromisso Livre e Esclarecido (ANEXO 1).

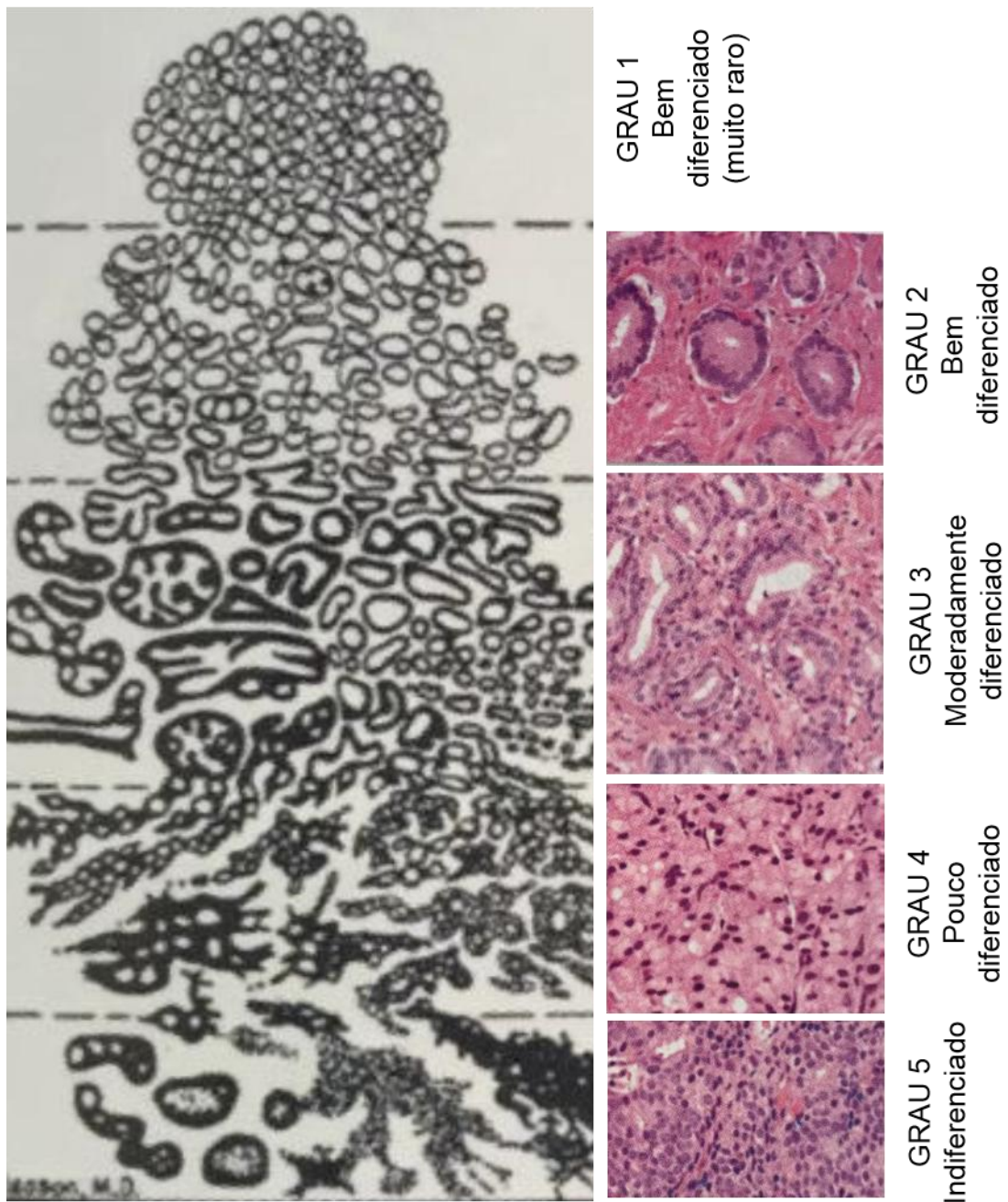
3.2. Processamento histopatológico

O processamento histológico do material seguiu orientações de Michalany (1980). As peças cirúrgicas constituídas pela próstata, vesículas seminais e linfonodos obturatórios direito e esquerdo foram recebidos fixados em formol a 10%. Em seguida foi realizado o exame macroscópico com medida, pesagem e fatiamento com navalha Leika descartável em espessura de 4 a 5 mm. Os fragmentos foram acondicionadas em cassetes para o processamento e incubadas em formol 10% por mais 12 horas. Posteriormente passaram por uma hora em cada bateria de soluções alcoólicas em concentrações graduais e crescentes a 60%, 80% e 100% para uma desidratação homogeneia e assim evitar danos na estrutura tecidual. A fase seguinte da diafanização ou clareamento o material passou por duas cubas consecutivas de xilol permanecendo uma hora em cada cuba e em seguida duas estufas consecutivas de parafina líquida a 56° C para impregnação também por uma hora em cada uma. Então cada fragmento do tecido foi transferida para um molde contendo parafina líquida a 60° C para a inclusão. Em poucos minutos a parafina endureceu e obteve-se o bloco de parafina contendo cada fragmento de tecido em seu interior. De todos os blocos foram obtidos cortes com 4 micrometros de espessura em micrótomo American Optical 820 e navalha Leika descartável. Estes foram transferidos com pinça elástica para o banho maria com água destilada a 50° C e coletados em lâminas de vidro para microscopia. As lâminas foram então colocadas em berço tipo mola em aço inox e levadas a estufa à temperatura de 60° C para

desparafinização onde permaneceram por 30 minutos. Posteriormente os berços com as lâminas foram transferidos para a bateria de coloração na seguinte sequência: 2 cubas de Xilol por 5 minutos cada consecutivas, álcool 90%, 80% e 70% (um minuto cada), água corrente por cinco minutos e hematoxilina de harris por cinco minutos, água corrente por 5 minutos, álcool 70% por um minuto, eosina amarelada por três minutos, seguido de banhos em álcool 70%, 80% e 99,4% e dois xilol e montagem das lâminas com Entellan e lamínulas 24x40mm.

As lâminas foram examinadas por médico patologista em microscópico Olympus Cx21 em aumentos de 40x, 200x e 400x, confirmando a hipótese clínica de acordo com os achados histopatológicos. Para todos os tumores avaliou-se o comprometimento das margens cirúrgicas, das vesículas seminais e dos linfonodos obturatórios, o *score* de Gleason de acordo com os critérios apresentados na Figura 4 e o estadiamento patológico segundo parâmetros mostrados na Tabela 1.

ADENOCARCINOMA PROSTÁTICO



SCORE DE GLEASON = GRAU PRIMÁRIO + GRAU SECUNDÁRIO

FIGURA 4 - Esquema representativo da análise de corte histológico de glândula prostática de acordo com o score de Gleason. Coloração hematoxiliana eosina, aumento 200x. FONTE: Adaptado de KUMAR, 2010.

