

Saulo da Cunha Recuero

**A expressão dos genes das fosfolipases A2 como
marcador diagnóstico e prognóstico no câncer de próstata**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção de título
de Doutor em Ciências

Programa de Urologia

Orientadora: Profa. Dra. Katia Ramos Moreira Leite

**São Paulo
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Recuero, Saulo da Cunha

A expressão dos genes das fosfolipases A2 como
marcador diagnóstico e prognóstico no câncer de
próstata / Saulo da Cunha Recuero. -- São Paulo,
2021.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Urologia.

Orientadora: Katia Ramos Moreira Leite.

Descritores: 1.Recorrência bioquímica
2.Biomarcadores 3.Neoplasias da Próstata
4.Prognóstico 5.Fosfolipase 6.Reação em cadeia da
polimerase via transcriptase reversa/métodos

USP/FM/DBD-159/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

"A Deus em primeiro lugar pelo amor incondicional, aos meus pais pelo exemplo de amor, cuidado e apoio e a minha amada esposa pelo amor e o carinho eterno."

Agradecimentos

Agradeço inicialmente a Deus, pela proteção e por iluminar cada passo do caminho percorrido nestes anos.

A Dra. Katia Ramos Moreira Leite, por me aceitar, um quase estranho, na Universidade de São Paulo, para orientar a minha tese de Doutorado. Agradeço a paciência, o grande apoio científico, as inúmeras horas de discussão e da formulação desta tese e pela oportunidade única de trabalhar ao seu lado. Tenho orgulho de ter sido teu orientando.

Ao Dr. José Pontes Junior, meu preceptor da residência médica no Hospital Brigadeiro em São Paulo, ao qual não consigo expressar tamanha gratidão por acreditar em mim e possibilitar a oportunidade de alcançar este sonho que é o Doutorado. Você possibilitou a abertura desta “janela”.

A Dra. Sabrina Reis pela parceria de todas as horas, pela paciência e apoio em inúmeros momentos desta tese ajudando a destrinchar a “salada” de informações.

A Dra. Nayara Viana e a Me. Vanessa Guimarães, pela grande amizade e pelas horas de bancada nas avaliações e no auxílio das análises. Sem vocês eu jamais conseguiria finalizar este trabalho. A Keith Takano pela parceria e pela grande ajuda no início da tese. Ao amigo Me. Ruan Pimenta, pela grande amizade e apoio em inúmeros momentos da elaboração da tese. O incentivo de vocês foi um dos pilares nesta conquista.

Aos amigos do LIM-55, Iran Silva pela genialidade e por estar sempre presente para qualquer auxílio, Juliana Camargo, Denis Moraes, Isis Paloppi, Gabriela Amaral, Gabriel dos Santos (ovelha), Dr. Nelson Dip, Dr. Rubens Park, Dr. Paulo Afonso e Dr. Victor Srougi que durante a elaboração da tese me auxiliaram de alguma forma, com apoio, opiniões e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Miguel Srougi, professor Titular da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por disponibilizar os dados dos seus pacientes, o seu maior bem, para auxílio desta tese, assim como o apoio incondicional de sua secretária Gislene.

Ao Dr. Alberto Azoubel Antunes, pelo apoio e por conduzir de forma efetiva o excelente programa de pós-graduação da Urologia.

A todos os funcionários da pós-graduação, em especial a Elisa Cruz, por me apoiar nos momentos iniciais desta caminhada assim como da secretária Tereza sempre dispostas e me ajudar.

A equipe do Genoa coordenada pela Dra. Katia Ramos Moreira Leite que me auxiliou na confecção de materiais importantes para a pesquisa.

Ao grupo de estatísticos com a coordenação do senhor Alex Jones Cassenote pela grande ajuda na elaboração dos dados.

Ao Instituto de Psiquiatria através do laboratório de Neurociências – LIM27 pelo apoio e fornecimento de material para esta pesquisa, principalmente pela ajuda e extenso conhecimento no assunto da Dra. Leda Talib e ao Dr. Wagner Gattaz.

Ao Prof. Dr. William Nahas, professor Titular da Disciplina de Urologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, responsável pela coordenação do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP).

A todos os meus amigos e colegas urologistas de São Paulo, da Prevent Senior, do Hospital Brigadeiro, aos quais devo muito da minha formação como médico urologista e minha qualificação profissional.

Aos meus pais, Carlos Leonardo Coelho Recuero e Lyl Rejane da Cunha Recuero por me mostrarem os princípios éticos, do amor e dos estudos durante toda a minha vida e que me inspiraram no meio acadêmico.

A minha esposa Amanda Medeiros Recuero pelo amor verdadeiro, pelas palavras de apoio e conforto em todos os momentos deste longo caminho que trilhamos juntos, teu amor só me fortalece.

Aos meus irmãos Raquel da Cunha Recuero, Lucas da Cunha Recuero, Rebeca da Cunha Recuero e Tomás da Cunha Recuero pelo grande amor, apoio, carinho e sinônimo de amizade e família. Tenho orgulho de ser irmão de todos vocês.

Agradeço também aos meus avós paternos José Recuero e Maria Ricardina Recuero e avós maternos José Francisco da Cunha e Lair Monteiro da Cunha, vocês foram e são exemplos para todos os seus netos.

E por fim, aos pacientes que aceitaram a fazer parte da propagação de conhecimento e engrandecimento da saúde do Brasil.

Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

1. Introdução	2
1.1 Câncer de próstata.....	2
1.2 Cascata do Ácido araquidônico e a via da Cicloxigenase (COX) e da Lipoxigenase (LOX)	8
1.3 Fosfolipase A2 (PLA₂).....	11
1.3.1 Famílias das Fosfolipase.....	12
1.3.2 Fosfolipase A2 (PLA ₂) e o Câncer	15
1.3.3 Fosfolipase A2 (PLA ₂) e o Câncer de Próstata	17
2. Objetivos	26
2.1 Objetivo Primário	26
2.2 Objetivo Secundário	26
3. Materiais e métodos	28
3.1 Casuística, critérios de inclusão e exclusão.....	28
3.2 Análise da expressão das PLA₂ nos controles	29
3.3 Definição dos valores prognósticos avaliados	29
3.4 Ética.....	30
3.5 Processamento das Amostras.....	30
3.5.1 Isolamento do RNA e do cDNA.....	30
3.5.2 Transcrição reversa (RT)	31
3.5.3 Análise de expressão das PLA ₂	32
3.6 Análise Estatística	33
4. Resultados	36
4.1 Perfil sociodemográfico e clínico dos indivíduos	36
4.2 Expressão das fosfolipases A₂ no câncer de próstata	37
4.3 Fatores prognósticos associados a expressão da PLA₂	40
4.4 Avaliação da expressão das PLA₂ em relação a sobrevida global, livre de recidiva bioquímica e livre de metástases.	47
5. Discussão.....	54
6. Conclusão	65
7. Anexos.....	67
8. Bibliografia	71
9. Apresentação em Congressos	87

Lista de abreviaturas

CaP - Câncer de Próstata

INCA - Instituto Nacional do Câncer

PSA - Antígeno prostático específico

EAU - Associação Europeia de Urologia

PCA3 - Antígeno prostático 3

RNA - Ácido Ribonucleico

RNA_m - Ácido Ribonucleico mensageiro

PHI - Prostate Health Index

ISUP - International Society of Urological Pathology

WHO - World Health Organization

USTR - Ultrassom transretal

RNM - Ressonância nuclear magnética

US - Ultrassonografia / Ultrassom

PI-RADS - Prostate Imaging – Reporting and Data System

PR - Prostatovesiculectomia Radical

RT - Radioterapia

TC - Tomografia computadorizada

EUA - Estados Unidos da América

RB - Recidiva bioquímica

RC - Recidiva clínica

PLA₂- Fosfolipase A2

COX - Cicloxigenase

COX-1 - Cicloxigenase 1

COX-2 - Cicloxigenase 2

LOX - Lipoxigenase

PGE₂ - Prostaglandinas E₂

AA - Ácido Araquidônico

IHQ - Imuno-histoquímica

AINES - Anti-inflamatórios não-esteroides

ANX2 - Anexina A2

sPLA₂ - Fosfolipases A2 secretora

cPLA₂ - Fosfolipase A2 citoplasmática

iPLA₂ - Fosfolipase A2 independete de cálcio

PAF-AH - fator de ativação plaquetário Acetil-hidrolase

Lp-PLA₂ - Fosfolipase associada a lipoproteínas

LPLA₂ - Fosfolipase lisossômica

AdPLA - Fosfolipase adipose específica

kDa - Kilo dalton

JmjC - Jumonji C

ATP - Adenosina trifosfato

PAF - Fator de ativação plaquetária

LDL - Lipoproteína de baix densidade

HDL - Lipoproteína de alta densidade

AG - Ácidos Graxos

NF-kB - Fator nuclear Kappa B

NIP - neoplasia intraepitelial prostática

qRT-PCR - Reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa

ZC - Zona central

ZP - Zona periférica

Fr+ - Fragmentos positivos

RTUp - Ressecção endoscópica da próstata

cDNA - DNA complementar

UCNPs - nanopartículas de conversão ascendente

DPOC - doença pulmonar obstrutiva crônica

Lista de Figuras

Figura 1: (A) Estimativa mundial; (B) Estimativa Brasileira para o CaP em 2020. Fonte: Globocan (https://gco.iarc.fr/today/home)	2
Figura 2: Nova graduação do carcinoma de próstata segundo a ISUP/WHO.	4
Figura 3: Classificação de risco do CaP segundo Sanda et al. (25).....	5
Figura 4: Ação da fosfolipase A2 sobre os fosfolipídeos de membrana desencadeando a cascata da inflamação através da formação do AA e do ciclo da COX até a formação das prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina e do ciclo das LOX (adaptado de Robbins Basic Pathology 10th edition) (64).....	10
Figura 5: Diferentes mecanismos de ação da PLA ₂ relacionadas ao desenvolvimento e progressão de neoplasias através de sua ação como ligante na sinalização mediada por receptores e sua ação enzimática no metabolismo lipídico.	18
Figura 6: Demonstra o aumento da expressão da sPLA ₂ com aumento da produção do AA pela via transcelular com a ativação da cPLA ₂ através da disponibilização de Ca ⁺ ou pelo silenciamento da ANX2, levando ao aumento da produção de mediadores inflamatórios no CaP. (adaptado de Dong 2006) (53).....	22
Figura 7: Fluxograma de seleção das amostras desde o biorrepositório até o número final do estudo.	28
Figura 8: Expressão das fosfolipases nos controles provenientes da zona periférica (ZP) e zona central (ZC) representativos de tecido prostático benigno.	38
Figura 9: Porcentagem das amostras de CaP que apresentaram superexpressão quando comparados aos controles que consistiram em tecido prostático benigno proveniente da ZP e ZC.	39

Figura 10: Distribuição da expressão relativa das PLA ₂ no CaP de acordo com zona central e periférica.....	40
Figura 11: Distribuição da expressão relativa de PLA2G2A e PLA2G4D no CaP de acordo com nível de PSA estratificado de acordo com o tipo de controle.....	41
Figura 12: Distribuição da expressão relativa de PLA2G4C e PLA2G16 no CaP de acordo com porcentagem de fragmentos de biópsia positivos estratificada segundo tipo de controle.....	42
Figura 13: Distribuição da expressão relativa de PLA2G2D no CaP de acordo com a classificação ISUP estratificada segundo tipo de controle.....	43
Figura 14: Distribuição da expressão relativa de PLA2G4A no CaP de acordo com o estadiamento patológico estratificada segundo tipo de controle.....	44
Figura 15: Distribuição da expressão relativa de PLA2G16 e PLA2G1B no CaP de acordo com a presença de linfonodos positivos estratificada segundo tipo de controle.	46
Figura 16: Função de sobrevida livre de recidiva bioquímica bruta e ajustada de PLA2G4B no CaP ajustado para características clínicas e patológicas	52

Lista de Tabelas

Tabela 1: Grupos de risco para recorrência conforme Critérios de D'Amico.	5
Tabela 2: Probabilidade de CaP em relação ao escore de PI-RADSV2 (31)	6
Tabela 3: Tipos de PLA ₂ , grupos, nomenclatura e distribuição nos seres humanos (73).	12
Tabela 4: Principais cânceres nos quais ocorre o aumento da expressão das fosfolipases no ser humano (adaptado de Dennis et al.) (74).	16
Tabela 5: Primers de fosfolipases utilizadas no estudo para avaliar a expressão dos RNAs pelo método de qRT-PCR.	32
Tabela 6: Estatísticas descritivas dos doentes avaliados incluindo medidas de tendência central e de dispersão, frequências absoluta e relativa.	36
Tabela 7: Graduação ISUP na biópsia e no espécime cirúrgico.	37
Tabela 8: Expressão das fosfolipases nos indivíduos controle para a zona periférica (ZP) e zona central (ZC) da próstata benigna incluindo mediana, intervalo interquartil e valor de p.	38
Tabela 9: Comparação da expressão das PLA ₂ no CaP utilizando os dois controles.	39
Tabela 10: Distribuição da expressão das PLA ₂ no CaP de acordo com nível de PSA estratificado segundo tipo de controle.	41
Tabela 11: Distribuição da expressão das PLA ₂ no CaP de acordo com a porcentagem de fragmentos de biópsia positivos estratificada segundo tipo de controle.	42
Tabela 12: Distribuição da expressão das PLA ₂ no CaP de acordo com a classificação ISUP estratificada segundo tipo de controle.	43

Tabela 13: Distribuição da expressão das PLA ₂ no CaP de acordo com o estadiamento patológico estratificada segundo tipo de controle.....	44
Tabela 14: Distribuição da expressão das PLA ₂ no CaP de acordo com o volume tumoral na peça cirúrgica estratificada segundo tipo de controle.	45
Tabela 15: Distribuição da expressão das PLA ₂ no CaP de acordo com o status da margem cirúrgica estratificada segundo tipo de controle.....	45
Tabela 16: Estimativas de sobrevida global segundo expressão das PLA ₂ incluindo erro padrão e intervalo de confiança de 95% e nível descritivo.....	47
Tabela 17: Estimativas de sobrevida livre de recidiva bioquímica segundo expressão das PLA ₂ incluindo erro padrão e intervalo de confiança de 95% e nível descritivo.	49
Tabela 18: Efeito da expressão de PLA ₂ G4B na recidiva bioquímica incluindo estimativa de hazard ratio, erro padrão e intervalo de confiança de 95% e nível descritivo ajustado para características clínicas e patológicas.	51

Resumo

Recuero SC. *A expressão dos genes das fosfolipases A2 como marcador diagnóstico e prognóstico no câncer de próstata* [tese] São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: As vias inflamatórias estão relacionadas aos mais diversos tipos de cânceres, onde os seus mediadores desempenham um papel fundamental na sobrevivência e crescimento das células tumorais. As prostaglandinas e leucotrienos são produzidos a partir do ácido araquidônico (AA) por meio das enzimas cicloxigenases (COX) e lipoxigenases (LOX) e estão presentes em grande quantidade nos tumores. Sabe-se que os eicosanoides contribuem com a progressão do câncer de próstata (CaP), promovendo a proliferação, motilidade celular, invasão e angiogênese. Para que ocorra este processo é necessário que o AA seja hidrolisado pela Fosfolipase A2 (PLA₂). As enzimas PLA₂ são uma grande família de proteínas subdivididas em seis classes com base na sua sequência de aminoácidos cuja expressão e atividade tem sido descrita em inúmeras neoplasias. Os estudos das PLA₂ no CaP sugerem um papel dessas enzimas no seu comportamento, podendo representar um novo biomarcador. Nenhum estudo abordou de forma completa o perfil de expressão das PLA₂ no CaP correlacionando-as com os principais fatores prognósticos e com o comportamento do CaP. **Objetivo:** Avaliar a expressão das PLA₂ e identificar seu papel como marcador diagnóstico e prognóstico do CaP em espécimes de Prostatectomia Radical (PR). **Materiais e métodos:** Realizamos a análise de expressão das PLA₂ por reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qRT-PCR) em espécimes de PR de 108 pacientes. Correlacionamos os níveis de expressão com os fatores prognósticos clássicos do CaP e sobrevida livre de recidiva bioquímica e desenvolvimento de metástases. **Resultados:** Todas as PLA₂ estudadas se mostraram superexpressas no CaP em relação aos controles. A superexpressão das cPLA₂ foram relacionadas com fatores de bom prognóstico, com maior destaque para a PLA2G4B mais expressa nos pacientes que não sofreram recidiva bioquímica (p = 0,016) (HR: 0,356). PLA2G4A foi mais expressa nos pacientes com doença órgão-confinada (p = 0,036). PLA2G4C relacionou-se com menor porcentagem de fragmentos positivos da biópsia (FR+) (p = 0,039) e a PLA2G4D apresentou maior expressão em pacientes com PSA < 10 ng/mL (p = 0,010). Considerando outras classes de PLA₂, a PLA2G16 se relacionou tanto com menor FR+ (p = 0,029) como também com ausência de metástases linfonodais (p = 0,039). Das sPLA₂ a PLA1G1B associou-se a ausência metástases linfonodais (p = 0,029), a PLA2G2A se relacionou com PSA < 10 ng/mL (p = 0,046). Apenas PLA2G2D relacionou-se com pior grau de diferenciação histológica (ISUP) (p = 0,037). **Conclusão:** As PLA₂ estão superexpressas no CaP e a análise individual de diferentes PLA₂ demonstra uma relação maior com fatores prognósticos favoráveis, e maior sobrevida livre de recidiva bioquímica.

Descritores: Recorrência bioquímica; Biomarcadores; Neoplasias da Próstata; Prognóstico; Fosfolipase; Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa/métodos.

Abstract

Recuero SC. *The expression of phospholipase A2 genes as a diagnostic and prognostic marker in prostate cancer* [thesis] São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2021.

Introduction: The inflammatory pathways are related to the most diverse types of cancers, playing a fundamental role in tumor cell growth and survival. Arachidonic acids (AA) are transformed in prostaglandins and leukotrienes through the action of enzymes cyclooxygenases (COX) and lipoxygenases (LOX) and are present in large quantities in tumors. Eicosanoids are known to contribute to the progression of prostate cancer (PCa), promoting proliferation, cell motility, invasion and angiogenesis. For this process to occur, AA must be hydrolyzed by Phospholipase A2 (PLA₂). PLA₂ are a large family of enzymes divided into six classes based on the sequence of amino acids whose expression and activity has been searched in neoplasms. Characterization of PLA₂ profile in PCa are important and may reveal new diagnosis and prognosis biomarkers. No study has addressed the complete expression profile of PLA₂ in PCa correlating with the main prognostic factors and tumor behavior. **Objective:** to evaluate the expression of PLA₂ in surgical specimens of radical prostatectomy (RP), correlating with the main prognostic factors and to biochemical free and metastasis free survival rates. **Materials and method:** PLA₂ expression was searched by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) in RP specimens from 108 patients. The expression levels of PLA₂ were correlated with classical PCa prognostic factors and biochemical recurrence-free and metastasis-free survival rates. **Results:** All PLA₂ were overexpressed in the PCa comparing to the controls. Overexpression of cPLA₂ was associated with favorable prognostic factors, mainly PLA2G4B that was overexpressed in patients who did not suffer biochemical recurrence ($p = 0.010$) (HR: 0.356). PLA2G4A was overexpressed by organ-confined tumors ($p = 0.036$). PLA2G4C was related to lower percentage of positive biopsy fragments (FR+) ($p = 0.039$) and PLA2G4D was overexpressed by patients with PSA <10 ng/mL ($p = 0.010$). PLA2G16 was related to lower FR+ ($p = 0.029$) and also to lymph nodes free of tumor (LF+) ($p = 0.039$). From sPLA₂ to PLA1G1B was associated with the absence of LF+ ($p = 0.029$), PLA2G2A was associated with PSA <10 ng/mL ($p = 0.046$). PLA2G2D was associated with unfavorable ISUP histological grading ($p = 0.037$). **Conclusion:** PLA₂ are overexpressed in the PCa and are associated with favorable prognostic factors and better tumor behavior.

Descriptors: Biochemical recurrence; Biomarkers; Prostatic neoplasms; Prognosis; Phospholipase; Reverse transcriptase polymerase chain reaction/methods.

1. Introdução

1. Introdução

1.1 Câncer de próstata

O Câncer de Próstata (CaP) é o segundo câncer mais comum nos homens em todo o mundo. A *World Health Organization* através da *International Agency for Research on Cancer* estima que 1.414.259 homens foram diagnosticados com CaP no mundo em 2020, com uma mortalidade de 6,8%. Isto corresponde a cerca de 14,1% de todos os cânceres no sexo masculino conforme a figura 1 (1).

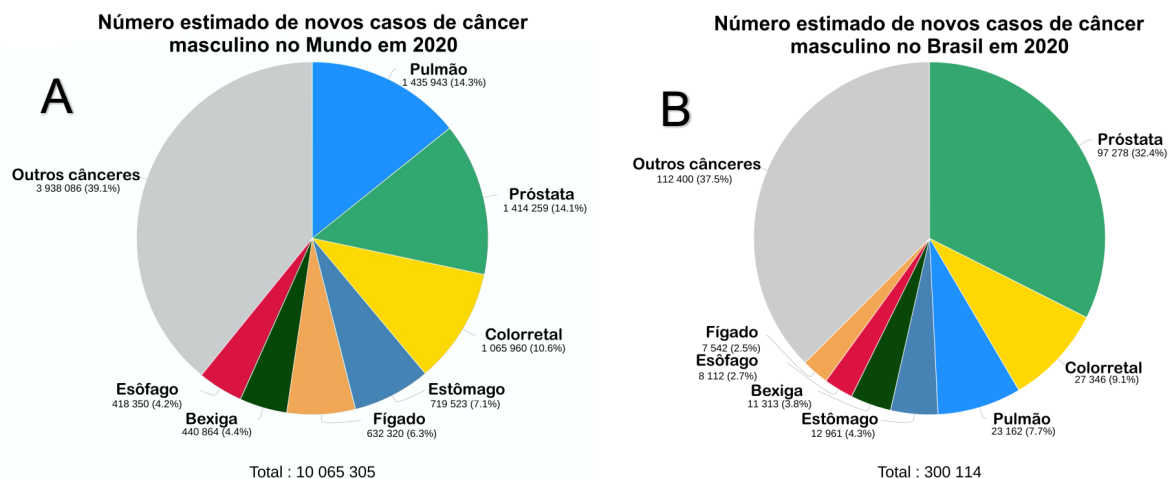


Figura 1: (A) Estimativa mundial; (B) Estimativa Brasileira para o CaP em 2020. Fonte: Globocan (<https://gco.iarc.fr/today/home>)

O CaP representa a 5ª causa de morte entre os homens, e quase 70% dos casos de CaP ocorrem nas regiões mais desenvolvidas do globo (2).

No Brasil, o CaP é a neoplasia não cutânea mais frequente na população masculina com uma incidência de 32,4% novos casos em 2020 totalizando 97.278 casos e mortalidade de 13,4%, com 93 a cada 100.000 homens diagnosticados com CaP (1). O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima que mais de 65mil homens foram diagnosticados com CaP em 2020 (29,2%) (3).

A incidência é maior em países ocidentais devido a fatores genéticos e ambientais, assim como o alto consumo de gorduras animais, também são fatores de

risco para o desenvolvimento do CaP (4, 5). A história familiar é um fator de risco importante, no entanto, os casos hereditários correspondem a apenas 15% dos casos e afeta em sua maioria os pacientes mais jovens (6, 7).

O rastreio para o CaP ganhou força nas décadas de 80 e 90 com o advento do antígeno específico prostático (PSA), que possibilitou os programas de rastreamento auxiliando no diagnóstico precoce do CaP e a melhor indicação para a biópsia. O surgimento do PSA possibilitou um maior tratamento das neoplasias órgão-confinadas e conseqüentemente uma maior taxa de cura (8, 9) e uma redução de 29% na mortalidade (10).

No entanto, o PSA é um marcador órgão e não câncer específico e pode estar alterado na hiperplasia benigna da próstata (HPB), na prostatite ou em outras afecções benignas da próstata. Apresenta uma sensibilidade para o CaP que varia de acordo com o seu valor, chegando a 72% em pacientes com $PSA \geq 4,0 \text{ ng/mL}$, em pacientes com $PSA < 4 \text{ ng/mL}$ a sensibilidade cai para aproximadamente 27% (11-13).

A biópsia de próstata por sua vez é indispensável para o diagnóstico do CaP e tem a sua indicação conforme a Associação Europeia de Urologia (EAU) quando o presente no toque um nódulo prostático ou quando o $PSA \geq 2,5 \text{ ng/mL}$ em homens acima dos 50 anos e $\geq 4,0 \text{ ng/mL}$ nos acima de 60 anos. Em pacientes com história familiar de CaP ou negros, o rastreio deve ser iniciado a partir dos 45 anos (11, 12).

Apesar da evolução dos métodos diagnósticos, muitos pacientes são submetidos a biópsias desnecessárias, com 44-74% das biópsias de próstata negativas (14-16). Este dado é relevante a medida que o procedimento apresenta riscos de complicações como hematospémia (37,4%), hematúria (14,5%), sangramento anal (2,2%), retenção urinária (0,2%) e a prostatite (1%) (17).

Outros parâmetros também podem ser utilizados para auxiliar na indicação de

biópsia da próstata como o tempo de duplicação e a medida da relação PSA livre/total que aumenta a especificidade do marcador para o diagnóstico do CaP(18).

Existem outros marcadores que são utilizados na tentativa de aumentar a especificidade no diagnóstico do CaP como o antígeno prostático 3 (PCA3) altamente expresso no CaP, detectável na urina após a massagem prostática e não aumenta com o tamanho da próstata (19). O *Prostate Health Index* (PHI) é outro método também utilizados para diminuir o número de biópsias desnecessárias (15).

O Escore de Gleason é um escore anatomopatológico usado para classificar o CaP avaliando o padrão da arquitetura glandular do tumor e a sua relação com o estroma prostático. É determinado pela soma dos dois padrões mais representativos da neoplasia onde Gleason 6 é considerado bem diferenciado e menos agressivo, já os de escore 7 a 10 são os mais indiferenciados e conseqüentemente mais agressivos. Aproximadamente 85% dos casos de CaP são Gleason 6 e 7 (20, 21). Recentemente foi referendado um novo sistema de graduação proposto pela *International Society of Urological Pathology* (ISUP) (22) e incorporado ao novo livro da Organização Mundial da Saúde (WHO). Ele divide os tumores em 5 grupos que exibem taxas de sobrevida livre de recidiva completamente distintas (Figura 2).

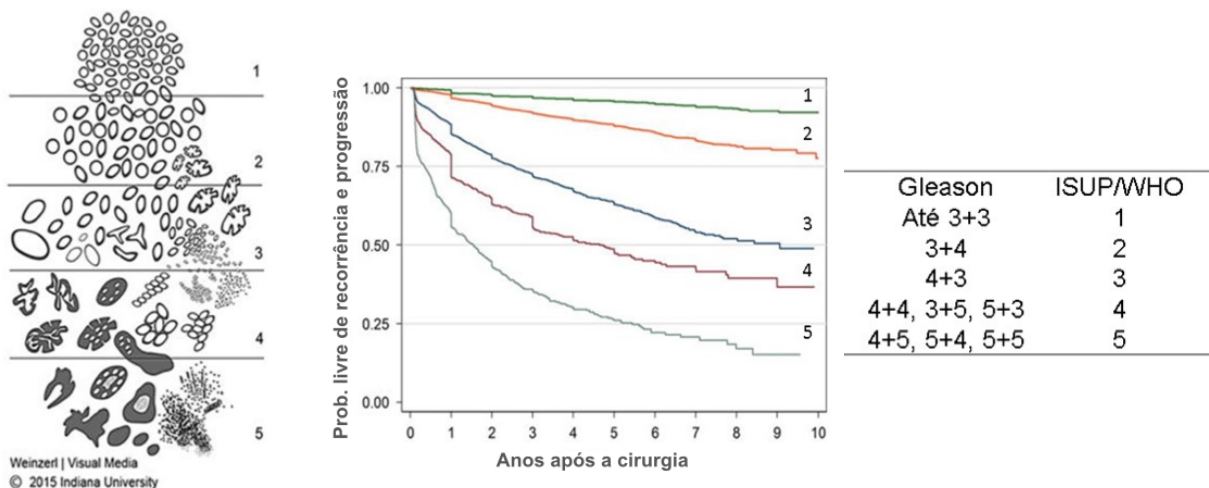


Figura 2: Nova graduação do carcinoma de próstata segundo a ISUP/WHO.

Existem sistemas de classificação em grupos de risco, sendo o mais comum o de D'Amico que considera os níveis de PSA, o escore de Gleason da biópsia e o estadiamento clínico como exposto na tabela 1 (23, 24).

Tabela 1: Grupos de risco para recorrência conforme Critérios de D'Amico.

RISCO	BAIXO	INTERMEDIÁRIO	ALTO
PSA	< 10 ng/mL	10-20 ng/mL	>20 ng/mL
GLEASON	< 7	7	8-10
ESTÁDIO CLÍNICO	cT1-2a	T2b	cT2c

Esse grupo foi melhor caracterizado por Sanda et al. como na figura 3 (25).

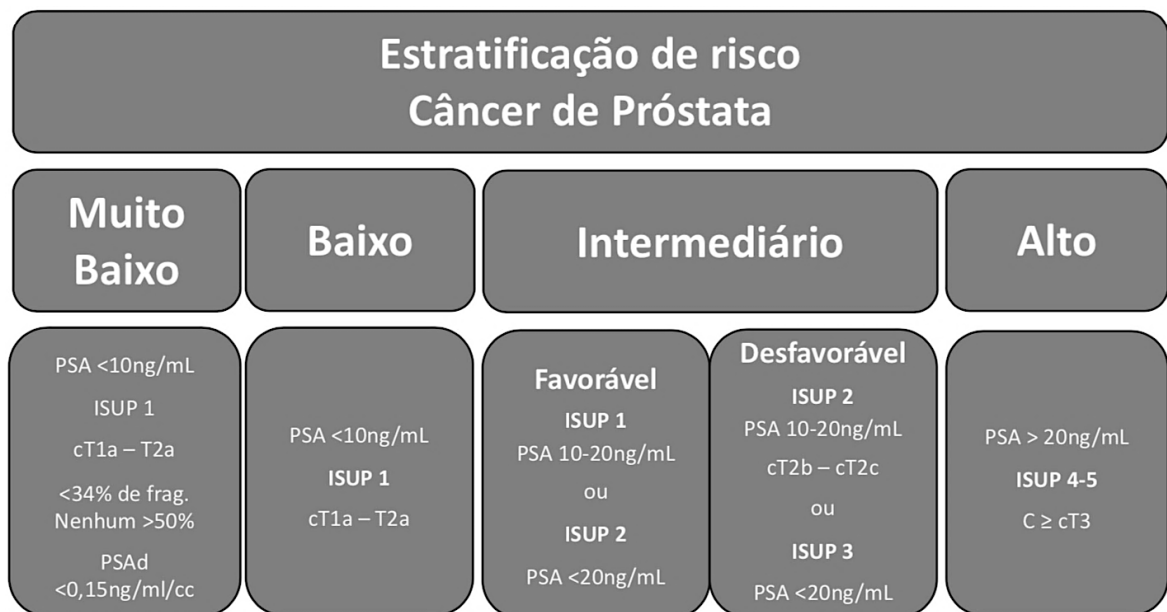


Figura 3: Classificação de risco do CaP segundo Sanda et al. (25)

A maioria das biópsias de próstata são guiadas por Ultrassom onde são retirados em média 12 a 20 fragmentos principalmente da zona periférica, local da maioria dos tumores de próstata (26). Duas abordagens são normalmente utilizadas,

a mais comum é a biópsia transretal da próstata guiada por Ultrassom Transretal (USTR), outra opção é através do acesso perineal, ambas com a mesma taxa de detecção do CaP (27) porém a abordagem perineal apresenta menores taxas de complicações como sepse e sangramento (28).

A Ressonância nuclear magnética multiparamétrica (RNM) aumentou a acurácia das biópsias e auxilia na sua indicação. Para a sua padronização, foi criado um escore chamado *Prostate Imaging – Reporting and Data System* (PI-RADS) hoje já na segunda versão (PI-RADSV2) (tabela 2) (29-31).

Tabela 2: Probabilidade de CaP em relação ao escore de PI-RADSV2 (31)

PI-RADS 1 – Muito baixo (improvável que esteja presente um câncer clinicamente significativo)
PI-RADS 2 – Baixo (a presença de câncer clinicamente significativo é improvável)
PI-RADS 3 – Intermediário (probabilidade de câncer clinicamente significativo é incerta)
PI-RADS 4 – Alto (é provável a presença de câncer clinicamente significativo)
PI-RADS 5 – Muito Alto (é altamente provável a presença de câncer clinicamente significativo)

A RNM apresenta um papel importante na avaliação do CaP, predizendo o tumor clinicamente significativo, aqueles com score de Gleason ≥ 7 , antes da biópsia conforme relatado no estudo MRI-FIRST (32) e auxilia na detecção do CaP clinicamente significativo (33), com uma concordância de 77% com o exame anatomopatológico final após a Prostatectomia Radical (PR) versus 58% da biópsia convencional (34).

Feito o diagnóstico, dependendo do potencial de agressividade da neoplasia devem-se considerar a opção de vigilância ativa, nos casos de muito baixo ou baixo risco conforme a figura 3. A RNM também apresenta papel importante no seguimento destes pacientes (30). Para os demais grupos de risco, frente a doença localizada, o tratamento curativo é empregado seja ele cirúrgico, radioterápico (RT) ou com uso de

High-intensity focused ultrasound, o HIFU (11, 12, 35).

A recidiva do CaP ocorre em 30 a 54% dos casos em período de 10 anos. Essa recorrência está diretamente relacionada ao estadiamento clínico, excisão incompleta da lesão, presença de micrometástases não visualizadas no momento do tratamento ou a uma maior agressividade do tumor (36).

O estágio clínico é um fator prognóstico para o CaP, no entanto, essa análise pré-operatória é muito limitada já que os exames de imagem subestimam a extensão extracapsular do CaP (37). Por sua vez, o estadiamento clínico e anatomopatológico do câncer de próstata (TNM), proposto pela *American Joint Committee on Cancer* (8ª edição) (38), é um importante fator prognóstico de progressão no pós-operatório, onde 92,2% dos pacientes com doença confinada à próstata (pT2) estarão livres de progressão em um período de 10 anos (39, 40).

O grau de diferenciação histológica, determinada pelo escore de Gleason é um dos fatores prognósticos mais importante. Segundo uma meta-análise realizada por Stamey et. al., em 1999, onde pacientes que foram submetidos ao tratamento local de tumores de baixo risco, apenas 2% desenvolveram metástase óssea a cada ano, enquanto que isso ocorreu em 13% dos pacientes de alto risco (41).

Outro fator prognóstico estabelecido no CaP foi o volume tumoral, no entanto pouco tem importância quando o Escore de Gleason é maior que 7, pois, independente do volume tumoral, estes apresentam maior chance de metástases (42).

A presença de margens cirúrgicas comprometidas no produto da PR ocorrem em 10 à 31% das PR e está relacionado com a progressão da doença e a recidiva bioquímica ou clínica (43).

O valor prognóstico dos critérios isolados é muito limitado, mas a análise combinada das variáveis pode contribuir significativamente com a maior acurácia na

previsão do prognóstico destes pacientes. Isto pode ser feito com a utilização de nomogramas, como do *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* de Nova York (44, 45) e o de Briganti (46).

Com a grande possibilidade de progressão do CaP para recidiva bioquímica (RB) e recidiva clínica (RC), associado a alta incidência em nosso meio, justificam os esforços no desenvolvimento de novos métodos para o rastreio, para a indicação mais precisa das biópsias e principalmente para a identificação dos pacientes com maior risco de progressão da doença e com maior benefício para o diagnóstico e tratamento precoces.

O desenvolvimento de novos marcadores biológicos diagnósticos e prognósticos, possibilitarão prever melhor a evolução clínica dos pacientes com CaP e serão fundamentais para um melhor planejamento do curso da doença, assim como para a definição da melhor terapêutica (47, 48).

1.2 Cascata do Ácido araquidônico e a via da Cicloxigenase (COX) e da Lipoxigenase (LOX)

Muitos estudos foram realizados avaliando as vias inflamatórias nos mais diversos tipos de cânceres (49-63).

Em 1988 um estudo populacional se destacou quando identificou a diminuição do risco para câncer colorretal em um grupo de pacientes que faziam uso rotineiro de ácido acetilsalicílico (AAS) um anti-inflamatório não esteroide (AINEs), quando comparado com outro grupo que não fazia uso de anti-inflamatórios. Este resultado correlacionou o processo inflamatório com o desenvolvimento dos tumores (49). Surgiram após, outros trabalhos demonstrando a mesma relação de redução da incidência de cânceres com o uso de AINEs (50, 51). Em 2014 foi realizada uma

metanálise que incluiu 24 estudos observacionais dentre eles 10 coortes e 14 estudos de caso controle, afim de esclarecer o efeito protetor da aspirina no câncer de próstata, e foi evidenciada a redução do risco geral e de câncer avançado para o grupo com o uso regular de aspirina chegando a uma redução risco relativo associado de 0,7 IC 95% (0,55 - 0,90) (63).

Hanahan et al. descrevem a relação da inflamação com o câncer, onde o processo inflamatório indutor do tumor se apresenta como um dos fatores viabilizadores para a iniciação, manutenção, crescimento e progressão das células neoplásicas, sendo relacionado diretamente a tumorigênese. A inflamação influencia o desenvolvimento tumoral através da indução da angiogênese, proliferação e invasão celular (52).

O processo inflamatório é mediado pela enzima Fosfolipase A2 (PLA₂) que realiza a hidrólise do 2º ácido graxo da camada fosfolipídica da membrana em lipofosfolipídios e ácido araquidônico (AA). Este AA é responsável pelo início da via metabólica da inflamação com a produção de prostaglandinas por meio de enzimas chamadas cicloxigenases (COX) e de leucotrienos pelas enzimas lipoxigenases (LOX) conforme demonstrado na figura 4 (53).

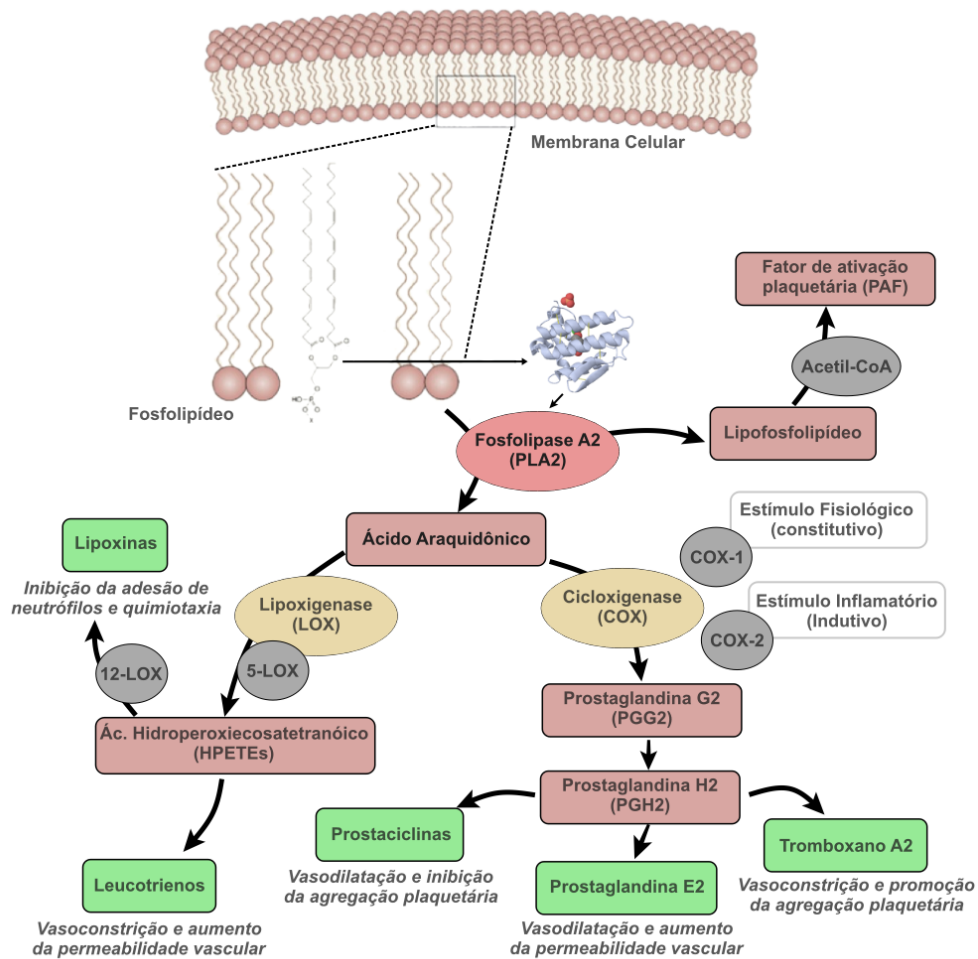


Figura 4: Ação da fosfolipase A2 sobre os fosfolípidos de membrana desencadeando a cascata da inflamação através da formação do AA e do ciclo da COX até a formação das prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina e do ciclo das LOX (adaptado de *Robbins Basic Pathology 10th edition*) (64).

Foram demonstradas em culturas celulares de CaP e em camundongos, a contribuição da cicloxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2) e a lipoxigenase (LOX) com a progressão do CaP, promovendo maior proliferação, motilidade celular, invasão e angiogênese (65). A COX-1 é amplamente distribuída nos tecidos normais e neoplásicos, já a expressão de COX-2 foi identificada por imuno-histoquímica (IHQ) em células neoplásicas de carcinoma gástrico, próstata, cólon, mama e pulmão, desempenhando um papel importante na angiogênese nestes tumores (66-68). A inibição da COX-2 e por consequente das prostaglandinas E₂ (PGE₂) através dos anti-

inflamatórios vem sendo estudada há algum tempo em neoplasias malignas, como forma de reduzir a proliferação vascular e assim o desenvolvimento tumoral (54, 69).

A relação da COX-2 com o crescimento de tumores foi demonstrada após a sua inibição por inibidores da COX-2 (iCOX-2), como o celecoxibe, em modelos animais de câncer de pulmão e cólon. Esta inibição levou a uma redução do crescimento tumoral e também do número de metástases pulmonares (66). As PGE₂ que são eicosanoides produzidas a partir da cascata do AA por meio das COX são também produzidas em grande quantidade nos tumores (66).

O iCOX-2 também foi avaliado em pacientes com CaP associado a recidiva bioquímica pós radioterapia (RT) e Prostatectomia Radical (PR). Dos 40 pacientes avaliados, 39 apresentaram uma desaceleração da taxa de elevação do PSA em 3, 6, 9, 12 e 18 meses de acompanhamento, sugerindo que os iCOX-2 podem retardar ou mesmo impedir a progressão da doença (70).

Houve uma redução significativa da viabilidade e da proliferação celular com o uso do celecoxibe em modelos de camundongos nude, com a utilização da linhagem PC3 de CaP, diminuindo o tempo para a progressão de metástases ósseas (69).

1.3 Fosfolipase A2 (PLA₂)

A Fosfolipase A2 (PLA₂) compreende uma grande família de enzimas que catalisa a hidrólise da ligação éster na posição sn-2 do fosfolípido de membrana levando a produção de ácidos graxos livres e lisofosfolídeos. Foi inicialmente descrita em veneno de cobras (71) e no líquido sinovial humano (72). Esta catálise é importante nos tecidos e também na próstata, pois através da COX e da LOX, ocorre a conversão no tecido do AA em eicosanoides, relacionados com a inflamação (60).