Designação TNM	Achados Anatômicos
Extensão do Tumor Primário (T)	
T1 LESÃO CLINICAMENTE INAPARENTE (POR PALPAÇÃO/ ESTUDOS DE IMAGEM)	
T1a	Envolvimento menor 5% de tecido ressecado
T1b	Envolvimento maior 5% de tecido ressecado
T1c	Carcinoma presente na biópsia de agulha (após PSA elevado)
T2 CÂNCER PALPÁVEL OU VISÍVEL CONFINADO À PROSTÁTA	
T2a	Envolvimento menor 5% de um lobo
T2b	Envolvimento maior 5% de um lobo, porém unilateral
T2c	Envolvimento dos dois lobos
T3 EXTENSÃO EXTRAPROSTÁTICA LOCAL	
T3a	Extensão extracapsular
T3b	Invasão da vesícula seminal
T4 INVASÃO DE ÓRGÃOS CONTÍGUOS E/OU ESTRUTURAS DE SUPORTE INCLUINDO COLO DA BEXIGA, RETO, ESFINCTER EXTERNO, MÚSCULOS ELEVADORES OU ASSOALHO PÉLVICO	
Estadiamento de linfonodos regionais (N)	
N0 SEM METÁSTASE EM LINFONODOS REGIONAIS	
N1 METÁSTASE EM LINFONODOS REGIONAIS	
Metástases à distância (M)	
M0 SEM METÁSTASES A DISTÂNCIA	
M1 METÁSTASES À DISTÂNCIA PRESENTES	
M1a	Metástases para linfonodos distantes
M1b	Metástases ósseas
M1c	Outros locais distantes

TABELA 1 - Estadiamento do adenocarcinoma prostático usando o sistema TNM. FONTE: KUMAR (2010).

3.3. Avaliação dos parâmetros clínicos

A avaliação dos parâmetros clínicos foi realizada pela busca no prontuário médico dos pacientes de acordo com a origem do pedido médico, obtendo-se os dados de PSA anterior à cirurgia (possivelmente obtido quando especificado na indicação clínica do paciente ou por contato com o médico assistente e/ou com o paciente), PSA no segmento ou pós-operatório e por meio da análise dos parâmetros histopatológicos da biópsia da prostatectomia radical contidos nos arquivos do Centro de Prevenção de Jataí.

3.4. Imunohistoquímica

A preparação do material e produção das lâminas para análise imunohistoquímica foram realizadas no Laboratório do Instituto Goiano de Oncologia e Hematologia (INGOH).

3.4.1. Colheita e preparação do material

Toda preparação do material para imunohistoquímica seguiu as recomendações do fabricante do Kit de coloração DAKO.

As amostras, secções de tecido fixado em formol e impregnado de parafina, tinham a espessura de no máximo 4 µm. Os cortes foram montados em lâminas de microscópio (DAKO FLEX IHC Microscope Slides (referência k8020®), utilizando o banho-maria com água destilada a uma temperatura 50°C. Além das amostras testes, foi utilizada uma amostra controle positiva que serviu para validar a reação e manter o padrão de qualidade, sendo esta submetida às mesmas condições de preparação, coloração e análise. Em seguida, as lâminas passaram pela estufa a 60°C por uma hora, para garantir a aderência dos cortes às lâminas, além de drenagem da água que se encontrava por baixo das secções.

3.4.2. Procedimento de pré-tratamento

O procedimento de pré-tratamento consistiu na recuperação antigênica induzida por calor nas amostras fixadas em formol e impregnadas de parafina.

Esta etapa foi realizada no DAKO PT Link, fazendo-se uma diluição de 1:50 (30 mL de solução EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution High pH - tampão TRIS/EDTA concentrado 50x - pH 9 em 1500 mL água destilada) em um dos tanques do PT Link. As lâminas foram colocadas no tanque, pré-aquecido (85°C) e incubadas por 20 minutos a 95°C, em seguida, após retornarem à temperatura de 85°C foram retiradas e lavadas em um tanque com EnVision™ FLEX Wash Buffer (20x) diluído em solução salina com tampão TRIS com Tween 20 de pH 7,6 por cinco minutos.

3.4.3. Procedimento de coloração

O procedimento de coloração ocorreu no DAKO Autostainer Link 48 - sistema concebido para automatizar métodos de coloração manual utilizados

na rotina da imunohistoquímica, permitindo a transferência de protocolos da bancada para as estações de trabalho.

O procedimento de coloração perpassou pelas etapas, a saber: Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Bloqueio da peroxidase endógena: utilizando-se 150µL do reagente EnVision™ FLEX Peroxidase-Blocking (referência SM 801) com incubação por 5 minutos, trata-se de uma etapa importante já que inativa peroxidase endógena no tecido/célula, que poderia reagir com o substrato interferindo na reação; Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Adição do anticorpo primário (CRISP-3) concentrado por 30 minutos; Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Polímero: 150µL em cada lâmina do reagente EnVision™ FLEX/HRP e incubado por 20 minutos (consiste em uma estrutura base de dextrona à qual foi associado um vasto número de moléculas de peroxidase (HRP) e moléculas de anticorpos secundários, utilizando-se uma química exclusiva para a reação de associação, que permite a ligação de, no máximo 100 moléculas de HRP e de até 20 moléculas de anticorpo por estrutura base); Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Substrato-cromógeno (composição: EnVision™ FLEX DAB + Chromogen - referência DM 827- e uma solução de diaminobenzidina (DAB) concentrada e EnVision™ FLEX Substrate Buffer - referência SM 803 - contendo peróxido de hidrogênio - antes da utilização, a solução EnVision™ FLEX DAB + Chromogen foi diluída em tampão EnVision™ FLEX Substrate Buffer (uma gota de DM 827 para cada mL de SM 803)), utilizou-se 300µL de cromógeno e incubou-se por 5 minutos assim o sistema de substrato produziu um produto final castanho vivo no local do antígeno alvo; Lavagem: água destilada; Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Contracoloração: utilizou-se 150µL do reagente EnVision™ FLEX Hematoxylin (Link) e incubou-se por cinco minutos (esse reagente de coloração histológica é adequado para visualização dos núcleos em secções de tecido e as preparações de células, este produto não contém álcool e é adequado para utilização com todos os cromógenos utilizados na imunohistoquímica); Lavagem: água destilada; Lavagem: com tampão EnVision™ FLEX Wash Buffer diluído 1:20; Lavagem: água destilada.

3.4.4. Análise das lâminas

As lâminas foram avaliadas por médico patologista em microscópio Olympus Cx21 com aumentos de 40x, 200x e 400x. A coloração de CRISP-3 foi avaliada em dois parâmetros: intensidade da coloração (0, 1+, 2+ e 3+) e a fração de células tumorais para cada região do tecido neoplásico ($\geq 70\%$, $>30\%$ mas $\leq 70\%$ e $\leq 30\%$) e pelo sistema de *scoring* gerando os resultados: negativo para ausência de coloração; fraco para intensidade de 1+ em $\leq$ a 70% das células tumorais ou intensidade de 2+ $\leq$ a 30% das células tumorais; moderada para intensidade de 1+ em mais de 70% das células tumorais ou intensidade de 2+ em mais de 30% mas $\leq$ a 70% das células tumorais ou intensidade de 3+ em $\leq$ a 30% das células tumorais e forte com intensidade de 2+ em mais de 70% das células tumorais ou intensidade de 3+ em mais de 30% das células.