1.3.1 Famílias das Fosfolipase

Nos mamíferos as PLA₂ formam uma família de proteínas com aproximadamente 30 membros, subdivididos em classes com base na sua atividade enzimática, na dependência de cálcio, na sua estrutura química e especificidade do substrato (73). Hoje apresentam seis principais tipos de PLA₂ que são: secretora (sPLA₂), citosólica (cPLA₂), independente de cálcio (iPLA₂), relacionada ao fator de ativação de plaquetas acetil-hidrolase (PAF-AH), esta também conhecida como a fosfolipase associada a lipoproteínas (Lp-PLA₂), a fosfolipase lisossômica (LPLA₂) e adipose específica (AdPLA), demonstradas na tabela abaixo (74).

Tabela 3: Tipos de PLA₂, grupos, nomenclatura e distribuição nos seres humanos (73).

Tipo	Grupo	Nomenclatura	Distribuição
sPLA₂	IB	PLA2G1B	Pâncreas
	IIA	PLA2G2A	Líquido sinovial
	IID	PLA2G2D	Pâncreas/Baço
	IIE	PLA2G2E	Coração/Cérebro
	IIF	PLA2G2F	Testículo/Embrião
	III	PLA2G3	Pulmão/SNC
	V	PLA2G5	Pulmão/Coração
	X	PLA2G10	Baço/Timo
	XIIA	PLA2G12A	Cérebro
	XIIB	PLA2G12B	Fígado/Rim/Intestino
cPLA₂	IVA	PLA2G4A	Todos os tec.
	IVB	PLA2G4B	Pâncreas/Cérebro/outros
	IVC	PLA2G4C	Coração/musculatura
	IVD	PLA2G4D	Placenta
	IVE	PLA2G4E	Tireoide/Musculatura
	IVF	PLA2G4F	Tireoide
iPLA₂	VIA	PLA2G6A	Musculatura
	VIB	PLA2G6B	Coração/Fígado/Cérebro

iPLA₂	VIC	PLA2G6C	Neurônios
	VID	PLA2G6D	Tec. Adiposo
	VIE (PNPLA2)	PLA2G6E	Tec. Adiposo
	VIF	PLA2G6F	Tec. Adiposo
PAF-AH	VIIA (Lp-PLA ₂)	PLA2G7A	Sangue
	VIIIB (PAF-AH II)	PLA2G7B	
	VIIIA	PLA2G8A	
	VIIIB	PLA2G8B	
LPLA₂	XV	PLA2G15	Macrófagos
AdPLA	XVI	PLA2G16	Tec. Adiposo

A fosfolipase A2 secretora (sPLA₂) é a principal delas, situa-se no compartimento extracelular e tem um baixo peso molecular (13 – 55 kDa) e estão relacionadas com inúmeras doenças inflamatórias como a artrite reumatoide e a doença inflamatória intestinal. Elas também possuem uma função antiviral e antibacteriana contra bactérias gram-positivas e negativas, relacionando-se a defesa do hospedeiro. Outro papel das sPLA₂ é relacionado a doença aterosclerótica podendo ser um indicador de risco para doença arterial coronariana. (73-75)

A fosfolipase A2 citosólica (cPLA₂) é representada pelo grupo IV (tabela 3) e tem peso molecular elevado com mais de 85kDa. São dependentes de cálcio e estão situadas no meio intracelular, apresentam em sua maioria um domínio C2 regulado pelo cálcio intracelular, com exceção da PLA2G4C que não possui este domínio. Por sua vez, a PLA2G4B além do domínio C2 apresenta uma inserção de 242 resíduos que faz parte do domínio Jumonji C (JmjC) que costuma regular a estabilidade da cromatina nas proteínas nucleares. Esta fosfolipase está relacionada também com os processos inflamatórios e vários tipos de cânceres (73-75). Nos mamíferos a PLA2G4A é uma proteína intracelular com grande importância na produção de eicosanoides e está presente no trato digestivo e no esperma humano (76). Ela

também está relacionada com a regulação das sPLA₂, aumentadas em células do CaP (60).

A fosfolipase independente de cálcio (iPLA₂) se destaca o grupo VI onde o peso varia de 27-1366 kDa. Este grupo foi dividido em seis membros (tabela 3) e todas estas enzimas funcionam relacionadas a uma serina catalítica no domínio α / β -hidrolase do tipo patatina. A PLA2G6A é a mais estudada e desempenha um papel importante na homeostase da membrana e na remodelação do fosfolipídio, relacionada a apoptose celular, a ativação da adenosina trifosfato (ATP) com a manutenção da função mitocondrial e do metabolismo energético, ação contra o estresse oxidativo e na liberação do AA. Esta fosfolipase tem sido relacionada também ao diabetes devido a sua participação na apoptose de células β pancreáticas, com distúrbios de neurodegeneração cerebral, além de correlacionar-se benéficamente em síndromes coronarianas agudas (73, 75-78).

A PLA₂ relacionada ao Fator de ativação plaquetário Acetil-hidrolase (PAF-AH) é um potente ativador fosfolipídico e um importante mediador das funções leucocitárias e inflamatórias das células e são representadas pelos grupos VII e VIII (tabela 3) com peso molecular de 26 – 45 kDa. Elas catalisam a hidrólise do grupo acetil a partir da posição sn-2 do fator de ativação plaquetária (PAF). Também são conhecidas como PLA₂ associadas a lipoproteínas do plasma humano como a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de alta densidade (HDL). A PLA2G7B possui a função antioxidante protegendo a célula contra a morte celular causada pelo estresse oxidativo, assim a sua superexpressão suprime a morte celular (74).

Temos ainda a fosfolipase lisossômica A₂ (LPLA₂) como representante a PLA2G15 que está localizada no lisossomo e possui peso molecular de 45 kDa. Possui como função biológica a hidrólise dos fosfolipídios e é também altamente

expressa nos macrófagos alveolares, sendo importante na degradação dos fosfolípidios do surfactante pulmonar (74, 75, 79).

Por fim a adipose específica (AdPLA₂) que é outra fosfolipase independente de cálcio expressa em tecidos adiposos, representada pela PLA₂G16 com peso de 18 kDa e foi classificada como supressora tumoral em carcinomas ovarianos humanos (53, 73, 75).

As PLA₂ também estão relacionadas com outras patologias como no sistema nervoso central, onde Talib L. et al. correlacionaram a atividade de PLA₂ em tecidos cerebrais de lobectomias temporais em pacientes com epilepsia refratária e sua atividade em plaquetas. Os resultados sugerem uma correlação da atividade da PLA₂ nas plaquetas com a atividade no tecido cerebral (80).

1.3.2 Fosfolipase A2 (PLA₂) e o Câncer

As PLA₂ são descritas e relacionadas na literatura com inúmeras neoplasias malignas (53, 55, 56, 65, 81-88).

As fosfolipases A2 secretora (sPLA₂) são enzimas lipolíticas que atuam na membrana celular liberando ácidos graxos (AG) e lisofosfolípidos como descrevemos anteriormente e estão envolvidas em uma série de doenças inflamatórias, imunológicas, cardiovasculares e também com diversos tipos de cânceres (88-90). A sua expressão aberrante já foi descrita no câncer colorretal (81, 82), pâncreas(83), estômago (84), pulmão (85), mama(91), próstata (53, 57, 58, 60, 65, 87, 92-94), entre outros órgãos como ilustrado na tabela 4, no entanto o seu papel não está completamente elucidado nestas neoplasias (55, 82).

Tabela 4: Principais cânceres nos quais ocorre o aumento da expressão das fosfolipases no ser humano (adaptado de Dennis et al.) (74)

Tipo	Grupo	Nomenclatura	Local acometido
sPLA₂	IB	PLA2G1B	Pâncreas – Cólon – Estômago
	IIA	PLA2G2A	Pulmão – Ducto biliar – Próstata – Testículo – Estômago – Fígado – Mama – Esôfago – Cérebro – Intestino – Pâncreas
	IID	PLA2G2D	Cólon
	III	PLA2G3	Cólon
	V	PLA2G5	Cólon
cPLA₂	IVA	PLA2G4A	Pâncreas – Cólon – Esôfago - Próstata
iPLA₂	VIA	PLA2G6A	Musculatura
	VIB	PLA2G6B	Coração/Fígado/Cérebro
	VIC	PLA2G6C	Neurônios
	VID	PLA2G6D	Tec. Adiposo
	VIE (PNPLA2)	PLA2G6E	Tec. Adiposo
PAF-AH	VIIA	PLA2G7A	Tireoide – Cólon – Cérebro – Fígado –
	VIIIB	PLA2G7B	Pulmão – Mama
LPLA₂	XV	PLA2G15	Macrófagos
AdPLA	XVI	PLA2G16	Tec. Adiposo

Dentre as fosfolipases secretoras, a PLA2G2A é a mais estudada e apresenta uma forte correlação na formação e manutenção do câncer. Este papel tem sido associado à sua atividade enzimática e de liberação de potentes mediadores lipídicos, em particular, os eicosanoides derivados do AA (55). Na próstata temos um aumento da expressão da PLA2G2A, assim como no esôfago e pulmão (53, 55). No estômago humano, o aumento da expressão da PLA2G2A já se relacionou com a redução da progressão e de metástase do câncer gástrico (84). Em modelos animais a inibição desta fosfolipase por um anticorpo anti-sPLA₂ resultou em tumores de menor dimensão (85).

As fosfolipases citoplasmáticas (cPLA₂) também se relacionaram com alguns tumores como o câncer colorretal (95, 96), pulmão (97) e próstata(60) . No câncer de mama a PLA2G4A se relacionou com tumores estrogênio dependentes (56, 74). A PLA2G4A também é superexpressa em pacientes com câncer de ovário em estágio avançado (98) e no CaP (60).

As iPLA₂ ou grupo VI são também relacionadas a tumorigênese e no desenvolvimento de tumores, sendo relacionada com câncer colorretal, onde a sua supressão diminuí a carcinogênese do tumor de cólon em camundongos (78).

No Câncer de mama temos o aumento da expressão da PAF-AH com a PLA2G7, relacionada a recorrência precoce e com a progressão metastática mais agressiva nestes tumores (94).

Temos ainda a LPLA₂ e a AdPLA₂ esta última classificada como supressora tumoral em carcinomas ovarianos humanos (53, 73, 75).

1.3.3 Fosfolipase A2 (PLA₂) e o Câncer de Próstata

Existem alguns estudos na literatura que relacionam as fosfolipases com o câncer de próstata, no entanto a sua maioria é restrita apenas a algumas fosfolipases como as sPLA₂, cPLA₂, iPLA₂ e PAF-AH.

As PLA₂ foram correlacionadas com o CaP após a identificação do aumento do AA e seus metabólitos em linhagens celulares de CaP, assim como em espécimes cirúrgicas de PR (99, 100). As PLA₂ estão altamente expressas nos tecidos neoplásicos e são as principais produtoras do AA a partir dos fosfolipídeos de membrana que são hidrolisados e metabolizados em eicosanoides, importantes

mediadores da supressão imunológica, influenciando no desenvolvimento de tumores como o de próstata (52, 53, 65, 87, 88, 99, 101).

A PLA2G2A é a mais estudada das sPLA₂ e participa no desenvolvimento do CaP por vários mecanismos dependentes da atividade enzimática (figura 5). Seu papel tem sido associado a cascata do ácido araquidônico com a síntese de eicosanoides, ocasionando uma desregulação na proliferação celular, angiogênese e resistência a apoptose celular, contribuindo assim para tumorigênese (52, 55).

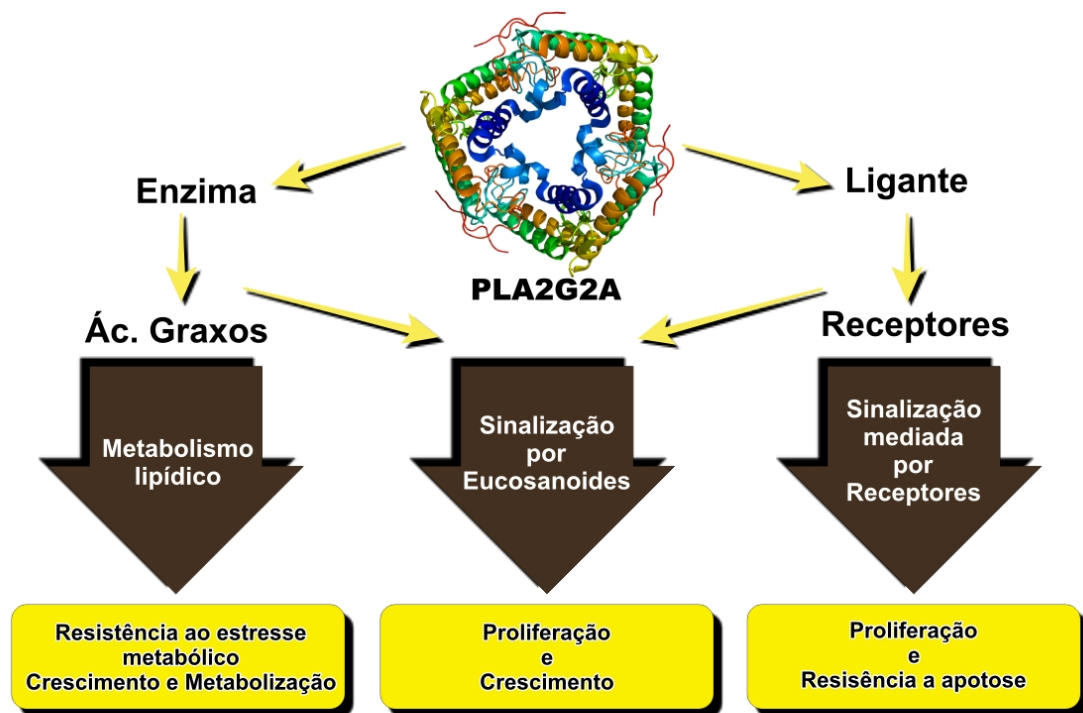


Figura 5: Diferentes mecanismos de ação da PLA2G2A relacionadas ao desenvolvimento e progressão de neoplasias através de sua ação como ligante na sinalização mediada por receptores e sua ação enzimática no metabolismo lipídico.

Esta relação das PLA₂ com o CaP foi inicialmente descrita em 1998 por Kallakoki et al., que demonstrou o aumento da expressão das PLA₂ nos órgãos reprodutores masculinos e em tumores genitais, correlacionando a PLA2G2A através da imuno-histoquímica (IHQ) e da hibridização in situ com o CaP, principalmente nos tumores de alto grau e pouco diferenciados (102).

Em outros estudos, foram demonstrados o aumento da expressão da PLA2G2A através da IHQ em espécimes de PR de pacientes com CaP e com neoplasia intraepitelial prostática (NIP) de alto grau, em comparação com o tecido prostático benigno e NIP de baixo grau (86, 87). Também foram relacionadas com linhagens celulares de CaP independente de andrógenos (LNAI e CWR-22R) quando comparadas com células dependentes de andrógenos (CRW-22 e LNCaP), demonstrando a possibilidade de envolvimento da PLA2G2A com a progressão do CaP para resistência androgênica (87). A sobrevida também foi avaliada e inversamente relacionada nos pacientes com CaP de alto grau, relacionando o aumento da expressão da PLA2G2A com um pior prognóstico (87). Em contrapartida, na doença metastática ocorreu a perda de expressão da PLA2G2A quando comparada com as amostras de carcinoma primário (92).

Sved et al. estendeu sua análise para células de CaP remanescentes após terapia androgênica com ciproterona antes da PR, demonstrando por IHQ uma redução da expressão da PLA2G2A após a privação androgênica, sugerindo a dependência de andrógenos pela PLA2G2A (65). Outra correlação avaliada foi com o bloqueio da cPLA₂ que aboliu completamente o crescimento celular induzido pela PLA2G2A, caracterizando a dependência da cPLA₂ para que haja a proliferação das células do CaP dependentes de andrógenos (53, 65).

Os inibidores das sPLA₂ estão sendo avaliados na supressão da atividade da PLA2G2A e de outras sPLA₂ há algum tempo (74). Eles atuam basicamente em dois locais, no sítio ativo da fosfolipase, bloqueando a sua atividade catalítica ou bloqueando a sua ligação no receptor celular, no entanto, a sua principal utilidade hoje é na terapia contra distúrbios inflamatórios, imunológicos e cardiovasculares (88).

Níveis plasmáticos da PLA2G2A já foram analisados em camundongos, onde ela atingiu valores elevados em linhagem celular LNCaP e foi indetectável nos animais controle sem a doença. A avaliação em humanos dos níveis plasmáticos da PLA2G2A também foi realizada em 134 pacientes em diferentes graus de estadiamento patológico (T1 vs T2-4) e demonstraram que valores séricos acima de 2,0 ng/mL previam um tumor de próstata avançado com sensibilidade de 50% e especificidade de 83% (93). Em outro trabalho os níveis plasmáticos de PLA2G2A se relacionaram com CaP, mas não com os valores de PSA, escore de Gleason ou com o estadiamento do tumor (103). As demais fosfolipases secretoras já foram avaliadas na literatura, mas não foram correlacionadas com o CaP (104).

A cPLA₂ também se relaciona e contribui com a sobrevivência e com a proliferação das células do câncer de próstata, onde ela desempenha um papel central no metabolismo do AA envolvido na tumorigênese (65, 74, 105). A mais estudada das fosfolipases citoplasmáticas é a PLA2G4A descrita como superexpressa em linhagens celulares de CaP hormônio resistente (DU145 e PC3) e também através da IHQ de espécimes cirúrgicos (60).

A inibição de PLA2G4A *in vitro* através de um silenciamento do RNA (siRNA) ou por um inibidor da PLA2G4A como o Wyeth-1, resultou na redução de 30 a 40% na proliferação celular em linhagens LNCaP e PC3 de CaP em relação ao controle e foram responsáveis por um aumento da apoptose celular em 26% e 19% respectivamente, desempenhando uma menor taxa de crescimento tumoral em ambas linhagens celulares (60).

O aumento da expressão da PLA2G4A e conseqüentemente da produção das prostaglandinas, também foi relacionada com a maior disponibilização de ácidos

graxos livres as células PC3, sugerindo uma relação da ingestão de gordura com o aumento da incidência e mortalidade do CaP (106).

Existem mecanismos que podem potencializar atividade da cPLA₂ aumentando a sua atividade de tumorigênese e o crescimento celular no CaP, como ocorre com a supressão das Anexinas, inibidor natural da cPLA₂, que são uma família de proteínas relacionadas a ligação com fosfolípidos dependentes de Ca⁺² (107). A Anexina II (ANX2) é uma delas e é expressa pelas células epiteliais da próstata e seu silenciamento por hipermetilação do gene ocorre durante a evolução do CaP (107). Uma de suas atividades é a regulação da cPLA₂ (Figura 6). A supressão da ANX2 desencadeia uma maior atividade das cPLA₂ com aumento da produção de AA, acarretando a maior síntese de eicosanoides e promovendo tumorigênese no CaP (53, 60, 108). A inibição da PLA2G4A pode bloquear o efeito da PLA2G2A, suprimindo assim a proliferação celular em linhagens de CaP, demonstrando um papel de mediação da ação desta fosfolipase no CaP (65).

São descritas e demonstrados na figura 6 as duas principais vias de produção de prostaglandinas através da liberação do AA dos fosfolípidos de membrana, uma delas intracelular coordenados pela cPLA₂ e outra transcelular desempenhada pela sPLA₂ (109). Ocorre aumento da expressão da sPLA₂ no CaP e sua atuação através da membrana celular no aumento da liberação de ácidos graxos (AG) e conseqüentemente da concentração celular de cálcio (Ca⁺), aumenta a atividade da cPLA₂ que é dependente de Ca⁺, desencadeando a maior produção dos mediadores inflamatórios relacionados a tumorigênese celular (53, 110).

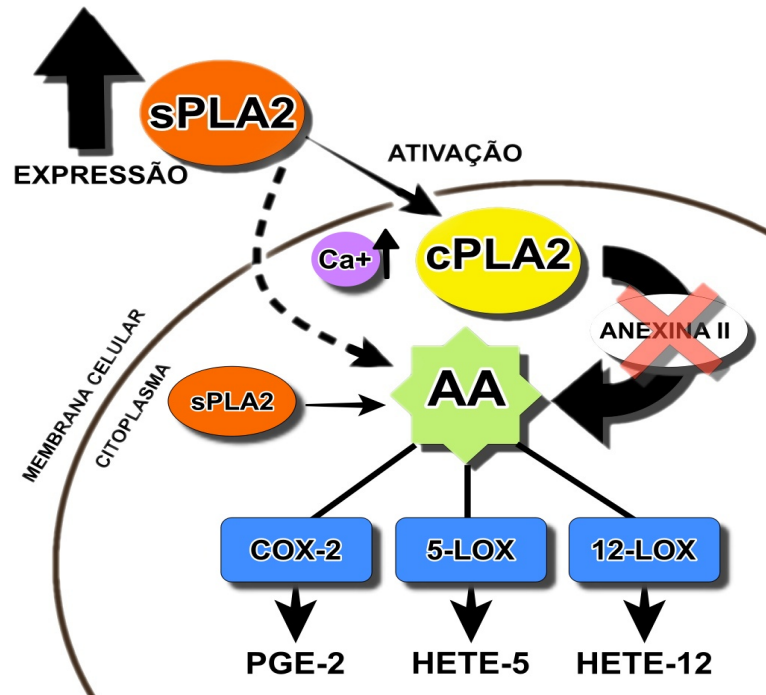


Figura 6: Demonstra o aumento da expressão da sPLA₂ com aumento da produção do AA pela via transcelular com a ativação da cPLA₂ através da disponibilização de Ca⁺ ou pelo silenciamento da ANX2, levando ao aumento da produção de mediadores inflamatórios no CaP. (adaptado de Dong 2006) (53).

A inibição das cPLA₂ e da produção dos eicosanoides por inibidores seletivos no câncer já foi descrita em alguns estudos pré-clínicos, no entanto, foram descontinuados devido ao uso prolongado e os efeitos colaterais cardiovasculares e gastrointestinais existentes (105). No entanto, em outro artigo Dong et al demonstraram que a inibição da PLA2G4A em linhagens celulares PC3 e LNCaP aumentou os níveis de eicosanoides como das COX e PGE₂ (59).

As fosfolipases iPLA₂ são outra família que já foram relacionadas com o CaP em análises genômicas (111). Em linhagens celulares PC3 e LNCaP, a inibição da iPLA₂ acarretou uma diminuição na sua proliferação de ambas linhagens celulares em 50%, sugerindo que a PLA2G6 pode estar relacionada com o crescimento celular no CaP (112). A PLA2G6 também demonstrou participação na regulação da secreção de PSA juntamente com uma maior atividade em células LNCaP (113) e já foi relacionada

ao CaP em vivo (58). Já existem inibidores seletivos da PLA2G6 como o Paclitaxel, utilizado no tratamento dos tumores de ovário, mas sem descrições de utilização no CaP (114).

Das PAF-AH, a PLA2G7 foi relacionada e altamente expressa no CaP positivos para oncogene ERG, onde o seu silenciamento reduziu o crescimento de células de CaP ERG-positivas devido a sensibilização ao estresse oxidativo. A expressão da PLA2G7 foi aumentada em 70% dos tumores metastáticos da próstata e em 50% nos tumores primários (62). Em outro estudo com 453 amostras clínicas de CaP após PR e em linhagens celulares de CaP, foram avaliadas por IHQ e por reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qRT-PCR) e os resultados indicaram um aumento da expressão da PLA2G7 nestes tumores em 50%, principalmente em doenças mais agressivas (94). Da mesma forma, o silenciamento da PLA2G7 desencadeou a apoptose celular, reduzindo a tumorigênese e a adesão celular. Este efeito foi potencializado com a associação de estatinas, que reduziu a atividade enzimática da PLA2G7 e teve um efeito antiproliferativo nas células de CaP (94).

Estes estudos demonstram a importância das fosfolipases A2 no CaP, podendo representar um novo marcador diagnóstico e de prognóstico. O diagnóstico do CaP é hoje realizado através da biópsia da próstata, método invasivo, que apresenta riscos e que nem sempre consegue definir ou prever o prognóstico dos pacientes que irão evoluir com uma doença de maior ou menor agressividade. O foco nos estudos hoje são em tentar determinar quais os pacientes necessitarão de tratamento e quais poderão evoluir de forma desfavorável após o diagnóstico do CaP.

Nenhum estudo abordou de forma mais completa o perfil da expressão das PLA₂ no CaP, correlacionando-as com os principais fatores prognósticos. Nosso objetivo, portanto, é analisar a expressão das PLA₂ relacionando seus níveis com

marcadores prognósticos e com a evolução da doença, buscando assim determinar um possível novo marcador diagnóstico e prognóstico dessa neoplasia, auxiliando no futuro a tomada de decisão com relação ao melhor tratamento destes pacientes.

2. Objetivos

2. Objetivos

2.1 Objetivo Primário

Avaliar os níveis de expressão por reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qRT-PCR) das fosfolipases sPLA₂, cPLA₂, iPLA₂, LPLA₂, PAF-AH e AdPLA₂, em espécimes cirúrgicos de câncer de próstata.

2.2 Objetivo Secundário

Comparar os níveis de expressão por qRT-PCR das variantes das fosfolipases sPLA₂, cPLA₂, iPLA₂, LPLA₂, PAF-AH e AdPLA₂ do CaP com tecido normal e relacioná-los com fatores prognósticos clássicos, sobrevida livre de recidiva bioquímica e aparecimento de metástases.

3. Materiais e métodos

3. Materiais e métodos

3.1 Casuística, critérios de inclusão e exclusão

Foram considerados para o estudo inicialmente 3600 pacientes com CaP tratados cirurgicamente de janeiro de 1998 até dezembro de 2007. Estas amostras foram divididas conforme a graduação de ISUP da peça cirúrgica e deste total foram selecionados 500 casos que possuíam amostras disponíveis e suficientes no biorrepositório (Figura 7).

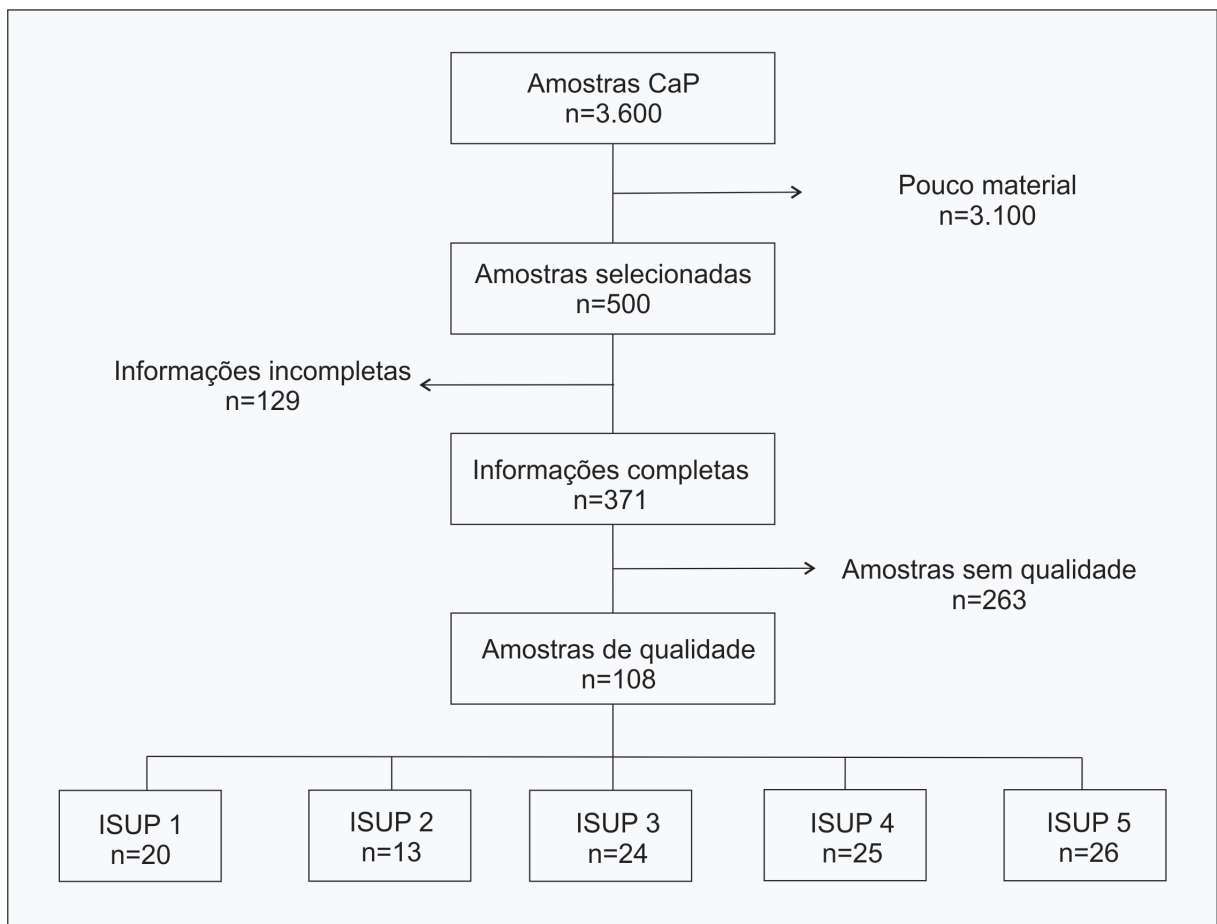


Figura 7: Fluxograma de seleção das amostras desde o biorrepositório até o número final do estudo.

Avaliamos todas as informações contidas no banco de dados, incluindo 371 pacientes que continham as informações completas. Houve uma reavaliação histopatológica das amostras para a confirmação e atualização da graduação histológica ISUP por uma experiente patologista (Profa. Dra. Katia R. M. Leite), sendo então selecionadas 108 amostras com qualidade e com os requisitos necessários para o estudo com os seguintes ISUP: ISUP 1 (n = 20); ISUP 2 (n = 13), ISUP 3 (n = 24), ISUP 4 (n = 25) e ISUP 5 (n = 26). Todas as amostras incluídas no estudo continham pelo menos 70% de tecido tumoral na análise microscópica e apresentavam todos os dados clínicos, histológicos e de evolução no banco de dados (Figura 7).

3.2 Análise da expressão das PLA₂ nos controles

Para análise inicial da expressão das PLA₂ utilizamos como controle a zona de central (ZC) da próstata, devido a facilidade de ser adquirida em produtos de ressecção endoscópica (RTUp). No entanto, sabemos que o CaP acomete em aproximadamente 75% dos casos a zona periférica e que existe uma diferença na expressão das fosfolipases entre as zonas central e periférica (26), desta forma, optamos em utilizar também a zona periférica (ZP) de biópsias por agulha de próstatas benignas para determinar separadamente a expressão das fosfolipases, utilizando esses dois grupos controles.

3.3 Definição dos valores prognósticos avaliados

Para a avaliação da relação entre as PLA₂ e os fatores prognósticos consideramos os níveis séricos de PSA pré-operatório (PSA < 10 e PSA ≥ 10 ng/mL), número de fragmentos de biópsia positivos (Fr+) (≤ 50% ou > 50%), estadiamento

patológico do produto de PR (confinado = pT2 ou não confinado = pT3), porcentagem de tumor na peça cirúrgica ($\leq 25\%$ e $> 25\%$) e graduação histológica (ISUP). Também avaliamos a recidiva bioquímica, considerando os níveis de PSA $\geq 0,2$ ng/mL e o surgimento de metástases em um período médio de acompanhamento de 163,7 meses ($\pm 49,7$ meses).

3.4 Ética

As amostras utilizadas neste trabalho foram codificadas, garantindo assim sua confidencialidade. O projeto foi submetido ao comitê de ética e pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), sendo aprovado na reunião do dia 11/07/2016 (protocolo nº 1003/2016) (Anexo 1). O termo de consentimento livre e esclarecido foi dispensado no presente estudo.

3.5 Processamento das Amostras

As amostras coletadas da peça cirúrgica após prostatovesicuclectomia radical foram armazenados em criotubos (1,5ml) contendo 1ml de Ácido Ribonucleico (RNA) *holder*® e mantidas a -70°C até a sua utilização.

3.5.1 Isolamento do RNA e do cDNA

Para a realização da extração do RNA, foi utilizado o kit de isolamento *miRVana*® micro RNA (miRNA (Ambion, Austin, Tx) de acordo com as recomendações do fabricante. O tecido prostático foi macerado no equipamento Tissue Lyser LT (Qieagen, Germantown, USA) com 500 μL do tampão de lise (10 vezes o volume da massa tecidual) e 10% do volume total do aditivo para

homogeneização. Adicionou-se 500 μ L de fenol-clorofórmio e as amostras foram agitadas em *vortex* e centrifugadas na velocidade máxima de 10.000g por 5 minutos a temperatura ambiente. A fase aquosa foi removida cuidadosamente e transferida para um novo tubo, tendo o seu volume anotado. Foi adicionado um terço do volume de etanol 100% a temperatura ambiente e realizou-se nova agitação em *vortex*. A solução então foi transferida para o filtro (coluna GFX) e as amostras foram novamente centrifugadas a 10.000g por 30 segundos. Ao filtrado foram adicionados 2/3 do volume de etanol e transferidos para uma nova coluna onde foram novamente centrifugadas por 15s a 10.000g e o filtrado descartado. Retomando os filtros com RNA, foram realizadas sucessivas lavagens com soluções próprias do kit, intercaladas com centrifugações de 5-10s a 10.000g. Após o descarte do filtrado, centrifugamos os tubos vazios por mais 1 minuto a 10.000g para secagem da coluna e a remoção de resíduos. As colunas foram então transferidas para um novo tubo e adicionados 50 μ L de água livre de RNase pré-aquecida a 95°C, no centro da coluna. Após 1 minuto a temperatura ambiente, a coluna contendo o RNA foi centrifugada em spin por 20-30 segundos e armazenados a -80°C até sua utilização. A pureza e concentração do RNA foram mensuradas em espectrofotômetro Nanodrop® (ND-100, Wilmington, EUA) (260/280nM).

3.5.2 Transcrição reversa (RT)

O DNA complementar (cDNA) foi obtido utilizando o *kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription®* (Applied Biosystems) que utilizou a *Transcriptase reversa Multiscribe RT* e primers de interesse no estudo. O RNA total foi então diluído em água livre de nucleases em um volume final de 20 μ L e concentração de 500ng/ μ L. A este volume foram acrescentados 4 μ L do tampão da enzima (10x), 1,6 μ L do mix de dNTPs

(25x), 4 μ L de oligonucleotídeos randômicos (10x), 2 μ L da enzima transcriptase reversa e 8,4 μ L de água livre de nucleases totalizando o montante de 40 μ L cDNA. A solução foi submetida então a ciclos de temperatura (25°C por 10min, 37°C por 120min e 85°C por 5min) no termociclador Vertiti® (AppliedBiosystem, Foster City, CA).

3.5.3 Análise de expressão das PLA₂

A expressão das PLA₂s foi realizada por reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (qRT-PCR) usando o sistema ABI 7500 Fast no modo *standard*, com utilização de Master Mix PCR Taqman Universal (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). A expressão do RNA foi analisada utilizando-se primers sequência-específicos adquiridos pela Applied Biosystems relacionados as fosfolipases (tabela 8).

Tabela 5: Primers de fosfolipases utilizadas no estudo para avaliar a expressão dos RNAs pelo método de qRT-PCR.

GENES	IDENTIFICAÇÃO DO ENSAIO	GENES	IDENTIFICAÇÃO DO ENSAIO
PLA2G1B	Hs00386701_m1	PLA2G4E	Hs01045436_m1
PLA2G2A	Hs00179898_m1	PLA2G4F	Hs02577398_m1
PLA2G2D	Hs00173860_m1	PLA2G6	Hs00185926_m1
PLA2G4A	Hs00233352_m1	PLA2G7	Hs00965837_m1
PLA2G4B	Hs04186037_m1	PLA2G16	Hs00912734_m1
PLA2G4C	Hs01003744_m1	PNPLA1	Hs00543592_m1
PLA2G4D	Hs00603557_m1	PNPLA2	Hs00386101_m1
		B2M	Hs00187842_m1

Os *primers* utilizados para amplificação dos genes alvo foram adquiridos da Applied Biosystems (Califórnia, EUA). Como controle endógeno utilizou-se o gene β 2-microglobulina (B2M).

Os níveis de expressão dos genes foram obtidos através da quantificação relativa dos níveis de expressão determinados pelo método $\Delta\Delta C_T$, que utiliza a seguinte fórmula: $\Delta\Delta C_T = (C_T \text{ do gene alvo, amostra de CaP} - C_T \text{ do controle endógeno, amostra de CaP}) - (C_T \text{ do gene alvo, amostra de ZC} - C_T \text{ do controle endógeno, amostra de ZC})$. Os níveis de expressão dos genes foram obtidos através da quantificação relativa dos níveis de expressão determinados pelo método $2^{-\Delta\Delta C_T}$ (115).

3.6 Análise Estatística

O processo de análise de dados da presente pesquisa iniciou-se com uma exploração descritiva, incluindo frequência absoluta dos atributos qualitativos com valores de média, desvio padrão (DP), mediana, percentil 25 (P25) e 75 (P75), mínimos e máximos também foram calculados. As tabelas descritivas das variáveis qualitativas incluíram o intervalo de confiança de 95% (IC95%) e as quantitativas incluíram as medidas de tendência central e dispersão.

Para estudar a distribuição das variáveis qualitativas de acordo com os grupos foi empregado o teste de qui-quadrado ou teste exato de Fischer quando necessário. O teste de Mann-Whitney foi usado para a comparação de dois grupos independentes no caso de variáveis quantitativas e, para a comparação de mais de 2 grupos foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, ambas técnicas de estatísticas não paramétricas.

A função de sobrevida e sobrevida livre de recorrência bioquímica para avaliar a estimativa média de tempo até os indivíduos atingirem o óbito ou a recidiva foi realizada por meio do método de Kaplan-Meier. O teste de hipótese para a igualdade das médias de acordo com fatores foi realizado pelo teste não paramétrico de log-rank (Mantel-Cox). As estimativas de hazard ratio (HR) brutas e ajustadas foram calculadas pela regressão de Cox considerando cofatores clínicos e patológicos.

A categorização da expressão das PLA₂ foi realizada com base o percentil 75 para o estudo da sobrevida global independentemente do tipo de controle de referência. No caso da sobrevida livre de doença utilizou-se a mediana (percentil 50) como referência.

Todos os testes realizados levaram em consideração um α bidirecional de 0.05 e intervalo de confiança (IC) de 95% e foram realizados com apoio computacional dos softwares IBM SPSS 26 (Statistical Package for the Social Sciences) e Excel 2010® (Microsoft Office).

4. RESULTADOS

4. Resultados

4.1 Perfil sociodemográfico e clínico dos indivíduos

O controle foi representado pelo tecido prostático de seis pacientes tratados cirurgicamente por RTUp devido HPB e espécimes representativos da zona periférica de outros seis pacientes submetidos a biopsia de próstata transretal por agulha com diagnóstico de próstata normal. A média de idade dos controles ZP foi de 62 anos ($\pm 3,0$ anos) e do ZC foi de 67,7 anos ($\pm 8,6$ anos), nos dois grupos o comportamento do PSA foi homogêneo, 3,9 ng/mL ($\pm 1,4$ ng/mL) para ZP e 5,2 ng/mL ($\pm 4,8$ ng/mL) para o ZC. Em ambos os controles, a ausência de neoplasia foi confirmada por análise histopatológica e durante o seu acompanhamento no estudo.

Tabela 6: Estatísticas descritivas dos doentes avaliados incluindo medidas de tendência central e de dispersão, frequências absoluta e relativa.

	Média	DP	Mediana	P25	P75	Mín.	Máx.
Idade	63	7	63	59	68	41	80
	N		%		IC95%		
					Inferior	Superior	
%FR+ ≤ 50	66		63,5%		53,9%	72,2%	
Estádio Patológico							
pT2	57		52,8%		43,4%	62,0%	
pT3	51		47,2%		38,0%	56,6%	
Linfonodos <i>positivos</i>	7		6,5%		2,9%	12,3%	
Margem Cirúrgica <i>positiva</i>	49		50,5%		40,7%	60,3%	
%Tumor ≥ 25	36		35,3%		26,5%	44,9%	
Recidiva	37		38,9%		29,6%	49,0%	
Metástase	16		18,4%		11,4%	27,5%	
Óbito	30		33,0%		24,0%	43,0%	

FR+ - porcentagem de fragmentos de biópsia positivos

Os dados clínicos e anátomo-patológicos estão expostos na tabela 6. O tempo médio de acompanhamento foi de 163,7 meses ($\pm 49,7$ meses). Recidiva bioquímica ocorreu em 38,9% dos pacientes avaliados. Metástases ocorreu em 18,4% e 33% dos pacientes morreram durante um acompanhamento médio de 147 meses (± 33 meses).

A distribuição da graduação histológica ISUP está exposta na tabela 7.

Tabela 7: Graduação ISUP na biópsia e no espécime cirúrgico.

	N	%
ISUP biópsia		
1	32	29,6%
2	22	20,4%
3	24	22,2%
4	21	19,4%
5	9	8,3%
ISUP biópsia agrupado		
ISUP 1	32	29,6%
ISUP 2 - 5	76	70,4%
ISUP espécime cirúrgico		
1	20	18,5%
2	13	12,0%
3	24	22,2%
4	25	23,1%
5	26	24,1%
ISUP espécime cirúrgico agrupado		
ISUP 1	20	18,5%
ISUP 2 - 5	88	81,5%

4.2 Expressão das fosfolipases A₂ no câncer de próstata

Inicialmente foram avaliadas a diferença de expressão das PLA₂ entre os controles, tecido prostático benigno proveniente da zona central (ZC) e da zona periférica (ZP) (Figura 8).

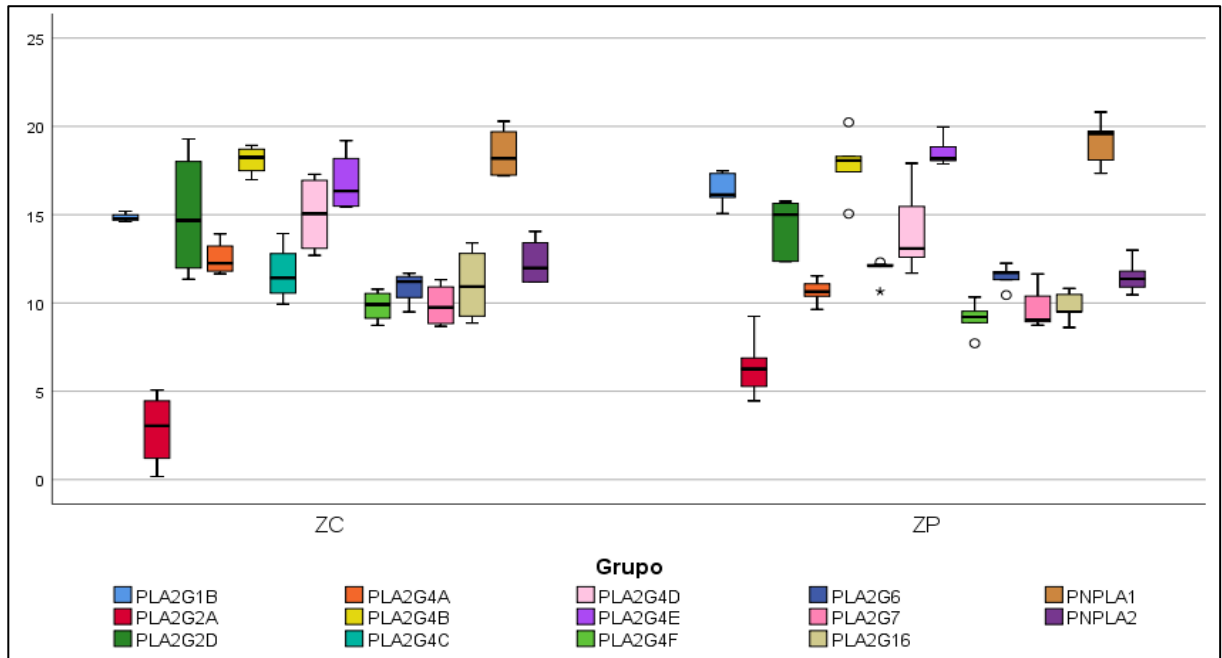


Figura 8: Expressão das fosfolipases nos controles provenientes da zona periférica (ZP) e zona central (ZC) representativos de tecido prostático benigno.