3.5. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com o programa *GraphPad Prism* versão 5.0. Foi adotado o Teste Qui-quadrado de Pearson para comparar a expressão de CRISP 3 nos diferentes grupos amostrais e correlacionar esta expressão com parâmetros clínico-patológicos. Para determinar possíveis associações entre níveis de expressão de CRISP-3 e PSA nas mesmas amostras, e determinar a concordância dos resultados obtidos por diferentes metodologias foi utilizado *One Way ANOVA*, sendo considerado estatisticamente significativos valores de $p < 0,05$.

4.RESULTADOS

No período de estudo, entre 2009 e 2013, foram realizadas 308 biópsias prostáticas, sendo 27 resultantes de prostatectomia radical, das quais 25 (8,1%) foram analisadas por imunohistoquímica para detectar a expressão de CRISP-3. Os indivíduos submetidos à prostatectomia radical e que tiveram amostras analisadas tinham entre 54 e 80 anos de idade, com média de 65,8 ($\pm 6,5$) anos. Os valores bioquímicos de PSA pré-tratamento foram predominantes entre quatro e 10 ng/mL, seguidos daqueles com dosagens de 10 a 20 ng/mL de sangue, sem diferença estatisticamente significativa com relação ao *score* de Gleason. Considerando-se o *cutt-off* para recorrência da doença, a maioria dos pacientes tiveram valores de PSA abaixo dos limites de referência com ausência de diferença estatística, conforme apresentado na Tabela 2. O seguimento pós-tratamento variou entre dois e 82 meses com média de 30 meses.

TABELA 2 - Parâmetros clínico epidemiológicos dos indivíduos submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013 e analisados neste estudo.

Parâmetros clínico epidemiológicos	N* (%)
Idade (anos)	
<60	5 (20)
61 a 70	15 (60)
>70	5 (20)
PSA pré-tratamento em ng/mL **	
<4	3 (15)
4 a 10	9 (45)
11 a 20	6 (30)
>20	2 (10)
PSA pós-tratamento em ng/mL ***	
< 0,2	15 (68)
≥ 0,2	7 (32)

*Número

**Refere-se a 20 pacientes

***Refere-se a 22 pacientes

Dos 25 cortes histológicos analisados, provenientes de prostatectomia radical, todos apresentaram expressão da proteína CRISP-3 determinada por imunohistoquímica, sendo 14 (56%) de marcação forte, 4 (16%) moderado e 7

(28%) fraco. Imagens representativas da neoplasia corada com hematoxilina e eosina e o padrão de avaliação imunohistoquímico para CRISP-3, estão apresentadas na Figura 5.

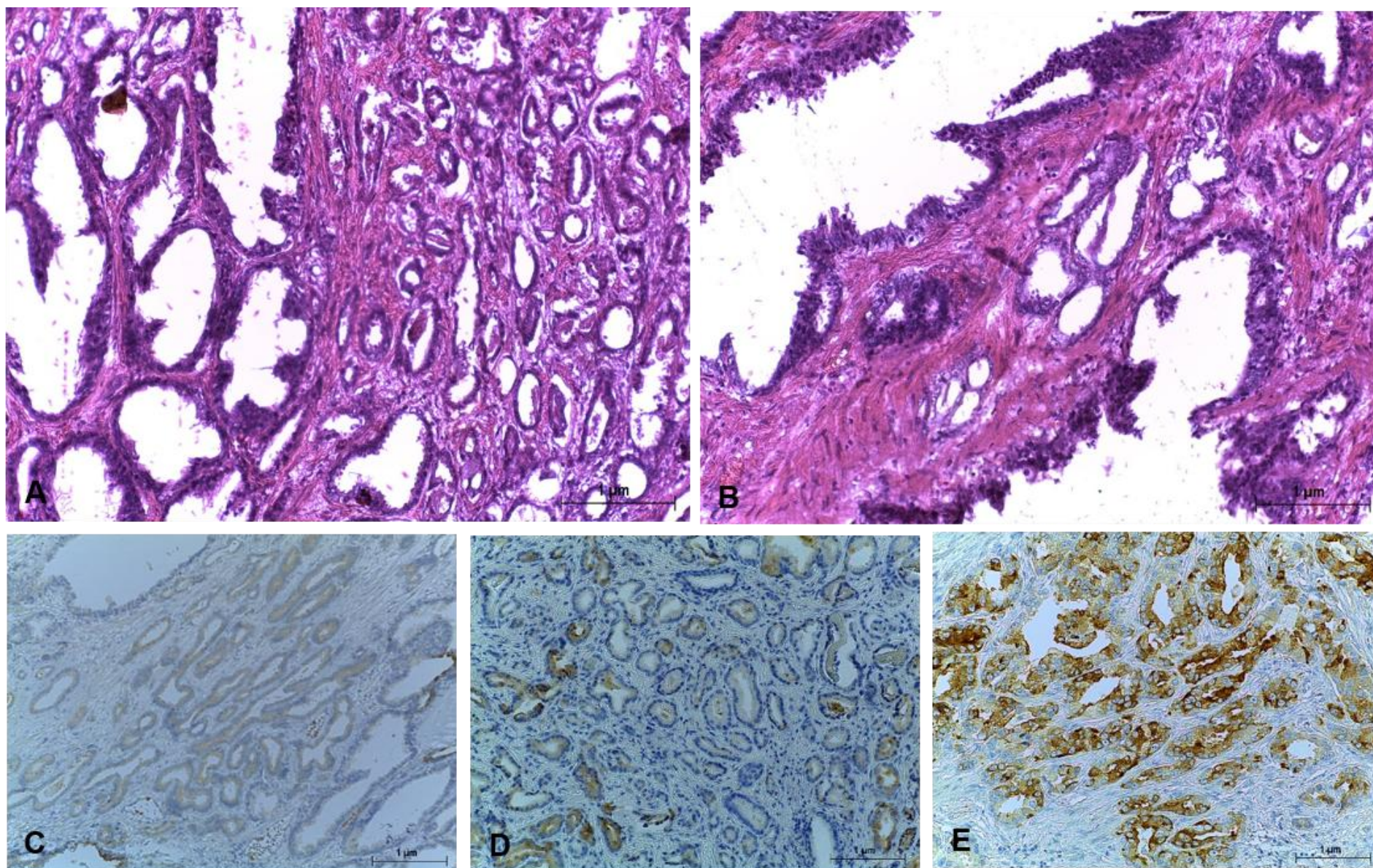


FIGURA 5 – Fotomicrografias de lâminas histopatológicas de neoplasia prostática ao aumento de 200x, câmera Leica®, modelo DS750. (A e B) Coloração com hematoxilina e eosina. (C) Coloração imunohistoquímica para CRISP-3 fraco. (D) Coloração imunohistoquímica para CRISP-3 moderado. (E) Coloração imunohistoquímica para CRISP-3 forte.

A distribuição dos valores de PSA de acordo com a reação imunohistológica como fraca, moderada e forte está apresentada na Figura 6. Não houve correlação entre a intensidade da reação e as dosagens bioquímicas de PSA pré e pós tratamento, sendo $R=0,09$, $p=0,4593$ e $p=0,4072$.

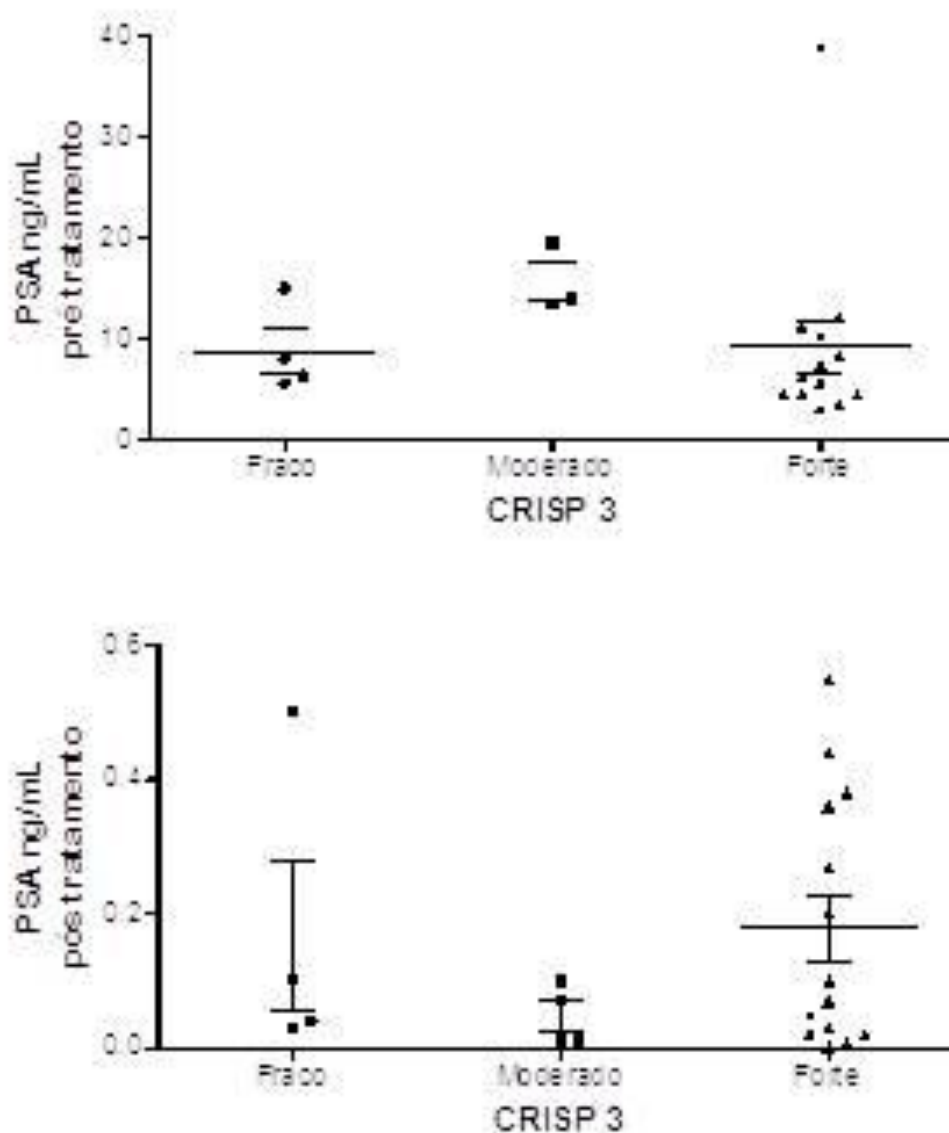


FIGURA 6 - Distribuição dos valores de PSA de acordo com a fase de tratamento em relação à avaliação do biomarcador CRISP-3 à imunohistoquímica, dos pacientes submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013. Análise estatística por *GraphPad Prism* versão 5.0 com *One Way ANOVA*, considerado estatisticamente significativo quando $p<0,05$.

Histologicamente a maioria 24 (24/25, 96%) foram classificados como adenocarcinoma acinar usual, enquanto apenas um era mucoso. Apenas oito

(8/25, 32%) dos pacientes analisados tiveram acometimento da vesícula seminal e 12 (12/25, 48%) apresentaram margem cirúrgica positiva. Entre os prostatectomizados 13 (13/25, 52%) apresentaram score de Gleason igual a sete. Relativos a essa graduação, sete (7/13, 53,85%) pacientes eram resultantes do somatório das graduações quatro mais três. No estadiamento do adenocarcinoma prostático, usando o sistema TNM, 15 (15/25, 60%) pacientes tinham extensão do tumor primário pT2, de acordo com o demonstrado na Tabela 3. Em todas as análises não se observou diferença estatística significativa.

TABELA 3 - Parâmetros clínico patológicos dos casos analisados histologicamente e de acordo com a presença do biomarcador CRISP-3 à imunohistoquímica, submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013.

Parâmetros clínico patológicos	N* (%)	Resultado da imunohistoquímica para CRISP-3			p
		Fraco (%)	Moderado (%)	Forte (%)	
Avaliação Histológica					
Acinar usual	24 (96)	6 (25)	4 (16,66)	14 (58,33)	p=0,7471
Mucoso	1 (4)	1 (100)	0	0	
Acometimento da vesícula seminal					
Presente	8 (32)	2 (25)	2 (25)	4 (50)	p=0,3128
Ausente	17 (68)	5 (29,41)	2 (11,76)	10 (58,83)	
Acometimento da margem cirúrgica					
Presente	12 (48)	1 (8,33)	4 (33,33)	7 (58,4)	p=0,2896
Ausente	13 (52)	6 (46,2)	0	7 (53,8)	
Score de Gleason					
< 7	7 (28)	2 (28,57)	0	5 (71,43)	p=0,1297
= 7	13 (52)	3 (23,08)	3 (23,08)	7 (53,84)	
3 + 4	6 (24)	1 (16,6)	1 (16,66)	4 (66,66)	
4 + 3	7 (28)	2 (28,57)	2 (28,57)	3 (42,86)	
>7	5 (20)	2 (40)	1 (20)	2 (40)	
Categoria pT (AJCC**)					
pT1	2 (8)	1 (50)	0	1 (50)	p=0,3852
pT2	15 (60)	4 (26,66)	2 (13,33)	9 (60)	
pT3	7 (28)	2 (28,57)	2 (28,57)	3 (42,86)	
pT4	1 (4)	0	0	1 (100)	

*Número

**AJCC: American Joint Committee on Cancer 2010

Análise estatística por *GraphPad Prism* versão 5.0 com *One Way ANOVA*, considerado estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

A análise estatística estratificando os pacientes de acordo com as três categorias do score de Gleason, excetuando-se a substratificação três mais quatro (3+4) e quatro mais três (4+3), em relação às análises imunohistoquímicas não apresentou diferença estatística significativa, com $\chi^2 = 2,484$ e $p = 0,6474$, de acordo com a Figura 7.