Houve diferença estatística em 3 PLA2. Duas estão mais expressas na ZP: PLA2G1B 16,625 (15,979 - 17,331) versus 14,689 (13,806 - 14,782) e PLA2G2A 6,571 (5,274 - 9,242) versus 2,261 (1,825 - 3,85). PLA2G4A se mostrou mais expressa na ZC 11,803 (11,625 - 12,54) versus 10,546 (10,385 - 11,088) (Tabela 8).

Tabela 8: Expressão das fosfolipases nos indivíduos controle para a zona periférica (ZP) e zona central (ZC) da próstata benigna incluindo mediana, intervalo interquartil e valor de p.

	ZC	ZP	p-valor
	Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)	
PLA2G1B	14,689 (13,806 - 14,782)	16,625 (15,979 - 17,331)	0,046
PLA2G2A	2,261 (1,825 - 3,85)	6,571 (5,274 - 9,242)	0,028
PLA2G2D	16,965 (12,611 - 17,388)	15,320 (12,36 - 15,75)	0,600
PLA2G4A	11,803 (11,625 - 12,54)	10,546 (10,385 - 11,088)	0,046
PLA2G4B	17,490 (15,343 - 18,493)	17,747 (17,253 - 18,299)	0,753
PLA2G4C	10,937 (10,032 - 11,655)	12,139 (12,087 - 12,307)	0,249
PLA2G4D	15,055 (12,698 - 16,646)	12,840 (11,723 - 15,469)	0,345
PLA2G4E	16,337 (15,482 - 18,177)	18,181 (18,058 - 18,843)	0,593
PLA2G4F	9,135 (8,481 - 10,297)	9,048 (8,434 - 9,535)	0,753
PLA2G6	10,616 (9,769 - 11,318)	11,519 (10,987 - 11,777)	0,075
PLA2G7	9,363 (8,986 - 10,502)	9,719 (8,944 - 10,891)	0,753
PLA2G16	9,747 (9,013 - 12,215)	9,717 (9,505 - 10,48)	0,600
PNPLA1	17,526 (17,195 - 19,091)	19,659 (18,096 - 20,531)	0,173
PNPLA2	11,188 (11,018 - 12,761)	11,131 (10,619 - 11,801)	0,345

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney.

Comparando a expressão das PLA2 entre o tecido tumoral e o controle, observamos superexpressão de todas as fosfolipases avaliadas na grande maioria dos casos de CaP, independentemente do tipo de controle (Anexo 2) (Figura 9).



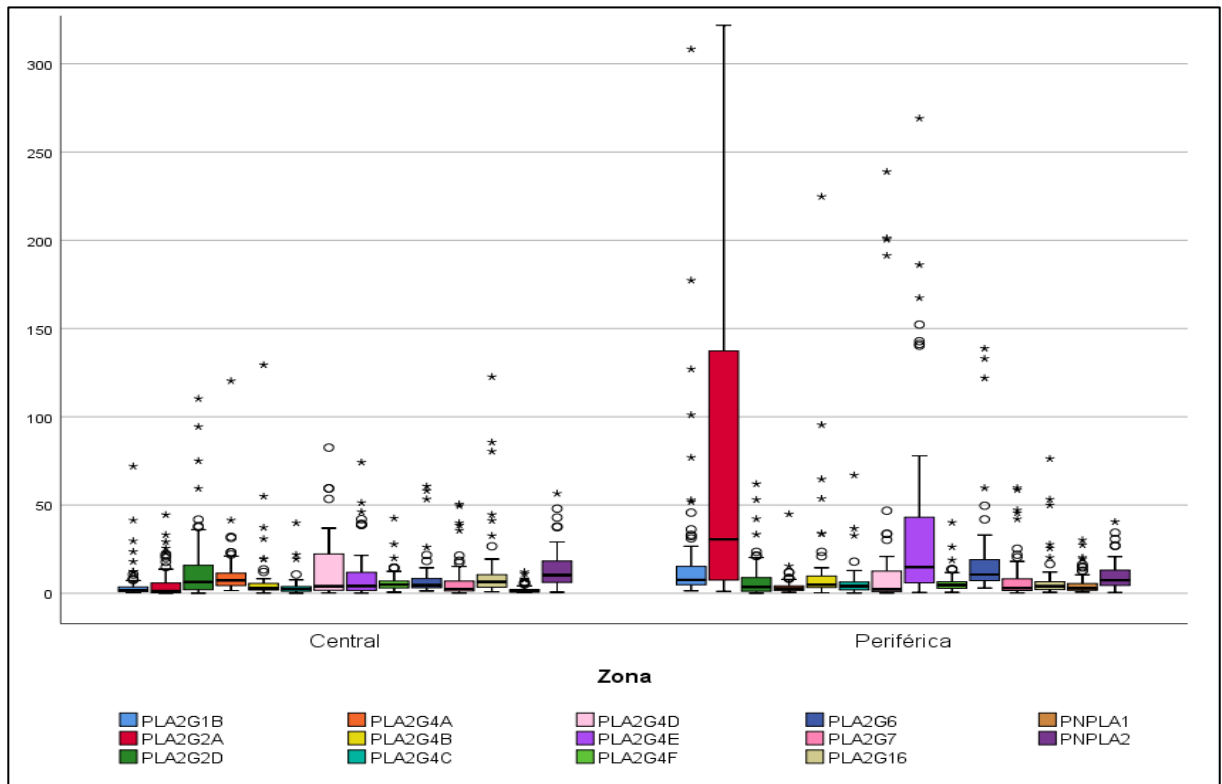
Figura 9: Porcentagem das amostras de CaP que apresentaram superexpressão quando comparados aos controles que consistiram em tecido prostático benigno proveniente da ZP e ZC.

Tabela 9: Comparação da expressão das PLA₂ no CaP utilizando os dois controles.

	Zona Central Mediana (IIQ)	Zona Periférica Mediana (IIQ)	p-valor
PLA2G1B	1.81 (1.09 - 3.58)	7.77 (4.66 - 15.33)	<0,001
PLA2G2A	1.19 (0.33 - 4.43)	28.04 (7.84 - 104.40)	<0,001
PLA2G2D	7.42 (2.76 - 18.26)	4.17 (1.55 - 10.27)	0,007
PLA2G4A	7.31 (4.36 - 11.61)	2.73 (1.63 - 4.33)	<0,001
PLA2G4B	2.91 (1.80 - 6.26)	5.05 (3.13 - 10.87)	<0,001
PLA2G4C	2.55 (1.27 - 4.09)	4.29 (2.14 - 6.87)	<0,001
PLA2G4D	3.95 (1.65 - 20.25)	2.24 (0.93 - 11.48)	0,028
PLA2G4E	4.54 (1.80 - 13.39)	16.48 (6.51 - 48.57)	<0,001
PLA2G4F	4.72 (2.61 - 6.94)	4.45 (2.46 - 6.55)	0,520
PLA2G6	4.63 (3.08 - 8.39)	10.59 (7.04 - 19.19)	<0,001
PLA2G7	2.41 (1.18 - 6.69)	2.84 (1.39 - 7.91)	0,317
PLA2G16	6.72 (3.37 - 10.74)	4.18 (2.10 - 6.68)	<0,001
PNPLA1	1.21 (0.71 - 2.66)	3.03 (1.77 - 6.64)	<0,001
PNPLA2	9.47 (4.98 - 16.78)	6.77 (3.56 - 12.01)	0,011

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney

A média das expressões das PLA₂ no CaP utilizando as ZC e ZP foram estatisticamente diferentes, com exceção da PLA2G4F e PLA2G7 onde não houve diferença estatística (Tabela 9) (Figura 10). No entanto, o resultado final entre superexpresso ou subexpresso foi o mesmo.



Obs. Existem valores extremos acima do limite apresentado no gráfico

Figura 10: Distribuição da expressão relativa das PLA₂ no CaP de acordo com zona central e periférica.

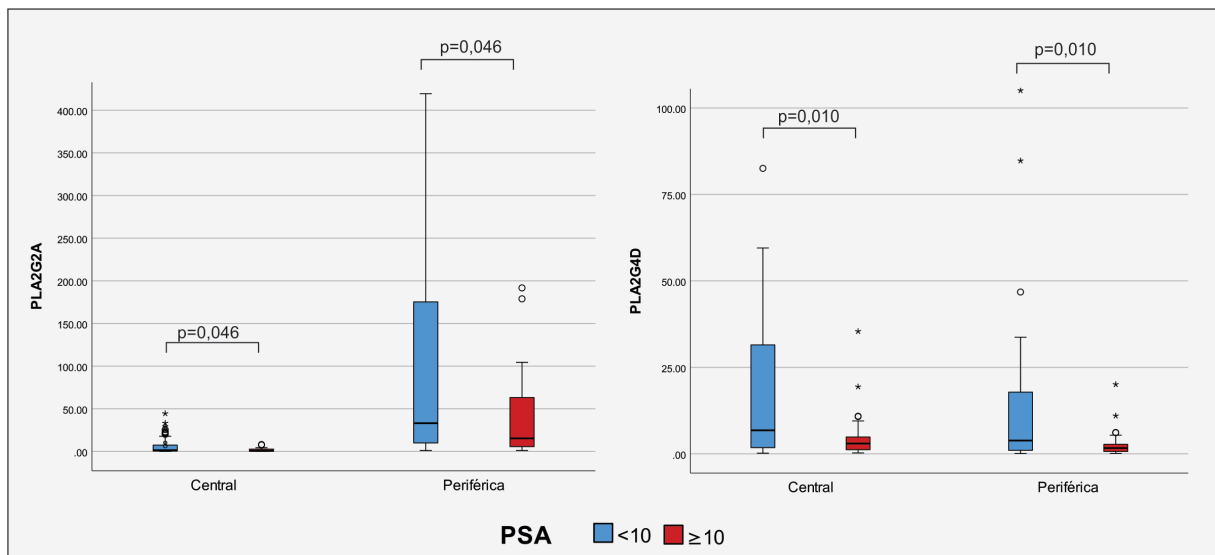
4.3 Fatores prognósticos associados a expressão da PLA₂

Na tabela 10 é possível verificar a análise das PLA₂ em relação aos níveis de PSA. Observou-se uma maior expressão da PLA2G2A e PLA2G4D em casos com PSA < 10 ng/mL, independente do controle utilizado. Em ambos os casos a expressão mediana das PLA₂ é pelo menos 2 vezes maior no grupo com PSA < 10 ng/mL. Na Figura 11 é possível verificar a distribuição das PLA₂ que apresentaram significância estatística.

Tabela 10: Distribuição da expressão das PLA₂ no CaP de acordo com nível de PSA estratificado segundo tipo de controle.

	Central			p-valor	Periférica		
	PSA < 10	PSA ≥ 10	p-valor		PSA < 10	PSA ≥ 10	p-valor
	Mediana (IIQ)				Mediana (IIQ)		
PLA2G1B	1.81 (1.13-3.41)	2.01 (1.04-4.12)	0,498	7.63 (4.44-14.35)	9.27 (5.27-22.10)	0,161	
PLA2G2A	1.40 (0.42-7.44)	0.65 (0.24-2.68)	0,046	33.06 (9.97-175.34)	15.35 (5.75-63.16)	0,046	
PLA2G2D	6.40 (1.78-18.20)	12.60 (5.24-18.33)	0,105	3.60 (1.00-10.23)	7.08 (2.95-10.30)	0,105	
PLA2G4A	7.39 (4.03-12.47)	7.30 (5.01-10.85)	0,816	2.76 (1.50-4.65)	2.72 (1.87-4.05)	0,816	
PLA2G4B	3.65 (2.02-7.07)	2.69 (0.91-4.33)	0,080	6.33 (3.51-12.27)	4.67 (1.58-7.53)	0,080	
PLA2G4C	2.54 (1.18-4.72)	2.62 (1.36-3.91)	0,785	4.27 (1.99-7.93)	4.40 (2.29-6.56)	0,785	
PLA2G4D	6.78 (1.80-33.02)	2.98 (1.20-4.86)	0,010	3.85 (1.02-18.71)	1.69 (0.68-2.76)	0,010	
PLA2G4E	4.72 (1.79-15.63)	4.54 (2.25-7.27)	0,621	17.10 (6.51-56.69)	16.48 (8.16-26.37)	0,621	
PLA2G4F	5.01 (2.91-7.24)	3.59 (2.26-5.77)	0,127	4.73 (2.74-6.83)	3.39 (2.13-5.45)	0,127	
PLA2G6	4.57 (3.10-8.44)	5.29 (3.08-8.30)	0,897	10.46 (7.09-19.30)	12.09 (7.03-18.97)	0,897	
PLA2G7	2.18 (1.14-5.18)	4.79 (1.45-7.33)	0,211	2.57 (1.35-6.13)	5.66 (1.72-8.66)	0,201	
PLA2G16	6.28 (3.46-10.27)	7.33 (3.36-13.99)	0,564	3.90 (2.15-6.38)	4.55 (2.09-8.69)	0,564	
PNPLA1	1.28 (0.75-2.73)	1.01 (0.69-1.65)	0,239	3.19 (1.88-6.82)	2.52 (1.73-4.12)	0,239	
PNPLA2	9.52 (4.06-16.62)	9.41 (5.73-18.39)	0,491	6.82 (2.91-11.89)	6.74 (4.10-13.16)	0,461	

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney



Obs. Existem valores extremos acima do limite apresentado no gráfico

Figura 11: Distribuição da expressão relativa de PLA2G2A e PLA2G4D no CaP de acordo com nível de PSA estratificado de acordo com o tipo de controle.

PLA2G4C e PLA2G16 se mostraram de 40% a 80% mais superexpressas nos pacientes com FR+ \leq 50, independentemente do tipo de controle utilizado (Tabela 11) (Figura 12). A Figura 12 mostra o boxplot para estas fosfolipases detalhadamente.

Tabela 11: Distribuição da expressão das PLA₂ no CaP de acordo com a porcentagem de fragmentos de biópsia positivos estratificada segundo tipo de controle.

	Central		p-valor	Periférica		p-valor
	FR+ \leq 50	FR+ > 50		FR+ \leq 50	FR+ > 50	
	Mediana (IIQ)			Mediana (IIQ)		
PLA2G1B	1.97 (1.29-4.09)	1.73 (1.04-3.38)	0,316	8.57 (5.52-17.37)	7.16 (4.47-11.47)	0,154
PLA2G2A	0.83 (0.29-5.04)	1.41 (0.41-3.33)	0,543	19.48 (6.74-118.77)	33.27 (9.77-78.52)	0,543
PLA2G2D	7.61 (2.47-27.30)	6.25 (2.39-13.15)	0,434	4.28 (1.39-15.35)	3.52 (1.34-7.39)	0,434
PLA2G4A	7.69 (4.92-12.74)	6.02 (4.00-10.02)	0,136	2.87 (1.84-4.75)	2.24 (1.49-3.74)	0,136
PLA2G4B	3.31 (2.14-7.12)	2.98 (1.37-4.63)	0,235	5.74 (3.71-12.37)	5.17 (2.38-8.04)	0,235
PLA2G4C	3.04 (1.65-5.40)	2.05 (1.06-3.23)	0,039	5.12 (2.77-9.07)	3.45 (1.78-5.43)	0,039
PLA2G4D	3.95 (1.71-24.49)	4.60 (1.07-16.11)	0,513	2.24 (0.97-13.88)	2.61 (0.61-9.13)	0,513
PLA2G4E	5.69 (1.99-15.97)	3.63 (1.17-8.23)	0,064	20.62 (7.21-57.91)	13.15 (4.24-29.84)	0,064
PLA2G4F	5.05 (2.81-7.27)	3.49 (2.31-5.96)	0,154	4.76 (2.65-6.86)	3.29 (2.18-5.62)	0,154
PLA2G6	4.91 (3.08-8.49)	4.15 (3.16-7.45)	0,387	11.22 (7.03-19.41)	9.50 (7.22-17.04)	0,387
PLA2G7	2.31 (1.05-7.42)	2.37 (1.35-4.99)	0,909	2.73 (1.24-8.77)	2.80 (1.59-5.89)	0,909
PLA2G16	7.59 (3.97-13.11)	4.20 (2.14-8.96)	0,029	4.72 (2.47-8.15)	2.61 (1.33-5.57)	0,029
PNPLA1	1.24 (0.76-2.88)	1.30 (0.59-2.47)	0,386	3.11 (1.89-7.19)	3.26 (1.47-6.17)	0,386
PNPLA2	8.89 (5.16-15.18)	9.52 (4.46-16.85)	0,774	6.37 (3.69-10.86)	6.81 (3.19-12.06)	0,774

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney

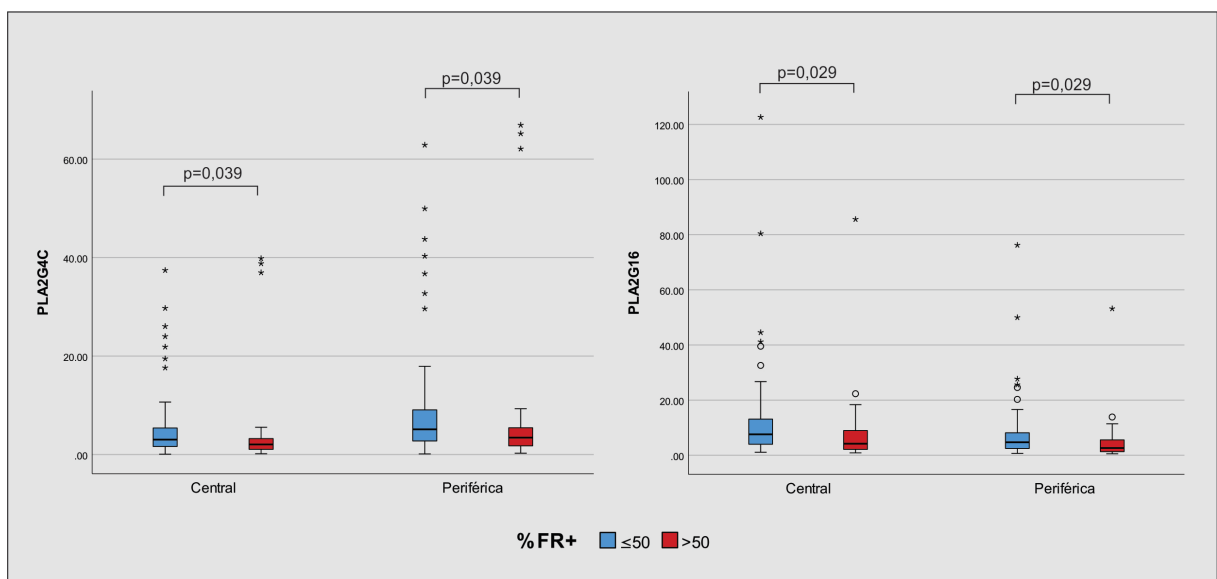


Figura 12: Distribuição da expressão relativa de PLA2G4C e PLA2G16 no CaP de acordo com porcentagem de fragmentos de biópsia positivos estratificada segundo tipo de controle.

Na Tabela 12 e Figura 13 estão expostos a distribuição das PLA₂ em relação ao grau histológico ISUP. A PLA₂G₂D apresentou maior expressão entre os indivíduos com maior grau ISUP (2 a 5) independentemente do controle utilizado. A análise que considerou a classificação ISUP de acordo com cada categoria entre 1 e 5 não mostrou diferença estatisticamente significativa.

Tabela 12: Distribuição da expressão das PLA₂ no CaP de acordo com a classificação ISUP estratificada segundo tipo de controle.

	Central			Periférica		
	ISUP 1	ISUP 2 a 5	p-valor	ISUP 1	ISUP 2 a 5	p-valor
	Mediana (IIQ)			Mediana (IIQ)		
PLA2G1B	1.62 (1.13-3.25)	1.99 (1.04-3.97)	0,702	7.77 (4.37-14.60)	7.77 (4.84-16.98)	0,702
PLA2G2A	2.09 (0.50-7.44)	1.10 (0.30-4.43)	0,471	49.35 (11.73-175.34)	25.97 (7.10-104.40)	0,471
PLA2G2D	4.62 (1.02-7.69)	9.09 (3.29-22.83)	0,037	2.60 (0.57-4.32)	5.11 (1.85-12.83)	0,037
PLA2G4A	7.31 (4.06-15.30)	7.39 (4.37-11.61)	0,768	2.73 (1.51-5.71)	2.76 (1.63-4.33)	0,768
PLA2G4B	4.57 (2.48-7.18)	2.77 (1.50-5.49)	0,133	7.93 (4.30-12.48)	4.81 (2.61-9.53)	0,133
PLA2G4C	3.49 (1.89-5.56)	2.51 (1.09-4.08)	0,165	5.87 (3.18-9.34)	4.23 (1.83-6.86)	0,165
PLA2G4D	8.88 (2.25-25.21)	3.73 (1.59-17.99)	0,286	5.03 (1.28-14.29)	2.11 (0.90-10.20)	0,286
PLA2G4E	5.55 (3.49-9.59)	4.10 (1.66-14.87)	0,412	20.13 (12.64-34.78)	14.88 (6.03-53.93)	0,412
PLA2G4F	5.68 (3.54-7.92)	4.22 (2.51-6.44)	0,132	5.36 (3.34-7.47)	3.98 (2.37-6.07)	0,132
PLA2G6	4.52 (3.08-6.87)	4.68 (3.08-8.52)	0,647	10.35 (7.04-15.70)	10.69 (7.03-19.49)	0,647
PLA2G7	2.32 (1.37-5.20)	2.49 (1.13-6.83)	0,896	2.74 (1.61-6.15)	2.95 (1.34-8.07)	0,896
PLA2G16	5.87 (3.39-9.83)	6.93 (3.36-12.65)	0,752	3.65 (2.11-6.11)	4.30 (2.09-7.86)	0,752
PNPLA1	1.78 (0.71-3.18)	1.17 (0.75-2.66)	0,559	4.45 (1.77-7.94)	2.93 (1.88-6.64)	0,559
PNPLA2	7.42 (3.36-18.21)	9.52 (6.09-16.62)	0,384	5.31 (2.40-13.03)	6.81 (4.36-11.89)	0,384

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney

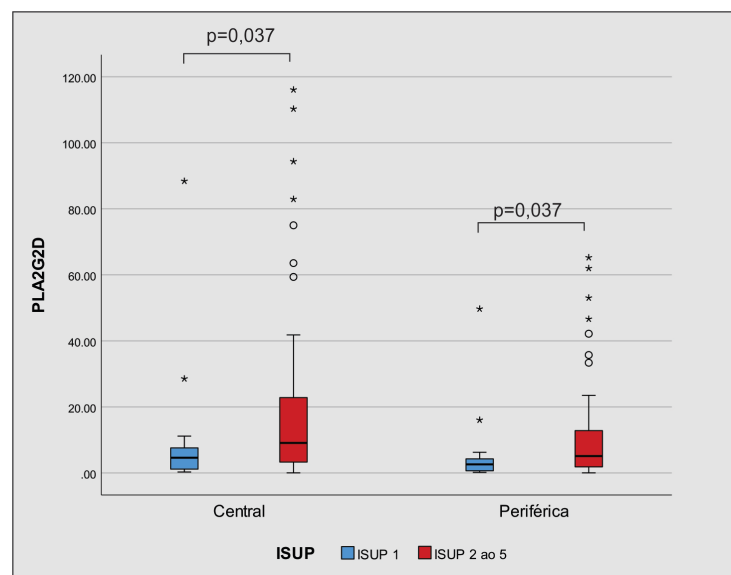


Figura 13: Distribuição da expressão relativa de PLA₂G₂D no CaP de acordo com a classificação ISUP estratificada segundo tipo de controle.