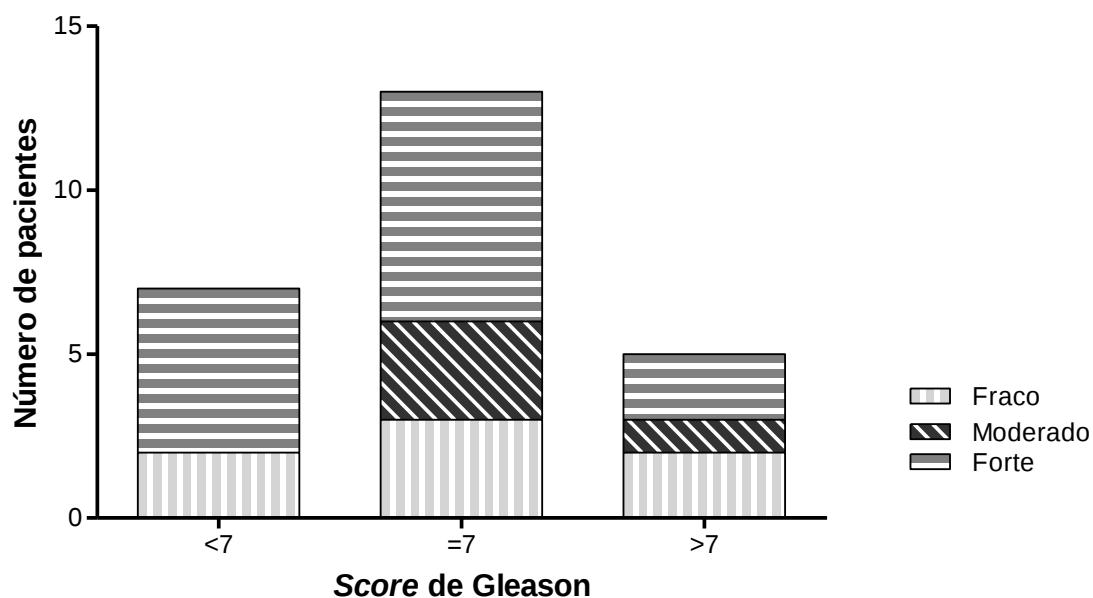


FIGURA 7 - Distribuição dos pacientes de acordo com o score de Gleason e a avaliação do biomarcador CRISP-3 à imunohistoquímica, dos pacientes submetidos à prostatectomia radical, no período de 2009 a 2013. Análise estatística por *GraphPad Prism* versão 5.0 com teste qui-quadrado de Pearson (χ^2), considerado estatisticamente significativo quando $p < 0,05$.

5.DISCUSSÃO

A marcação imunohistoquímica do biomarcador CRISP-3 em tecido prostático tem sido associada ao câncer de próstata (ASMANN et al., 2002; KOSAIR et al., 2002). Neste trabalho todas as análises foram positivas para a presença deste biomarcador, enquanto outros autores apontam positividade em cortes histológicos para CRISP-3 entre 19 e 96% em material prostático neoplásico (ERNST et al., 2002; BJARTELL et al., 2006; BJARTELL et al., 2007; DAHLMAN et al., 2011). A alta positividade observada neste trabalho não sofreu interferência da metodologia utilizada, tendo em vista, o uso de controles nas baterias de coloração e à distinção evidente da marcação nos tecidos tumorais em relação ao epitélio normal adjacente à tumoração. Neste sentido, pode-se inferir que o anticorpo utilizado neste estudo pode ter uma sensibilidade maior do que aquele utilizado em outros estudos ou que a amostra do material prostático analisada neste trabalho seja mais representativa.

A alta positividade do CRISP-3 em material prostático neoplásico à histologia reafirma a possibilidade de utilizar o CRISP-3 como importante biomarcador diagnóstico para essa complicação, embora não tenha sido possível inferir neste estudo que o grau de expressão desta molécula está diretamente relacionado à agressividade do tumor, isso possivelmente se deu devido ao pequeno número de participantes na pesquisa.

O pequeno número de participantes na pesquisa, também deve ter tido influência na ausência de correlação significativa na marcação imunohistoquímica e à aplicabilidade do CRISP-3 no diagnóstico dos cânceres indolentes. Em todo caso, não se recomenda descartar a hipótese de uso deste biomarcador nas atividades de vigilância ativa, visto que esta pode auxiliar numa melhor avaliação da agressividade do câncer de próstata no momento diagnóstico da punção por agulha e escolha do tratamento/condução mais apropriado para cada paciente individualmente (HOOGLAND et al., 2011), processo que pode evitar que os pacientes sejam submetidos a tratamentos radicais, tais como a prostatectomia radical, com consequências sérias como incontinência urinária, impotência sexual, disfunção erétil e morbidades associadas à anestesia geral e complicações do ato cirúrgico, além da

incontinência fecal, e possível mortalidade em até 1% dependendo da idade (WALTER et al., 2013). No estudo *Prostate Cancer Outcomes Study*, 8,4% de 1291 homens tiveram incontinência urinária e 59,9% tiveram impotência sexual entre 18 e 24 meses após a prostatectomia radical, mais que 40% dos homens reportaram alteração na atividade sexual, considerando este fator como moderado ou grande problema (STANFORD et al., 2000). Nos últimos anos as neoplasias prostáticas passaram a serem diagnosticadas cada vez mais precocemente devido às recomendações de rastreio da doença, como consequência, o risco de detecção de tumores latentes, que não evoluem, aumentou significativamente, ou seja, passou-se a diagnosticar e a tratar homens que não necessitariam de tratamento por apresentarem uma doença não letal, embora as complicações advindas do tratamento possam afetar de forma significativa a qualidade de vida desses homens (ORTIZ, 2009).

Os valores de PSA pré e pós tratamento não estiveram diretamente relacionados à marcação do CRISP3 nos pacientes em análise, enquanto Patkah e colaboradores (2016) apontaram capacidade do CRISP-3, no câncer de próstata, em regular a expressão, com consequente aumento, dos valores de PSA. Segundo Bawer (2000) há costume indiscriminado das dosagens séricas de PSA e *screening* como ferramenta diagnóstico para o câncer de próstata, processo que tem resultado na detecção e tratamento quase imediato daqueles paciente com níveis altos do antígeno prostático específico, enquanto as elevações de PSA no soro não são específicas do câncer de próstata o qual pode estar elevado por diversas razões que incluem prostatites e hiperplasia benigna prostática, ou seja, muitos pacientes são submetidos a tratamentos radicais sem necessidade evidente. Ou seja, o benefício de PSA no diagnóstico e tratamento de câncer de próstata em homens é questionável por alguns pesquisadores pois o uso prognóstico deste teste está associado ao aumento diagnóstico com consequente acentuação do tratamento, porém com pequenas reduções na mortalidade por câncer prostático (TIAN et al., 2014). Assim sendo, o uso de novos marcadores tumorais deve beneficiar a qualidade de vida dos pacientes portadores de alterações benignas ou insignificantes para a clínica.

6. CONCLUSÃO

A alta marcação do CRISP-3 em material prostático neoplásico, mas não em tecido normal adjacente, enfatiza a possibilidade do uso deste marcador na vigilância ativa e na ocasião do diagnóstico com o exame de biópsia por agulha, daqueles pacientes ainda sem clínica aparente, evitando que esses sejam submetidos a tratamentos radicais com inúmeras consequências graves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BREED, A.A.; GOMES, A.; ROY B.S.; MAHALE, S.D.; PATHAK, B.R. Mapping of the binding sites involved in PSP94 – CRISP3 interaction by molecular dissection of the complex. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, p. 3019-3029, 2013.

ASMANN, Y.W.; KOSARI, F.; WANG, K.; CHEVILLE, J.C.; VASMTZIS, G. Identification of differentially expressed genes in normal and malignant prostate by electronic profiling of expressed sequence tags. **Cancer Res**, v. 62, p. 3308-3314, 2002.

BAWER, M.K. Prostate-specific antigen. **Semin Surg Oncol**, v. 18, p. 3-9, 2000.

BERJAL, A.; JOHANSSON, R.; BJORK, T.; GADOLEANU, V.; LUNDWALL, A. et al. Immuno-histochemical Detection of Cysteine-Rich Secretory Protein 3 in Tissue and in Serum From Men With Cancer or Benign Enlargement of the Prostate Gland. **The Prostate**, v. 66, p. 591-603, 2006.

BJARTELL, A.; JOHANSSON, R.; BJÖRK, T.; GADALEANU, V.; LUNDWALL, A.; LILJA, H.; KJELDSSEN, L.; UDBY, L. Immunohistochemical detection of cysteine-rich secretory protein 3 in tissue and in serum from men with cancer or benign enlargement of the prostate gland. **Prostate**, v. 66, p. 591-603, 2006.

BJARTELL, A.S.; AL-AHMADIE, H.; SERIO, A.M.; EASTHAM, J.A.; EGGNER, S.E.; FINE, S.W.; UDBY, L.; GERALD, W.L.; VICKERS, A.J.; LILJA, H.; REUTER, V.E.; SCARDINO, P.T. Association of cysteine-rich secretory protein 3 and beta-microseminoprotein with outcome after radical prostatectomy. **Clin Cancer Res**, v. 13, p. 4130-4138, 2007.

BOSTWICK, D. G; CHENG, L. **Urologic Surgical Pathology**. 3 ed. Philadelphia: Elsevier, 2014.

CHEN, M.; ADENIJI, A.O.; TWEBTER, B.M.; WINKLER, J.D.; CHRISTIANSON, D.W.; PENNING, T.M. Crystal structure of AKR1C3 containing an N-(aryl)aminobenzoate inhibitor and bifunctional AKR1C3 inhibitor and androgen receptor antagonist. Therapeutic leads for castrate resistant prostate cancer. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 22, p.3492-3497, 2012.

DAHLMAN, A.; REXHEPAJ, E.; BRENNAN, D. J. et al. Evaluation of the prognostic significance of MSMB and CRISP 3 in prostate cancer using automated image analysis. **Mod Pathol**, v. 24, p. 708-719, 2011.

EPSTEIN, J.I. **O Trato urinário inferior e sistema genital masculino**. In.: Robbins e Cotran, Bases patológicas das doenças, Elsevier: Rio de Janeiro, 2016.

ERNST, T.; HERGENHAHN, M.; KENZELMANN, M.; COHEN, C.D.; BONROUHI, M.; WENINGER, A.; KLÄREN, R.; GRÖNE, E.F.; WIESEL, M.; GÜDEMANN, C.; KÜSTER, J.; SCHOTT, W.; STAEHLER, G.; KRETZLER,

M.; HOLLSTEIN, M.; GRÖNE, H.J. Decrease and gain of gene expression are equally discriminatory markers for prostate carcinoma: a gene expression analysis on total and microdissected prostate tissue. **Am J Pathol**, v. 160, p. 2169-2180, 2002.

EYNDE, A. V.; LITOVKIN, K.; BOLLEN, M. Growth inhibition properties of the pretative prostate cancer biomarkers PSP94 and CRISP3. **Asian Journal of Andrology**, v. 13, p. 205-206, 2011.

FILHO, G. B. **Bogliolo Patologia**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

FRITIG, G.; HEITZ, T.; LEGRAND, M. Antimicrobial proteins in induced plant defense. **Curr Opin Immunol**, v. 10, p.16-22, 1998.

FUNG, K.M.; SAMARA, E.N.; WONG, C.; METWALLI, A.; KRLIN, R.; BANE, B.; LIU, C.Z.; YANG, J.T.; PITHA, J.V.; CULKIN, D.J.; KROPP, B.P.; PENNING, T.M.; LIN, H.K. Increased expression of type 2 3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase/type 5 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3) and its relationship with androgen receptor in prostate carcinoma. **Endocr Relat Cancer**, v. 13, p. 169-180, 2006.

GIBBS G.M.; ROELANTS, K.; O'BRYAN, M.K. The Cap super-family: cysteine-rich secretory proteins, antigen 5, and pathogenesis-related 1 proteins-roles in reproduction, cancer, and imunne defense. **Endocr Rev**, v. 29, p. 865-897, 2008.

GRUPP, K.; KOHL S.; SIRMA, H.; SIMON, R.; STEURER, S.; BECKER, A.; ADAM, M.; IZBICKI, J.; SAUTER, G.; MINNER, S.; SCHLOMM, T.; TSOURLAKIS, C. Cysteine-rich secretory protein 3 overexpression is linked to a subset of PTEN-deleted ERG fusion-positive prostate cancers with early biochemical recurrence. **Modern Pathology**, v. 26, p. 733-742, 2013.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. Trad. MARTINS, B. A. 11ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HOOGLAND, A.M.; DAHLMAN, A.; VISSERS, K.J.; WOLTERS, T.; SCHRODEER, F.H.; ROOBOL, M.J.; BJARTEEL, A.S.; LEENDERS, G.J.L.H. Cysteine-rich secretory protein 3 and β -microseminoprotein prostate cancer needle biopsies do not have predictive value for subsequent prostatectomy outcome. **BJU Onternational**, v. 108, p. 1356-1362, 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). **Tipos de câncer: Próstata**. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/prostata+/definicao>. Acesso em 13 de setembro de 2016.