Considerando o estadiamento patológico (pT), a PLA2G4A foi aproximadamente 45% mais superexpressa nos indivíduos pT2 independente do tipo de controle (Tabela 13 e Figura 14).

Tabela 13: Distribuição da expressão das PLA₂ no CaP de acordo com o estadiamento patológico estratificada segundo tipo de controle

	Central			p-valor	Periférica		
	pT2	pT3	p-valor		pT2	pT3	p-valor
	Mediana (IIQ)				Mediana (IIQ)		
PLA2G1B	1.79 (1.18-3.80)	2.01 (1.04-3.53)	0,878	7.77 (4.42-15.40)	8.63 (5.27-15.14)	0,614	
PLA2G2A	0.87 (0.36-4.09)	1.73 (0.31-5.17)	0,494	20.44 (8.52-96.52)	40.82 (7.21-121.94)	0,494	
PLA2G2D	7.89 (3.15-26.06)	6.73 (2.52-15.82)	0,353	4.44 (1.77-14.65)	3.78 (1.42-8.90)	0,353	
PLA2G4A	7.73 (5.51-12.24)	5.37 (3.47-11.61)	0,036	2.88 (2.05-4.57)	2.00 (1.30-4.33)	0,036	
PLA2G4B	3.26 (1.80-6.85)	2.70 (1.84-5.71)	0,537	5.66 (3.13-11.89)	4.70 (3.20-9.92)	0,537	
PLA2G4C	2.64 (1.51-5.31)	2.46 (0.99-4.03)	0,14	4.43 (2.53-8.93)	4.13 (1.67-6.77)	0,140	
PLA2G4D	3.73 (1.65-14.33)	5.66 (1.71-29.98)	0,359	2.11 (0.93-8.12)	3.21 (0.97-16.99)	0,359	
PLA2G4E	5.44 (2.57-12.11)	3.52 (1.31-14.87)	0,215	19.73 (9.32-43.93)	12.78 (4.76-53.93)	0,215	
PLA2G4F	4.90 (2.91-7.24)	4.47 (2.42-6.69)	0,696	4.63 (2.74-6.83)	4.21 (2.28-6.31)	0,696	
PLA2G6	4.62 (2.95-7.45)	4.64 (3.25-8.71)	0,504	10.57 (6.74-17.03)	10.60 (7.43-19.92)	0,504	
PLA2G7	2.18 (1.13-5.77)	2.80 (1.36-8.00)	0,245	2.57 (1.34-6.82)	3.31 (1.60-9.45)	0,245	
PLA2G16	6.56 (3.48-13.57)	6.88 (3.05-10.40)	0,618	4.08 (2.16-8.43)	4.28 (1.89-6.46)	0,618	
PNPLA1	1.21 (0.71-2.70)	1.22 (0.71-2.47)	0,851	3.03 (1.77-6.74)	3.03 (1.77-6.17)	0,851	
PNPLA2	9.62 (5.73-17.07)	8.46 (3.64-15.78)	0,414	6.88 (4.10-12.22)	6.05 (2.60-11.29)	0,414	

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney

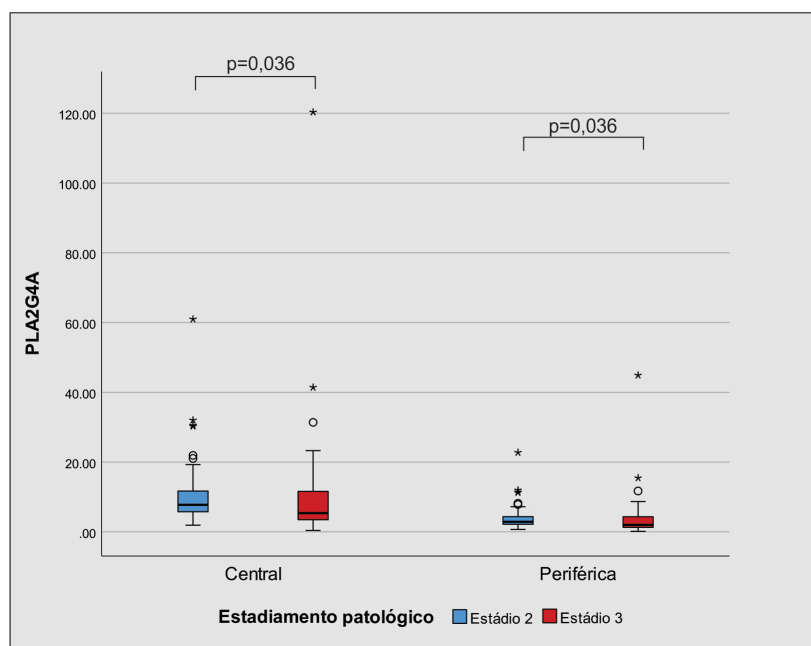


Figura 14: Distribuição da expressão relativa de PLA2G4A no CaP de acordo com o estadiamento patológico estratificada segundo tipo de controle

As PLA₂ no CaP não mostraram diferenças de expressão com significância estatística de acordo com o volume de tumor da peça cirúrgica (Tabela 14) e margem cirúrgica (Tabela 15).

Tabela 14: Distribuição da expressão das PLA₂ no CaP de acordo com o volume tumoral na peça cirúrgica estratificada segundo tipo de controle.

	Central		p-valor	Periférica		p-valor
	<25	≥25		<25	≥25	
	Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)		Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)	
PLA2G1B	1.78(1.04-4.07)	1.99(1.04-3.53)	0,914	8.04(5.06-16.86)	7.52(4.84-15.14)	0,914
PLA2G2A	1.40(0.39-6.47)	1.10(0.36-4.00)	0,454	33.06(9.20-152.64)	25.97(8.39-94.22)	0,454
PLA2G2D	7.38(2.22-20.58)	8.20(4.40-15.82)	0,612	4.15(1.25-11.57)	4.61(2.48-8.90)	0,612
PLA2G4A	7.62(4.77-11.03)	6.05(3.42-13.99)	0,378	2.84(1.78-4.12)	2.26(1.27-5.22)	0,378
PLA2G4B	2.71(1.74-5.96)	4.24(1.84-6.69)	0,335	4.70(3.02-10.35)	7.37(3.20-11.61)	0,335
PLA2G4C	2.58(1.22-4.09)	2.50(1.09-4.51)	0,666	4.34(2.05-6.86)	4.19(1.83-7.58)	0,666
PLA2G4D	3.83(1.80-19.40)	4.81(1.35-33.36)	0,844	2.17(1.02-11.00)	2.72(0.77-18.91)	0,844
PLA2G4E	5.20(1.96-12.11)	3.71(1.38-12.65)	0,454	18.87(7.12-43.93)	13.44(5.00-45.89)	0,454
PLA2G4F	4.98(2.78-7.16)	3.92(2.44-5.88)	0,197	4.70(2.62-6.75)	3.69(2.30-5.54)	0,197
PLA2G6	4.64(3.08-7.99)	4.03(3.02-8.30)	0,714	10.60(7.03-18.28)	9.22(6.91-18.97)	0,714
PLA2G7	2.93(1.38-7.59)	1.81(1.04-6.56)	0,289	3.46(1.63-8.98)	2.14(1.23-7.75)	0,289
PLA2G16	7.04(3.49-10.62)	6.91(3.05-12.94)	0,560	4.37(2.17-6.60)	4.29(1.89-8.04)	0,560
PNPLA1	1.25(0.76-2.97)	1.03(0.58-2.11)	0,221	3.03(1.90-6.96)	2.58(1.46-5.59)	0,221
PNPLA2	9.53(5.16-17.01)	9.90(6.26-18.39)	0,729	6.82(3.69-12.17)	7.08(4.48-13.16)	0,729

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney

Tabela 15: Distribuição da expressão das PLA₂ no CaP de acordo com o status da margem cirúrgica estratificada segundo tipo de controle.

	Central		p-valor	Periférica		p-valor
	Negativo	Positivo		Negativo	Positivo	
	Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)		Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)	
PLA2G1B	2.16(1.18-5.21)	1.89(1.21-3.33)	0,325	8.79(4.47-22.10)	7.59(4.47-14.60)	0,591
PLA2G2A	1.41(0.41-7.44)	0.73(0.25-4.21)	0,200	33.27(9.75-175.34)	17.09(5.92-99.31)	0,200
PLA2G2D	8.19(3.29-24.22)	6.40(2.52-17.06)	0,381	4.61(1.85-13.61)	3.60(1.42-9.59)	0,381
PLA2G4A	6.92(4.83-11.61)	6.88(4.03-10.23)	0,443	2.58(1.80-4.33)	2.57(1.50-3.82)	0,443
PLA2G4B	2.83(1.74-6.79)	3.42(1.66-6.22)	0,619	4.91(3.02-11.79)	5.94(2.89-10.79)	0,619
PLA2G4C	2.63(1.41-4.69)	2.54(1.13-4.66)	0,762	4.42(2.37-7.88)	4.27(1.89-7.83)	0,762
PLA2G4D	5.69(2.02-24.22)	3.27(1.22-18.27)	0,371	3.22(1.15-13.73)	1.85(0.69-10.35)	0,371
PLA2G4E	5.31(1.96-11.66)	4.09(1.63-11.27)	0,610	19.26(7.09-42.28)	14.84(5.91-40.89)	0,610
PLA2G4F	4.83(2.21-6.44)	4.54(3.08-6.69)	0,475	4.55(2.08-6.07)	4.29(2.90-6.31)	0,475
PLA2G6	4.55(2.96-7.38)	4.91(3.20-8.71)	0,403	10.40(6.76-16.88)	11.22(7.31-19.92)	0,403
PLA2G7	2.40(1.10-5.20)	3.41(1.39-8.94)	0,240	2.84(1.30-6.15)	4.03(1.64-10.57)	0,240
PLA2G16	5.78(3.36-14.53)	7.51(3.47-10.20)	0,927	3.59(2.09-9.03)	4.67(2.16-6.34)	0,927
PNPLA1	1.28(0.76-2.70)	1.14(0.62-2.73)	0,773	3.19(1.90-6.74)	2.84(1.54-6.82)	0,773
PNPLA2	8.74(4.06-12.69)	11.26(6.25-18.92)	0,120	6.26(2.91-9.08)	8.06(4.47-13.54)	0,120

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney

As PLA₂ também foram avaliadas conforme a situação dos linfonodos e a PLA2G1B e PLA2G16 apresentaram maior expressão nos casos sem metástases linfonodais (Tabela 16 e Figura 15).

Tabela 16. Distribuição da expressão das PLA₂ no CaP de acordo com a presença de linfonodos positivos estratificada segundo tipo de controle

	Central		p-valor	Periférica		p-valor
	Negativo	Positivo		Negativo	Positivo	
	Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)		Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)	
PLA2G1B	1.94(1.23-3.60)	0.83(0.53-2.24)	0,029	8.32(5.27-15.40)	3.56(2.58-9.61)	0,029
PLA2G2A	1.21(0.31-5.04)	1.10(0.45-2.13)	0,864	28.44(7.21-118.77)	25.97(10.67-50.21)	0,864
PLA2G2D	7.69(3.15-18.33)	4.78(0.26-13.87)	0,159	4.32(1.77-10.30)	2.69(0.14-7.80)	0,159
PLA2G4A	7.54(4.36-11.61)	5.43(3.87-16.46)	0,690	2.81(1.63-4.33)	2.03(1.44-6.14)	0,690
PLA2G4B	2.85(1.86-6.22)	4.62(1.46-6.31)	0,587	4.96(3.23-10.79)	8.02(2.54-10.95)	0,587
PLA2G4C	2.58(1.16-4.51)	2.38(1.47-3.38)	0,807	4.34(1.95-7.58)	4.00(2.47-5.67)	0,807
PLA2G4D	3.89(1.64-19.83)	6.78(1.71-59.35)	0,647	2.20(0.93-11.24)	3.85(0.97-33.64)	0,647
PLA2G4E	4.29(1.79-11.66)	17.07(3.09-18.08)	0,288	15.56(6.51-42.28)	61.91(11.20-65.57)	0,288
PLA2G4F	4.71(2.71-7.08)	4.90(2.20-5.88)	0,959	4.44(2.56-6.68)	4.63(2.07-5.54)	0,959
PLA2G6	4.63(3.08-8.49)	3.94(3.32-6.35)	0,893	10.60(7.03-19.41)	9.02(7.59-14.51)	0,893
PLA2G7	2.70(1.21-7.33)	1.63(1.04-2.24)	0,124	3.19(1.43-8.66)	1.92(1.23-2.65)	0,124
PLA2G16	7.33(3.48-12.65)	3.22(2.01-5.03)	0,039	4.55(2.16-7.86)	2.00(1.25-3.13)	0,039
PNPLA1	1.21(0.68-2.70)	1.61(1.12-2.47)	0,367	3.03(1.69-6.74)	4.02(2.80-6.17)	0,367
PNPLA2	9.41(5.10-16.62)	9.52(1.93-16.94)	0,683	6.74(3.65-11.89)	6.81(1.38-12.13)	0,683

Valor de p baseado no teste de Mann-Whitney

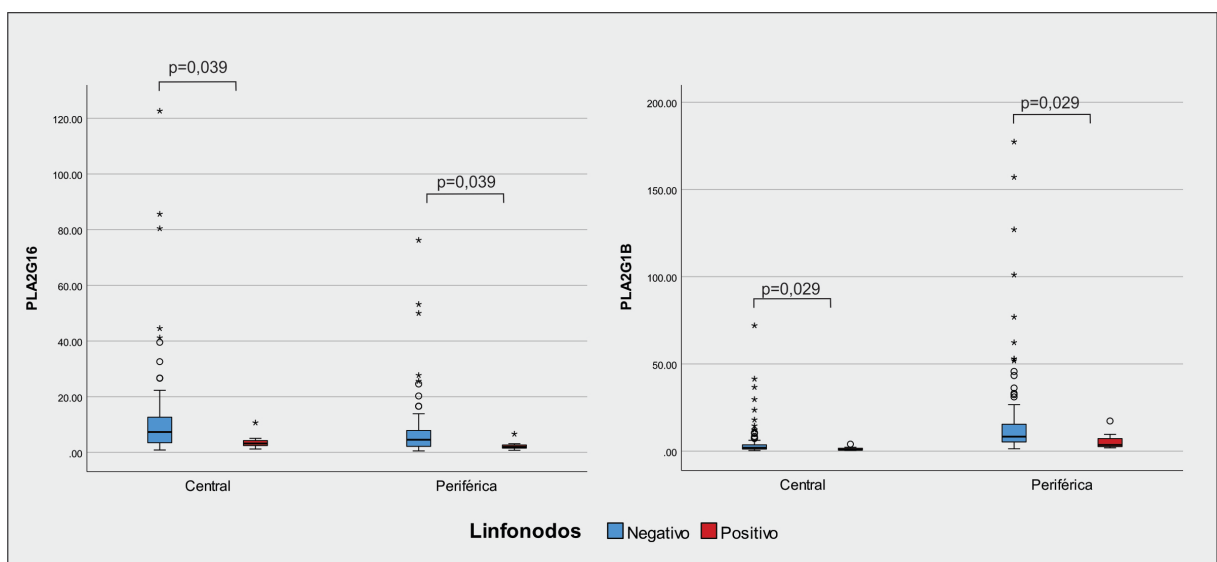


Figura 15: Distribuição da expressão relativa de PLA2G16 e PLA2G1B no CaP de acordo com a presença de linfonodos positivos estratificada segundo tipo de controle.

4.4 Avaliação da expressão das PLA₂ em relação a sobrevida global, livre de recidiva bioquímica e livre de metástases.

Foram avaliados em relação ao comportamento do CaP a sobrevida global cuja referência são os 30 indivíduos que foram a óbito (33%), a sobrevida livre de recidiva bioquímica (RB) cuja referência é a recidiva em 37 casos (38,9%) e o desenvolvimento de metástases, que ocorreu em 16 (18,4%) pacientes (Tabela 16). O tempo médio até o óbito foi de 127,9 meses ($\pm 60,72$ meses), até a recidiva foi de 52,2 meses ($\pm 45,31$ meses) e até o aparecimento de metástases foi de 87,9 meses ($\pm 77,8$ meses).

Na Tabela 16 temos a relação de sobrevida global, apenas a PLA2G7 e a PLA2G16 mostraram potencial de clusterização com significância estatística. A superexpressão destas PLA₂ se relacionaram com menor sobrevida global. No caso da PLA2G7 os grupos classificados abaixo do percentil 75 apresentaram sobrevida média de 211,69 meses enquanto aqueles no percentil 75 ou maior registraram média de 161,47 meses. Em se tratando da PLA2G16 a diferença de sobrevida média entre os percentis foi um pouco menor 206,87 meses versus 177,48 meses (Tabela 16).

Tabela 16: Estimativas de sobrevida global segundo expressão das PLA₂ incluindo erro padrão e intervalo de confiança de 95% e nível descritivo

		Estimativa		IC95%		p-valor
		Média	Erro padrão	Inferior	Superior	
PLA2G1B	Central					
	<p75	199.343	11.007	177.770	220.916	0,388
	\geq p75	202.910	16.324	170.915	234.905	
	Periférica					
<p75	198.200	11.144	176.357	220.043	0,729	
\geq p75	214.448	14.435	186.156	242.740		
PLA2G2A	Central					
	<p75	205.285	10.679	184.354	226.215	0,300
	\geq p75	172.065	23.924	125.175	218.956	
	Periférica					
<p75	204.722	10.716	183.719	225.725	0,388	
\geq p75	174.014	23.924	127.123	220.905		
PLA2G2D	Central					
	<p75	203.911	11.425	181.518	226.303	0,610
	\geq p75	183.030	17.019	149.672	216.387	
	Periférica					
<p75	203.911	11.425	181.518	226.303	0,610	
\geq p75	183.030	17.019	149.672	216.387		

PLA2G4A	Central					
	<p75	199.761	11.314	177.586	221.936	0,825
	≥p75	192.276	16.877	159.196	225.355	
	Periférica					
<p75	198.307	11.396	175.971	220.643	0,760	
≥p75	192.276	16.877	159.196	225.355		
PLA2G4B	Central					
	<p75	205.415	11.847	182.195	228.635	0,254
	≥p75	190.512	17.440	156.330	224.694	
	Periférica					
<p75	205.415	11.847	182.195	228.635	0,254	
≥p75	190.512	17.440	156.330	224.694		
PLA2G4C	Central					
	<p75	195.808	10.937	174.371	217.244	0,750
	≥p75	215.613	13.906	188.359	242.868	
	Periférica					
<p75	195.808	10.937	174.371	217.244	0,750	
≥p75	215.613	13.906	188.359	242.868		
PLA2G4D	Central					
	<p75	198.125	10.637	177.276	218.973	0,627
	≥p75	208.565	16.608	176.014	241.116	
	Periférica					
<p75	196.510	10.595	175.743	217.276	0,373	
≥p75	214.336	16.405	182.182	246.489		
PLA2G4E	Central					
	<p75	189.286	10.603	168.505	210.067	0,758
	≥p75	217.219	17.561	182.800	251.638	
	Periférica					
<p75	189.286	10.603	168.505	210.067	0,758	
≥p75	217.219	17.561	182.800	251.638		
PLA2G4F	Central					
	<p75	203.325	10.554	182.640	224.011	0,370
	≥p75	145.859	9.412	127.413	164.306	
	Periférica					
<p75	203.325	10.554	182.640	224.011	0,370	
≥p75	145.859	9.412	127.413	164.306		
PLA2G6	Central					
	<p75	206.310	10.806	185.131	227.489	0,591
	≥p75	177.391	19.518	139.136	215.646	
	Periférica					
<p75	206.310	10.806	185.131	227.489	0,591	
≥p75	177.391	19.518	139.136	215.646		
PLA2G7	Central					
	<p75	211.690	11.191	189.756	233.625	0,048
	≥p75	161.481	15.630	130.846	192.115	
	Periférica					
<p75	211.690	11.191	189.756	233.625	0,048	
≥p75	161.481	15.630	130.846	192.115		
PLA2G16	Central					
	<p75	206.871	11.947	183.454	230.288	0,049
	≥p75	177.483	16.829	144.499	210.468	
	Periférica					
<p75	206.871	11.947	183.454	230.288	0,049	
≥p75	177.483	16.829	144.499	210.468		
PNPLA1	Central					
	<p75	208.382	11.397	186.044	230.721	0,256
	≥p75	148.952	11.185	127.029	170.874	
	Periférica					
<p75	208.382	11.397	186.044	230.721	0,114	
≥p75	143.822	11.704	120.881	166.762		
PNPLA2	Central					
	<p75	199.537	11.375	177.243	221.831	0,613
	≥p75	194.298	18.188	158.649	229.947	
	Periférica					
<p75	199.537	11.375	177.243	221.831	0,613	
≥p75	194.298	18.188	158.649	229.947		

Valor de p baseado no teste de log-Rank

Foi realizado um modelo de regressão de Cox para avaliar a significância das expressões destas PLA₂ na sobrevida global com alguns fatores classicamente associados a este estado. Não foi observada capacidade preditiva independente dos fatores avaliados. As estimativas brutas e ajustadas de HR segundo expressão de PLA2G7 e PLA2G16 podem ser vistos nos anexos 3 e 4.