JEMAL, A.; SIEGEL, R.; WARD, E.; HAO, Y.; XU, J.; RHUN, M.L. Cancer statistics, 2009. **CA Cancer J Clin**, v.59, p. 225-249, 2009.

KOO, K.M.; SINA, A.A.; CARRASCOSA, L.G.; SHIDDIKY, M.J.; TRAU, M. eMethylsorb: rapid quantification of DNA methylation in cancer cells on screen-printed gold electrodes. **Analyst**, v. 139, p. 6178-6184, 2014.

KOO, K.M.; WEE, E.J.; TRAU, M. Colorimetric TMPRSS2-ERG Gene Fusion Detection in Prostate Cancer Urinary Samples via Recombinase Polymerase Amplification, v. 14, p. 1415-1424, 2016.

KOSAIR, F.; ASMANN, Y.M.W.; CHEVILLE, J.C.; VASMATZIS, G. Cysteine-rich secretory protein-3: a potencial biomarker for prostate cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 11, p. 1419-1426, 2002.

KRATZSCHMAR, J.; HENDLER, B.; EBERSPAECHER, U.; ROOSTERMAN, D.; DONNER, P.; SCHLEUNING W.D. The human cysteine-rich secretory protein (CRISP) family. Primary structure and tissue distribution of CRISP-3. **Eur J Biochem**, v. 236, p. 827-836, 1997.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K. et al. **Patologia - Bases patológicas das doenças**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2010.

LU, G.; VILLABA, M.; COSCIA, M.R.; KING, T.P. Sequence analysis and antigenic cross-reactivity of a venom allergen, antigen 5, from hornets, wasps, and yellow jackets. **J Immunol**, v. 150, p. 2823-2830, 1993.

MICHALANY, J. **Técnica histológica em anatomia patológica**. São Paulo, EPU, 1980, 276p.

MIOGA, T.; SCHAAFF-GERSTENSCHLAGER, I.; CHALWATZIS, N.; BAUR, A.; BOLES, E.; FOURNIER, C.; SCHMITT, S.; VELTEN, C.; WILHELM, N.; ZIMMERMANN, F.K. Sequence analysis of a 33.1 kb fragment from the left arm of *Saccharomyces cerevisiae* chromosome X, including putative proteins with leucine zippers, a fungal Zn(II)₂-Cys₆ binuclear cluster domain and a putative α 2-SBC- α 2 binding site. **Yeast**, v. 11, p. 681-689, 1995.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F.; AGUR, A. M. R. **Anatomia Orientada para a clínica**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2013.

NASSIF, A.E.; ACBC-PR, FILHO, R.T. Expressão imunohistoquímica do marcador tumoral CD34 e P27 como fator prognóstico em adenocarcinoma de próstata clinicamente localizado após prostatectomia radical. **Rev Col Bras Cir**, v. 37, 2010.

NETTER, F. H. **Atlas de Anatomia Humana**. 5 ed. Philadelphia: Elsevier, 2015.

ORTIZ, V. Disciplina de Urologia – UNIFESP. Sinopse de Urologia – Ano 13, nº 2, 2009.

PATHAK, B.R.; BREED, A.A.; APTE, S.; ACHARRYA, K.; MAHALE, S.D. Cysteine-rich secretory protein 3 plays a role in prostate cancer cell invasion and

affects expression of PSA and ANXA1. **Mol Cell Biochem**, v. 411, p. 11-21, 2016.

SARAON, P. et al. Evaluation and prognostic significance of ACAT1 as a marker of prostate cancer progression. **The Prostate**, v. 74, p. 372-380, 2014.

REIS, S.T. **Análise da expressão de MMP-2, MMP-9, MT1-MMP (MMP-14), TIMP-2, RECK, TGF-Beta e interleucina-8 em câncer de próstata**. Tese (doutorado), Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SCHUREN, F.H.; ASGEIRSDOTTIR, S.A.; KOTHE, E.M.; SCHEER, J.M.; WESSELS, J.G. The Sc7/Sc14 gene family of *Schizophyllum* commune codes for extracellular proteins specifically expressed during fruit-body formation. **J Gen Microbiol**, v. 139, p. 2083-2090, 1993.

SIEGEL, R.; NAISHADHAN, D.; JEMAL, A. Cancer statistics. **CA A Cancer J Clinicians**, v. 62, p. 10-29, 2012.

STANFORD, J.L.; FENG, Z.; HAMILTON, A.S. et al. Urinary and sexual function after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: the prostate cancer outcomes study. **JAMA**, v. 283, p. 354-360, 2000.

TIAN, Y.; ZHAO, L.; ZHANG, H.; LIU, X.; ZHAO, L.; ZHAO, X.; LI, Y.; LI, J. AKR1C3 overexpression may serve as a promising biomarker for prostate cancer progression. **Diagn Pathol**, v.9, p. 1-6, 2014.

TIAN, Y.; ZHAO, L.; ZHANG, H.; LIU, X.; ZHAO, L.; ZHAO, X.; LI, Y.; LI, J. AKR1C3 overexpression may serve as a promising biomarker for prostate cancer progression. **Diagn Pathol**, v. 9, 2014.

WALTER, L.C.; FUNG, K.Z.; KIRBY, K.A. et al. Five-year downstream outcomes following prostate-specific antigen screening in older men. **JAMA Intern Med**, v. 173, p. 866-873, 2013.

WOLTERS, T.; VISSERS, K.J.; BANGMA, C.H.; SCHRODER, F.H.; VAN LEENDERS, G.J. The value of EZH2, p27 (kip1), BMI-1 and MIB-1 on biopsy specimens with low-risk prostate cancer in selecting men significant prostate cancer of prostatectomy. **BJU Int**, v. 106, p.280-286, 2010.

YOUNG, R.H.; SRIGLEY, J.R.; AMIN, M.B.; ULBRIGHT, T.M.; CUBILA, A.L. Tumors of the prostate gland, seminal vesicles, male urethra and penis. In: Rosai, J. **Atlas of tumor pathology**, Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology, p. 274-278, 2000.

ZHANG, H. et al. Clinical significance of NUCB2 in RNA expression in prostate cancer. **J. Exp. Clin. Cancer Res**, v. 16, p. 32-56, 2013.

ZHANG, H. et al. Expression of RABEX – 5 and its clinical significance in prostate cancer. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, p. 33-31, 2014.

ANEXO 1

PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA UFG

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA GLICOPROTEINA CRISP3 COMO BIOMARCADOR NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA

Pesquisador: Wagner Gouvêa dos Santos

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 1

CAAE: 53919216.5.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
Universidade Federal de Goiás - UFG

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.500.280

Apresentação do Projeto:

O projeto apresentado trata-se de uma dissertação de Mestrado e refere-se a um estudo retrospectivo onde serão selecionados espécimes resultantes de biopsias cirúrgicas de tecido prostático com diagnóstico de câncer de próstata no período de 2009 a 2013. Essas amostras estão arquivadas em blocos de parafina e pertencem ao Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Centro de Prevenção de Jataí do município de Jataí-GO. Para este estudo, 28 amostras de tecidos parafinizados serão analisadas.