Em relação a sobrevida livre de recidiva bioquímica, a PLA2G4B mostrou potencial de predição com significância estatística. Os grupos classificados acima da mediana apresentaram sobrevida média de 204,7 meses e aqueles abaixo apresentaram recidiva 50 meses antes do grupo de referência (Tabela 17).

Tabela 17: Estimativas de sobrevida livre de recidiva bioquímica segundo expressão das PLA₂ incluindo erro padrão e intervalo de confiança de 95% e nível descritivo.

		Estimativa		IC95%		p-valor
		Média	Erro padrão	Inferior	Superior	
PLA2G1B	Central					
	<p50	169.884	15.971	138.580	201.188	0,837
	≥p50	185.042	16.004	153.674	216.410	
	Periférica					
<p50	167.812	16.274	135.915	199.710	0,735	
≥p50	187.131	15.655	156.448	217.814		
PLA2G2A	Central					
	<p50	193.968	15.593	163.406	224.530	0,136
	≥p50	155.910	14.988	126.534	185.287	
	Periférica					
<p50	193.968	15.593	163.406	224.530	0,136	
≥p50	155.910	14.988	126.534	185.287		
PLA2G2D	Central					
	<p50	192.397	15.947	161.141	223.653	0,205
	≥p50	161.839	16.321	129.850	193.828	
	Periférica					
<p50	193.749	15.764	162.852	224.646	0,180	
≥p50	161.839	16.321	129.850	193.828		
PLA2G4A	Central					
	<p50	165.959	17.786	131.099	200.819	0,352
	≥p50	188.147	14.134	160.445	215.850	
	Periférica					
<p50	160.900	18.566	124.510	197.289	0,274	
≥p50	186.376	14.004	158.927	213.825		

PLA2G4B	Central					
	<p50	152.189	18.697	115.543	188.836	
	≥p50	204.709	13.455	178.337	231.081	0,010
	Periférica					
PLA2G4C	<p50	169.188	17.563	134.766	203.611	
	≥p50	181.159	14.752	152.245	210.073	0,491
	Periférica					
	<p50	169.188	17.563	134.766	203.611	0,491
PLA2G4D	<p50	154.450	17.025	121.080	187.820	
	≥p50	197.849	14.994	168.462	227.237	0,094
	Periférica					
	<p50	154.450	17.025	121.080	187.820	0,094
PLA2G4E	<p50	169.685	16.269	137.799	201.572	
	≥p50	188.269	16.912	155.122	221.417	0,678
	Periférica					
	<p50	171.460	16.074	139.956	202.965	0,738
PLA2G4F	<p50	163.725	15.793	132.770	194.680	
	≥p50	191.022	16.736	158.219	223.824	0,249
	Periférica					
	<p50	163.725	15.793	132.770	194.680	0,249
PLA2G6	<p50	167.885	17.130	134.310	201.461	
	≥p50	189.295	14.453	160.967	217.622	0,290
	Periférica					
	<p50	167.885	17.130	134.310	201.461	0,290
PLA2G7	<p50	176.547	15.151	146.850	206.244	
	≥p50	180.205	16.561	147.746	212.663	0,778
	Periférica					
	<p50	176.547	15.151	146.850	206.244	0,778
PLA2G16	<p50	186.990	16.364	154.917	219.064	
	≥p50	165.962	16.002	134.598	197.325	0,125
	Periférica					
	<p50	190.697	15.808	159.714	221.680	0,077
PNPLA 1	Central					
	<p50	174.275	17.349	140.270	208.280	0,445

	≥p50	189.726	14.651	161.010	218.443	
	Periférica					
	<p50	170.648	18.859	133.684	207.612	0,459
	≥p50	187.302	15.161	157.587	217.017	
PNPLA2	Central					
	<p50	162.619	17.004	129.290	195.947	0,669
	≥p50	187.494	15.572	156.972	218.016	
	Periférica					
	<p50	162.619	17.004	129.290	195.947	0,669
	≥p50	187.494	15.572	156.972	218.016	

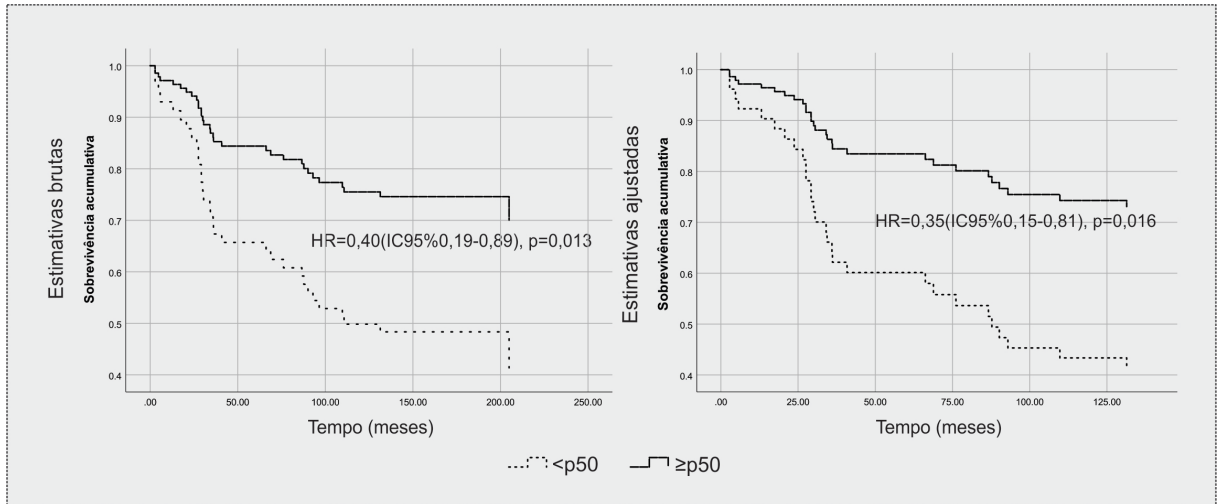
Valor de p baseado no teste de log-Rank

Foi realizado um modelo de regressão de Cox para avaliar o impacto da expressão de PLA2G4B na sobrevida livre de recidiva bioquímica (Tabela 18). A expressão de PLA2G4B foi independentemente associada a menor taxa de recidiva HR: 0,356 (IC95% 0,154 - 0.824). Na mesma análise, observou-se também que PSA ≥ 10 impactou em maior taxa de recidiva HR: 2.31 (IC95% 1.09 - 4.92). Na Figura 16 é possível verificar as estimativas brutas e ajustadas de HR para a expressão de PLA2G4B, em ambos os casos (ajustado e não ajustado) a estimativa de risco foi estatisticamente significativa. A metástase embora tenha ocorrido em frequência significativa não esteve associado com a expressão de nenhuma das fosfolipases avaliadas neste estudo.

Tabela 18: Efeito da expressão de PLA2G4B na recidiva bioquímica incluindo estimativa de hazard ratio, erro padrão e intervalo de confiança de 95% e nível descritivo ajustado para características clínicas e patológicas.

	B	SE	p-valor	HR	IC95%	
					Inferior	Superior
PSA ≥ 10	0.841	0.384	0.028	2.319	1.093	4.923
%FR+ > 50	-0.644	0.461	0.162	0.525	0.213	1.296
ISUP 2 a 5	0.428	0.586	0.466	1.533	0.486	4.836
pT3	-0.363	0.426	0.394	0.695	0.302	1.603
%Tumor ≥ 25	0.289	0.501	0.563	1.336	0.500	3.564
Margem cirúrgica +	0.100	0.424	0.814	1.105	0.481	2.537
PLA2G4B $\geq p50$	-1.034	0.429	0.016	0.356	0.154	0.824

A expressão das PLA₂ independeu do tipo controle (central ou periférico)



As estimativas foram ajustadas para PSA, %FR+, ISUP estadiamento patológico, % do volume do tumor e margem cirúrgica.

Figura 16: Função de sobrevida livre de recidiva bioquímica bruta e ajustada de PLA2G4B no CaP ajustado para características clínicas e patológicas

5. Discussão

5. Discussão

Descrevemos pela primeira vez um painel amplo de expressão de fosfolipases no CaP e demonstramos a sua associação com fatores prognósticos favoráveis algo não descrito na literatura até o momento. Nosso estudo apontou a relação entre a superexpressão das fosfolipases citosólicas (cPLA₂) com fatores de bom prognóstico, onde a PLA2G4A associou-se com o menor estadiamento patológico (pT2), a PLA2G4C com menor porcentagem de fragmentos positivos na biópsia, PLA2G4D com menores níveis de PSA e com maior destaque a PLA2G4B com maior sobrevida livre de recidiva bioquímica. Também se relacionaram com fatores de bom prognóstico a PLA2G16 que foi associada com a ausência de metástases linfonodais e com uma menor porcentagem de fragmentos positivos e a PLA2G2A com menores níveis de PSA e PLA2G1B com a ausência de metástases linfonodais.

Para a avaliação Inicial, para a determinação do melhor controle a ser utilizado, realizamos a análise e seleção de dois tipos de amostras, da zona central de pacientes com HPB e amostras da zona periférica de pacientes que realizaram biópsia de próstata, cujo resultado histológico foi benigno. Sendo os níveis de expressão de PLA₂ distintos nos compartimentos prostáticos, acreditamos que a utilização de dois controles nos possibilitaria um dado mais exato para a compreensão de seu papel no CaP. Nossos resultados, entretanto, foram semelhantes, então acreditamos que esse cuidado não seja mais necessário nos próximos estudos.

Em nosso objetivo primário, da análise abrangente a expressão das PLA₂ no CaP, conseguimos demonstrar o aumento da expressão de todas as quatorze fosfolipases estudadas nos tecidos de CaP em comparação com o tecido prostático normal, o que pode torná-la um potencial marcador tumoral diagnóstico para o CaP.

Na literatura nem todas estas fosfolipases foram descritas como superexpressas no CaP (73).

A classe com maior destaque em nosso trabalho foi a das fosfolipases citosólicas (cPLA₂), que possui como destaque a PLA2G4A com vários trabalhos que a relaciona com o CaP (57, 60, 65, 74), porém as demais cPLA₂ são pouco descritas na literatura quando relacionadas ao CaP (74, 116, 117).

Iniciaremos falando da PLA2G4B que apresentou o resultado que consideramos o mais relevante em nosso estudo. A PLA2G4B, tem um domínio Jumonji C (JmjC) antes do domínio C2, diferentemente das demais cPLA₂ e está agrupada no mesmo locus cromossômico da PLA2G4D, PLA2G4E e PLA2G4F, sugerindo uma relação evolutiva mais próxima destas fosfolipases. É uma fosfolipase dependente de cálcio e tem como característica a hidrólise seletiva do AA. Já foi descrita na literatura em tecidos humanos, como cérebro, pâncreas, fígado e coração, mas sem relatos no CaP (74, 118). A expressão PLA2G4B se relacionou em nosso estudo com uma maior sobrevida livre de recidiva bioquímica, quando comparada com o grupo de menor expressão que apresentou recidiva 50 meses antes. A análise ajustada para características clínicas e patológicas, demonstra maior sobrevida livre de recidiva bioquímica nos pacientes com maior expressão da PLA2G4B com uma razão de risco (hazard ratio) de 0,35. A explicação para este resultado continua incerta devido a ausência de mais estudos sobre a PLA2G4B na literatura principalmente relacionando-a com o CaP (74, 116, 117). No entanto, a presença do domínio JmjC, presente nestas fosfolipases, pode ter relação na diminuição da progressão tumoral neste grupo de pacientes.

O domínio Jumonji C é uma família de enzimas redutoras, capaz de realizar reações oxidativas entre elas com a desmetilação de histonas e foram identificadas

inicialmente em bactérias junto a proteína Jumonji (proteína cruciforme em japonês) (119). Esta desmetilação caracteriza um fenômeno epigenético relacionado a ativação e/ou o silenciamento de genes (120). Sabe-se que o ciclo celular pode sofrer uma parada estável conhecida como senescência (52), esta parada pode ser tanto promotora, como supressora tumoral, sendo mediada principalmente pelo p53 (121). No carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço a ablação da proteína de fusão JMJD7-PLA2G4B possibilitou a inibição da proliferação celular induzida por inanição. Esta mesma proteína regulou também fases do ciclo celular (122). As desmetilases JmjC já se mostraram supressoras tumorais inclusive no CaP em alguns estudos (121, 123). A presença do JmjC pode ser a chave para desencadear um silenciamento do gene com a senescência celular possibilitando a não progressão do CaP, algo não descrito até o momento e nem relacionado a PLA2G4B.

A PLA2G4A é a fosfolipase citoplasmática mais estudada na literatura e ela possui como características um domínio C2 N-terminal que se liga a dois íons de cálcio (Ca^{2+}) e está situada dentro do citoplasma celular. Ela tem uma grande seletividade para hidrolisar o AA e desempenha um papel central na biossíntese dos eicosanoides (124). A PLA2G4A foi associada com a patogênese de muitos tumores, inclusive o de próstata sendo descrita em linhagens celulares de CaP hormônio resistentes, onde a sua inibição resultou em uma menor taxa de crescimento tumoral (60). A superexpressão da PLA2G4A aumenta a atividade e liberação do AA nas linhagens PC3 e LNCaP e a inibição por silenciamento genético suprimiu a sua atividade e a produção do AA com redução dos níveis da proteína quinase B e por consequente a proliferação celular (105). Também foi demonstrado que o bloqueio farmacológico da PLA2G4A inibe a reentrada no ciclo celular do CaP em células PC3 e LNCaP quiescentes (125).

Em contrapartida, Dong et al. demonstraram que a eliminação do mRNA da PLA2G4A com um siRNA ou também com um inibidor da PLA2G4A (Efipladib) nas células PC3 e LNCaP, ocasionava uma diminuição de mais de 80% na expressão da PLA2G4A, no entanto, esta inibição levou a um aumento nos níveis da COX-1 e PGE₂ em ambas as linhagens celulares, com o uso do Efipladib ocorreu também o aumento da expressão da COX-2 (59). Este aumento dos eicosanoides nas células do CaP podem ocorrer após a supressão da PLA2G4A e assim promover a proliferação, motilidade, angiogênese e a invasão celular tumoral no CaP (54, 59). O que corrobora com o nosso achado de maior expressão da PLA2G4A em pacientes com doença órgão-confinada (pT2), porém vai contra outros achados descritos na literatura. Esses resultados conflitantes sugerem que a regulação de PLA2G4A seja por inibidores ou por metabólitos de AA pode ter uma relação tanto promotora como inibidora da proliferação celular no tumor. Mais estudos sobre esta fosfolipase devem ser feitos para tentar elucidar estas dúvidas.

A PLA2G4C, também superexpressa no CaP, foi associada com a menor porcentagem de fragmentos positivos na biópsia pré-operatória. A PLA2G4C é encontrada principalmente no músculo esquelético e cardíaco porém diferente das demais cPLA₂, não possui o domínio C2 (126, 127) e está constitutivamente ligada e envolvida na remodelação da membrana (128). Temos relatos da sua expressão em células mononucleares do sangue em asmáticos (129), porém pouco se sabe sobre a esta cPLA₂ na próstata.

A PLA2G4D em nosso estudo foi relacionada com PSA < 10ng/mL. A PLA2G4D foi descrita e expressa em tecidos epiteliais normais e psoriáticos como também no epitélio escamoso estratificado do colo do útero, pele fetal e também na próstata. Ela possui um domínio C2 conservado junto com um domínio de fosfolipase como todas

em seu grupo, mas com maior semelhança com a PLA2G4B. Existem poucos relatos sobre esta fosfolipase hoje na literatura (116, 126, 130).

Outra classe de fosfolipases que se destacou foram as sPLA₂ que se relacionaram tanto com fatores favoráveis como desfavoráveis.

A PLA2G2A é uma fosfolipase encontrada em ambientes extracelulares sendo dependente de cálcio e está envolvida na patogênese de doenças inflamatórias, com promoção da angiogênese e proliferação celular, contribuindo para a evolução dos tumores assim como no CaP (53, 55, 65, 88). Foi estudada e relacionada com o CaP em 2002 por Graff e colaboradores, que utilizaram linhagens celulares tecido de HPB e CaP, demonstrando um aumento de sua expressão em linhagens celulares de maior agressividade e com Gleason ≥ 7 (75%)(87). Em nosso trabalho, demonstramos a superexpressão da PLA2G2A no tecido de CaP e a sua associação como níveis de PSA abaixo de 10 ng/mL, porém não houve relevância estatística quando comparada com o grau histológico ou estadiamento patológico.

Sved e Dong et al. avaliaram a expressão das sPLA₂ em pacientes com CaP tratados com terapia hormonal e demonstraram que a expressão da PLA2G2A foi 22x maior no CaP quando comparada com a próstata normal em uma análise realizada através do banco de expressão gênica (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE/>). Os resultados foram compatíveis com que encontramos, porém, utilizamos espécimes clínicos de CaP. Eles avaliaram também a expressão da PLA2G2A após a terapia hormonal e esta se mostrou dependente de andrógenos (53, 65).

A avaliação da expressão de PLA2G2A foi descrita por IHQ em tecidos de CaP após terapia hormonal antes da Prostatectomia radical e identificou a permanência da superexpressão nas células do CaP remanescentes após o bloqueio androgênico (53). Também avaliou a possibilidade do bloqueio da PLA2G2A com um anti-

PLA2G2A com efeitos anticancerígenos em tumores de pulmão (131), porém sem resultados efetivos no CaP (88). E aumento plasmático da PLA2G2A em pacientes com CaP em estádios avançados também foi relatada por Oleksowicz et. al.(93).

Este crescente aumento da associação da PLA2G2A com o CaP gerou a possibilidade de utilizá-la como um potencial alvo terapêutico ou como biomarcador para o CaP, no auxílio do diagnóstico precoce de tumores mais agressivos e com maior significância clínica. Foi demonstrada a possibilidade de terapia alvo com a PLA2G2A ao realizar a entrega de nanopartículas de conversão ascendente (UCNPs) para as células de CaP (132). Porém, até o momento, o uso de inibidores da PLA2G2A em humanos ainda acarretam efeitos adversos, não sendo recomendada (73).

Os resultados descritos na literatura relacionam a PLA2G2A com o CaP mais agressivo, com a maior progressão tumoral e resistência androgênica. Porém, o nosso resultado inicial relacionou a PLA2G2A com PSA < 10ng/mL, um fator de melhor prognóstico se avaliado única e exclusivamente. Se a relacionarmos com o que temos na literatura, podemos acreditar que tal relação com o PSA pode não ser de forma benéfica e sim relacionada com casos de maior gravidade e com menor elevação do PSA.

A PLA2G2D é outra fosfolipase secretora extracelular que muito se assemelha a PLA2G2A (104), foi relacionada em nosso estudo com o grau histológico mais agressivo (ISUP 2-5), mostrando assim um potencial marcador de pior prognóstico.

Esta fosfolipase é expressa principalmente em células dendríticas e macrófagos, pouco descrita no tecido prostático benigno (104). Relatos na literatura a relacionam principalmente com a resposta imune associado a processos inflamatórios da pele, como a psoríase (133), em pacientes com doença pulmonar

obstrutiva crônica (DPOC) (134) e também a relacionam com a perda excessiva de massa muscular nestes pacientes (135).

No câncer a PLA2G2D foi relacionada com tumores de pele, acelerando o seu desenvolvimento por atenuar a imunidade antitumoral (133). Teve a sua expressão aumentada em 23x na mucosa colorretal normal, quando comparada com o adenocarcinoma de cólon, sugerindo que o aumento da expressão da PLA2G2D seja um possível fator protetor neste grupo de pacientes (82). A sua descrição mais próxima do trato urogenital foi no espermatozoide humano, mas sem descrições no CaP até o momento (136).

Outra sPLA₂ que apresentou destaque foi a PLA2G1B, entre as secretoras é a mais antiga e está normalmente expressa nas células acinares pancreáticas, com alguma distribuição nos rins e pulmões. Foi relacionada com obesidade e com a intolerância a glicose. A sua inibição preveniu a obesidade em camundongos (137). Está associada ao câncer colorretal (138) e pancreático (139), mas sem relatos na próstata. Em nosso estudo ela foi superexpressa nos tecidos de CaP e também nos pacientes com ausência de metástases linfonodais.

Outra fosfolipase que se relacionou com fatores de bom prognóstico em nosso estudo foi a PLA2G16 uma fosfolipase adipose específica (AdPLA), normalmente presente nos adipócitos, mas que desempenha um papel importante no fornecimento de AA para a síntese de prostaglandinas, promotores tumorais (117). Entretanto, a PLA2G16 também descrita na literatura como H-REV107, foi relacionada pela primeira vez como uma supressora de tumor (140), apenas em 2008 foi descrita como sendo uma PLA₂ (141). Foi relacionada como supressora tumoral, regulando negativamente o desenvolvimento tumoral, como no câncer de mama onde o sua expressão se relacionou com melhora da sobrevida livre de doença (142), o mesmo

ocorreu em tumores de nasofaringe (143). A perda de sua expressão foi relacionada, em linhagens celulares, com a progressão de neoplasias como o melanoma, carcinoma de pulmão, gástrico, renal e fibrossarcoma (144). No entanto, no osteossarcoma, a PLA2G16 foi mais expressa em pacientes com metástases e menor sobrevida, sendo relacionada como fator prognóstico independente para avaliar sobrevida global nestes pacientes (145). O mesmo ocorreu em tumores de pulmão não pequenas células, onde não se mostrou como supressora tumoral (146).