Objetivo da Pesquisa:

Investigar a presença do biomarcador CRISP3 em espécimes de tecido prostático parafinizados e correlacionar com os parâmetros prognósticos pre- tratamento estabelecidos atualmente. Identificar cânceres de próstata que possam ser submetidos a uma vigilância ativa ("tumores insignificantes"), e dessa forma evitar tratamentos desnecessários que possam diminuir a qualidade de vida dos pacientes.

Continuação do Parecer: 1500.220

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O presente estudo é retrospectivo e utilizará amostras de tecidos que foram ressectados pelo clínico responsável durante diagnóstico e se encontram parafinizadas no laboratório. Portanto, não haverá riscos inerentes das análises das amostras. Haverá análise de prontuários para a coleta de dados dos pacientes, no entanto, os pesquisadores afirmam que garantirão o sigilo dos dados pessoais dos participantes. Dessa forma, os riscos dessa pesquisa são praticamente nulos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Para o desenvolvimento do projeto em questão, serão escolhidos blocos de parafina contendo fragmentos de adenocarcinoma prostático pertencentes aos arquivos do laboratório de anatomia patológica e citopatologia, do Centro de Prevenção de Jataí, do período de 2009 a 2013. Como controles serão avaliadas glândulas normais dispostas adjacentes às glândulas tumorais. A amostra será constituída por 28 blocos de parafina contendo os fragmentos de biópsia. De cada amostra serão resgatados de prontuário ou da ficha de requisição de exame histopatológico os seguintes dados do participante: sexo, idade, raça e profissão. Os dados serão inseridos em um quadro de identificação de cada amostra para futura correlação com os resultados histopatológicos e imunohistoquímicos. Para a coleta dos dados pessoais dos participantes, bem como para a análise dos blocos de tecido parafinado, será apresentado o TCLE, o qual está adequado a pesquisa. Todos os participantes serão maiores de 18 anos.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios e indispensáveis foram apresentados.

Recomendações:

Citar no TCLE que a ligação pode ser a cobrar. Colocar campo datilográfico no TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto sou de parecer favorável a aprovação do referido projeto. SMJC

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para dezembro de 2019.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_661921.pdf	07/03/2016 21:30:27		Aceito
Outros	cadaproj.pdf	07/03/2016 21:29:35	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
Outros	certataapcrisp3.pdf	07/03/2016 21:28:49	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termocompcrisp3.pdf	07/03/2016 21:23:58	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLECRISP3.pdf	07/03/2016 21:23:09	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
Orçamento	OrcCRISP3.pdf	07/03/2016 21:21:49	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
Cronograma	CronogramaCRISP3.pdf	07/03/2016 21:20:57	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projCRISP307032016.pdf	07/03/2016 21:20:21	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
Folha de Rosto	plabrasass.pdf	07/03/2016 21:19:42	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorlab.pdf	03/03/2016 17:44:30	Wagner Gouvêa dos Santos	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 14 de Abril de 2016

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIMENTO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário(a), em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma. Mas caso aceite participar, em caso de dúvidas você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás pelos telefones (62) 3521-1215 ou contatar os pesquisadores assinalados ao final deste documento.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: “AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA GLICOPROTEINA CRISP3 COMO BIOMARCADOR NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA”

Pesquisador Responsável: prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos

Telefone para contato: (64)92574671, (64) 99885025

Pesquisadores participantes: Dra. Aparecida de Lourdes Carvalho, Dr. Sebastião Alves Pinto.

ESCLARECIMENTOS SOBRE O ESTUDO:

O câncer de próstata é o segundo mais comum entre os homens no Brasil e em valores absolutos é o sexto tipo mais comum no mundo. Enquanto a maioria dos cânceres de próstata permanece indolente, alguns são agressivos e podem levar o paciente à morte. Os métodos habituais de detecção incluem exame retal digital, dosagem do Antígeno Prostático Específico (PSA) no soro e biópsia transretal. Contudo, devido à falta de especificidade, nenhum desses métodos é capaz de discriminar entre cânceres indolentes e cânceres agressivos. Daí a necessidade de estudos que visem identificar marcadores que possam ser utilizados como fatores prognósticos adicionais. CRISP3 é uma glicoproteína de peso molecular de 28 KDa sintetizada pelas células epiteliais da próstata e secretada no sêmen. Ela é expressa em baixos níveis na próstata humana normal, contudo em câncer de próstata sua expressão é aumentada. Nesta pesquisa iremos identificar a presença do biomarcador CRISP3 em fragmentos de tecido prostático que já

foram retirados para biópsia e utilizados para confirmar o seu diagnóstico e se encontram em blocos parafinizados no laboratório. Nesse material iremos avaliar o potencial dessa proteína para servir de fator prognóstico para o câncer de próstata. Os resultados auxiliarão no melhor conhecimento da doença e como ela evolui. Como parte da pesquisa, utilizaremos os resultados dos exames solicitados pelo seu médico que constam na sua ficha de acompanhamento como valores de PSA por exemplo. Todos os dados são sigilosos e será garantido o não cruzamento de dados que levem a sua identificação pessoal. Você tem o direito de retirar o consentimento a qualquer momento do estudo. Você não terá nenhuma despesa decorrente da cooperação com a pesquisa e não haverá nenhuma forma de pagamento ou gratificação financeira pela participação na pesquisa.

Os resultados obtidos na pesquisa serão utilizados para publicações científicas visando divulgar os avanços obtidos na busca de tratamento para o câncer de próstata, sendo que será resguardada a integridade dos nomes de todos os participantes desta pesquisa. Não existe nenhum risco previsto, considerando que o material a ser utilizado (biópsia) já se encontra no laboratório e será descartado em algum momento. Você poderá ter acesso aos resultados obtidos através do médico que lhe acompanha ou com os pesquisadores participantes.

Nome do pesquisador coordenador: Wagner Gouvêa dos Santos

Assinatura do pesquisador:

Data: ____ / ____ / 20__

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO DA PESSOA NA PESQUISA

Eu, _____,
 RG nº _____ CPF nº _____ nº de prontuário _____,
 abaixo assinado, concordo em participar do estudo
 “AVALIAÇÃO DA GLICOPROTEINA CRISP3 COMO POTENCIAL
 BIOMARCADOR NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA” como
 sujeito. Declaro que fui devidamente informado e esclarecido pelo
 pesquisador _____ sobre a pesquisa

a ser desenvolvida, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/ tratamento. Autorizo a utilização de resultados laboratoriais para a pesquisa:

SIM: _____ NÃO: _____

Local: _____

Data: _____

Nome do participante ou responsável:

Assinatura do participante ou responsável:

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do paciente em participar:

Testemunhas (não ligada à equipe de pesquisadores):

Nome: _____

Assinatura: _____

Nome: _____

Assinatura: _____