A expressão da PLA2G16 no CaP foi avaliada por Jarrard e colaboradores tanto em tecidos como na urina, onde dividiram os pacientes em grupos; com tumor, com tecido normal adjacente aos focos de tumor (2mm), com tecido normal mais distante dos focos de tumor (10mm) e com tecido normal sem tumor. Foram então avaliadas a expressão através da metilação do DNA entre os grupos. Encontrou-se uma expressão da PLA2G16 significativamente reduzida em tecidos tumorais e adjacentes ao tumor em comparação com o tecido normal, demonstrando a possibilidade da PLA2G16 como gene supressor tumoral no CaP. Assim, uma regulação negativa desse gene pode desencadear um papel na carcinogênese multifocal do CaP (147).

Estes resultados vão de encontro com a nossa análise, onde o aumento da expressão da PLA2G16 se relacionou com uma menor porcentagem de fragmentos positivos na biópsia e com a ausência de metástase linfonodal, fatores de bom prognóstico nestes pacientes. Isto demonstra um papel importante como oncogene da PLA2G16 e esta relação com a progressão tumoral talvez esteja relacionado especificamente ao tipo de tumor.

Por fim, ocorreu aumento da expressão da PLA2G7 nos tecidos de CaP em nosso estudo e na análise univariada, apresentou associação com a piora da sobrevida global juntamente com a PLA2G16, no entanto na análise multivariada

ajustada, estas duas PLA₂ não apresentaram significância estatística. A PLA2G7 demonstrou uma possível tendência, mas que necessitaria provavelmente de um número maior de amostras para tentar confirmar tal hipótese.

Na literatura existem poucos artigos que relacionam a PLA2G7 com o CaP. Vainio et al. identificaram o aumento da expressão da PLA2G7 no CaP positivo para oncogene ERG em um banco genético de tecidos e em amostras de CaP, apresentando um importante vínculo funcional entre eles. Também identificou o aumento da expressão da PLA2G2A e PLA2G7 no CaP, sugerindo a possibilidade do uso da PLA2G7 como biomarcador e como possível alvo terapêutico no CaP (62). A expressão PLA2G7 foi avaliada através da IHQ em 453 pacientes com CaP, comparando com tecido adjacente da próstata sem malignidade. Os resultados indicaram que a PLA2G7 é um biomarcador seletivo em 50% dos CaP e foi associado a doença mais agressiva e com menor sobrevida. O silenciamento da PLA2G7 foi avaliado e potencializado com o uso de estatinas redutoras de lipídios em células de CaP demonstrando uma possível abordagem terapêutica antiproliferativa nos tumores de próstata (94). Nós identificamos o aumento da expressão da PLA2G7 nas amostras de CaP. Porém, não associamos a PLA2G7 com os fatores prognósticos.

Assim, o nosso trabalho se destaca principalmente por ser o primeiro a descrever fosfolipases que podem caracterizar um tumor de próstata de menor agressividade e de melhor prognóstico, apontando uma maior sobrevida livre de recidiva nestes pacientes, o que possibilita uma melhor tomada de decisão no acompanhamento clínico e oncológico no CaP. O nosso estudo tem como força também, o longo período de acompanhamento destes pacientes com média de quase 14 anos de acompanhamento, o que é muito relevante nos casos de CaP.

Hoje com a advento da vigilância ativa no acompanhamento dos pacientes com CaP de muito baixo risco, a possibilidade de um novo marcador para o auxílio no manejo destes pacientes, pode ser de extrema importância para predizer a evolução destes tumores. A possibilidade no uso das fosfolipases no manejo clínico e cirúrgico dos pacientes com CaP nos deixa mais otimistas no aprimoramento de novos marcadores prognósticos.

Por outro lado, reconhecemos algumas limitações em no nosso trabalho, por se tratar de um estudo longitudinal retrospectivo, apresenta limitações quanto a seleção dos casos avaliados, qualificamos o nosso estudo como sendo um gerador de hipóteses. O número de casos avaliado é relativamente pequeno, porém semelhante ao descrito em outros trabalhos na literatura. Outro limitante foi a não avaliação plasmática da atividade das fosfolipases nestes pacientes, o que deve ser um próximo passo deste trabalho. Assim, torna-se necessário a confirmação dos nossos resultados em estudos prospectivos com o emprego de outras formas de avaliação da expressão e atividade das PLA₂ para então confirmar as hipóteses levantadas neste estudo.

Acreditamos que o emprego clínico das fosfolipases pode auxiliar na avaliação prognóstica dos pacientes com CaP, ajudando a predizer os pacientes com menor agressividade do tumor e com menor risco de recorrência e assim com melhor evolução, melhorando o controle evolutivo do câncer de próstata. Uma outra possibilidade é o emprego destas PLA₂ em terapias alvo contra o CaP, mas para isso mais estudos devem ser realizados.

6. Conclusão

6. Conclusão

Confirmamos a superexpressão de todas as fosfolipases estudadas no CaP comparando-as com dois controles de diferentes zonas da próstata benigna, demonstrando o importante papel das PLA₂ na carcinogênese do câncer de próstata.

A superexpressão das cPLA₂ receberam maior destaque em nosso estudo com a PLA2G4A, PLA2G4B, PLA2G4C e PLA2G4D que se relacionaram com o CaP de forma benéfica, caracterizando tumores de melhor prognóstico e melhor sobrevida livre de recidiva, algo inédito na literatura. Da mesma forma a expressão de outras fosfolipases como PLA2G1B e PLA2G16 também foram associadas com tumores de menor agressividade.

Demostramos que apesar das diferenças de expressão, considerando a ZC e ZP da próstata, em relação aos genes estudados, os resultados foram os mesmos quando avaliamos os fatores prognósticos e a evolução do CaP, demonstrando que ambos os controles podem ser utilizados em estudos de genes.

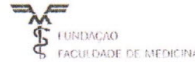
Muitos dos nossos resultados corroboraram com a literatura atual, onde apresentamos novos dados relacionando as fosfolipases com os principais fatores prognósticos do câncer de próstata.

Por fim, a identificação de fosfolipases que se relacionam com CaP de menor agressividade e com um melhor prognóstico, possibilita uma nova opção no acompanhamento de pacientes em vigilância ativa, auxiliando também, na tomada de decisão dos pacientes já submetidos aos tratamentos atuais.

7. Anexos

7. Anexos

Anexo 1: Submissão pelo comitê de Ética e Pesquisa do HCFMUSP



São Paulo, 03 de Janeiro de 2017

Registro: NP 1003/2016

Ref. Solicitação de execução de estudo: **Análise da expressão e atividade de Fosfolipases A2 como diagnóstico e marcador prognóstico no Câncer de Próstata.**

Pesquisador Responsável: Dra. Katia Ramos Leite
Pesquisador Executante: Dr. Saulo da Cunha Recuero

CONSIDERAÇÕES

O objetivo do estudo é avaliar os níveis de expressão de sPLA2, cPLA2 e iPLA2 no tecido tumoral e a atividade de sPLA2, cPLA2 e iPLA2 simultaneamente em plaquetas e tecido tumoral de indivíduos com câncer de próstata.

Para a análise de expressão das sPLA2, cPLA2 e iPLA2 utilizaremos um fragmento de tecido tumoral prostático armazenado a -170°C de 100 indivíduos que foram tratados com prostatectomia radical.

Para isso utilizaremos nosso biorepositório contendo fragmentos de glândulas prostáticas, coletadas desde 1998 que contém mais de 3000 espécimes. Todos os pacientes foram tratados e acompanhados pelo Prof. Miguel Srougi.

A atividade de sPLA2, cPLA2 e iPLA2 será realizada em estudo prospectivo onde o tecido tumoral e o sangue periférico serão colhidos simultaneamente durante o ato cirúrgico para que haja a comparação entre atividade das enzimas nos dois compartimentos.

Esses pacientes serão aqueles operados no ICESP sob o comando do Prof. Willian Nahas.

Como controle utilizaremos tecido prostático não tumoral obtidos de pacientes tratados cirurgicamente de hiperplasia benigna da próstata.

RESPONSABILIDADES DO PESQUISADOR

Antes do início das atividades relacionadas ao estudo:

- Apresentar a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da **FMUSP** para execução no ICESP conforme a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, Ministério da Saúde;
- Enviar anualmente o *status* ou relatório do estudo. Projetos sem informações por mais de 1 ano serão cancelados automaticamente e impedirá a submissão de novos projetos pelos investigadores
- Enviar lista de pacientes semestralmente ao Núcleo de Pesquisa
- Enviar resultados do projeto (publicações, defesa de tese, apresentação em congressos e outros):

Informamos que sua solicitação foi DEFERIDA

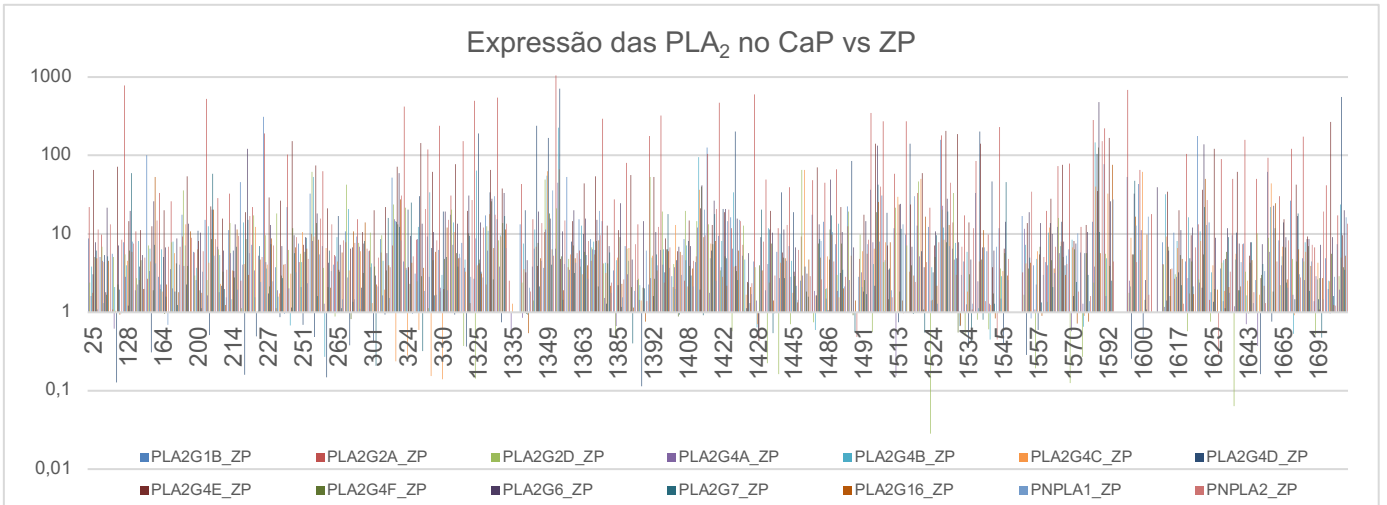
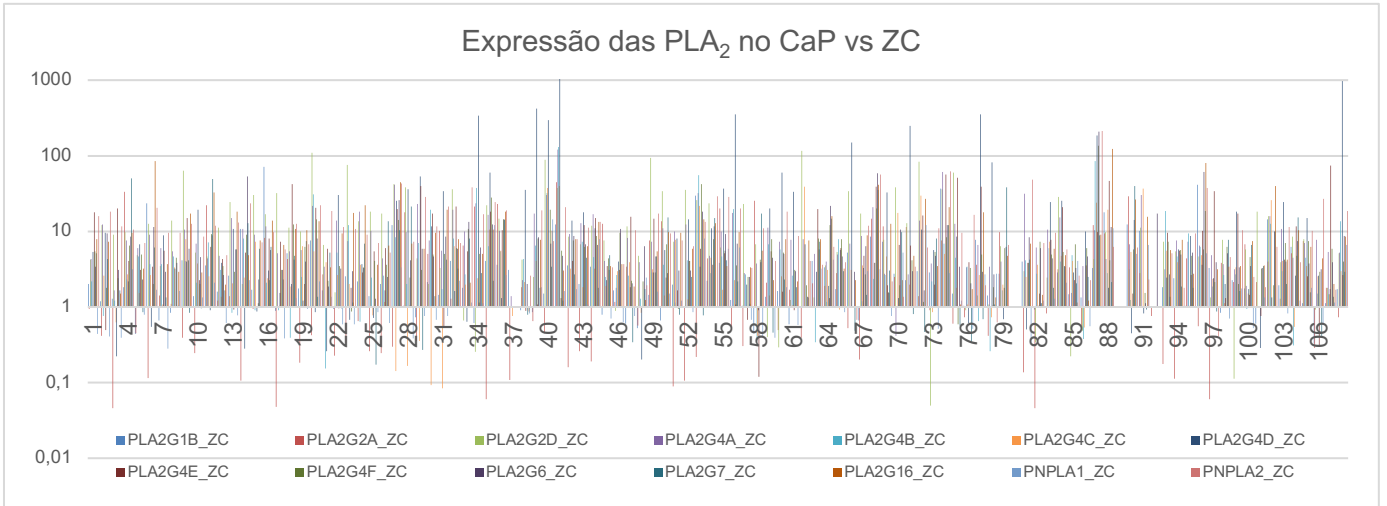
Atenciosamente,

Prof. Dr. Paulo M. Hoff
Diretor Geral

Versão 1.2 – 11 de julho de 2016



Anexo 2: Expressão das PLA₂ nas amostras de câncer de próstata.

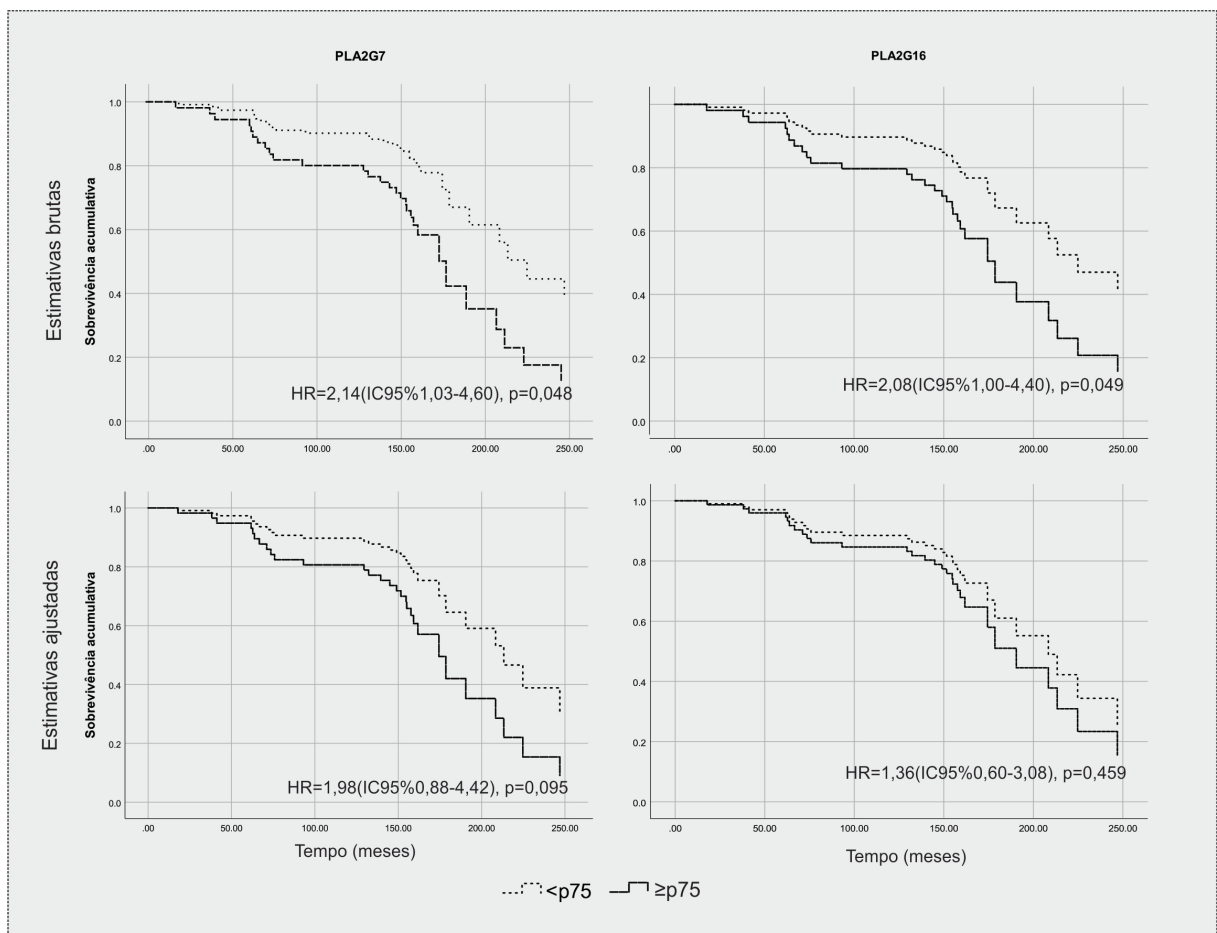


Anexo 3: Efeito da expressão de PLA2G7 e PLA2G16 na mortalidade incluindo estimativa de hazard ratio, erro padrão e intervalo de confiança de 95% e nível descritivo ajustado para características clínicas e patológicas.

	B	SE	p-valor	HR	IC95%	
					Inferior	Superior
PSA ≥ 10	-0,541	0,421	0,199	0,58	0,25	1,32
pT3	-0,081	0,456	0,858	0,92	0,37	2,25
Expressão PLA2G7 $\geq p75$	0,676	0,412	0,095	1,98	0,88	4,40
Expressão PLA2G16 $\geq p75$	0,316	0,419	0,451	1,36	0,60	3,08

A expressão das PLA₂ independeu do tipo controle (central ou periférico)

Anexo 4: Função de sobrevida bruta e ajustada de PLA2G7 e PLA2G16 no CaP ajustado para características clínicas e patológicas.



As estimativas foram ajustadas para PSA, estadiamento patológico e margem cirúrgica.

8. Bibliografia

8. Bibliografia

1. (GLOBOCAN) CIAfR. World Health Organization (WHO) 2021 [Available from: <http://gco.iarc.fr/today/home>].
2. Bray F, Ferlay J, Laversanne M, Brewster DH, Gombe Mbalawa C, Kohler B, et al. Cancer Incidence in Five Continents: Inclusion criteria, highlights from Volume X and the global status of cancer registration. *Int J Cancer*. 2015;137(9):2060-71.
3. Brasil MdSd. Instituto Nacional do Câncer (INCA) 2020 [Available from: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>].
4. Pelsler C, Mondul AM, Hollenbeck AR, Park Y. Dietary fat, fatty acids, and risk of prostate cancer in the NIH-AARP diet and health study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(4):697-707.
5. Fleshner N, Bagnell PS, Klotz L, Venkateswaran V. Dietary fat and prostate cancer. *J Urol*. 2004;171(2 Pt 2):S19-24.
6. Roehl KA, Loeb S, Antenor JA, Corbin N, Catalona WJ. Characteristics of patients with familial versus sporadic prostate cancer. *J Urol*. 2006;176(6 Pt 1):2438-42; discussion 42.
7. Crawford ED. Epidemiology of prostate cancer. *Urology*. 2003;62(6 Suppl 1):3-12.
8. Labrie F, Dupont A, Suburu R, Cusan L, Tremblay M, Gomez JL, et al. Serum prostate specific antigen as pre-screening test for prostate cancer. *J Urol*. 1992;147(3 Pt 2):846-51; discussion 51-2.
9. Sweat SD, Pacelli A, Murphy GP, Bostwick DG. Prostate-specific membrane antigen expression is greatest in prostate adenocarcinoma and lymph node metastases. *Urology*. 1998;52(4):637-40.
10. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J Med*. 2012;366(11):981-90.
11. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, et al.

EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. *Eur Urol.* 2014;65(1):124-37.

12. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol.* 2014;65(2):467-79.

13. Mettlin C, Littrup PJ, Kane RA, Murphy GP, Lee F, Chesley A, et al. Relative sensitivity and specificity of serum prostate specific antigen (PSA) level compared with age-referenced PSA, PSA density, and PSA change. Data from the American Cancer Society National Prostate Cancer Detection Project. *Cancer.* 1994;74(5):1615-20.

14. Bruzzese D, Mazzeola C, Ferro M, Perdonà S, Chiodini P, Perruolo G, et al. Prostate health index vs percent free prostate-specific antigen for prostate cancer detection in men with "gray" prostate-specific antigen levels at first biopsy: systematic review and meta-analysis. *Transl Res.* 2014;164(6):444-51.

15. Filella X, Gimenez N. Evaluation of [-2] proPSA and Prostate Health Index (phi) for the detection of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51(4):729-39.

16. Guazzoni G, Nava L, Lazzeri M, Scattoni V, Lughezzani G, Maccagnano C, et al. Prostate-specific antigen (PSA) isoform p2PSA significantly improves the prediction of prostate cancer at initial extended prostate biopsies in patients with total PSA between 2.0 and 10 ng/ml: results of a prospective study in a clinical setting. *Eur Urol.* 2011;60(2):214-22.

17. Loeb S, Vellekoop A, Ahmed HU, Catto J, Emberton M, Nam R, et al. Systematic review of complications of prostate biopsy. *Eur Urol.* 2013;64(6):876-92.

18. Stephan C, Lein M, Jung K, Schnorr D, Loening SA. The influence of prostate volume on the ratio of free to total prostate specific antigen in serum of patients with prostate carcinoma and benign prostate hyperplasia. *Cancer.* 1997;79(1):104-9.

19. Deras IL, Aubin SM, Blase A, Day JR, Koo S, Partin AW, et al. PCA3: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome. *J Urol.* 2008;179(4):1587-92.

20. Gleason DF. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol.*

1992;23(3):273-9.

21. Kryvenko ON, Epstein JI. Prostate Cancer Grading: A Decade After the 2005 Modified Gleason Grading System. *Arch Pathol Lab Med*. 2016.
22. Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA, et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(2):244-52.
23. Cooperberg MR, Pasta DJ, Elkin EP, Litwin MS, Latini DM, Du Chane J, et al. The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy. *J Urol*. 2005;173(6):1938-42.
24. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA*. 1998;280(11):969-74.
25. Sanda MG, Cadeddu JA, Kirkby E, Chen RC, Crispino T, Fontanarosa J, et al. Clinically Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline. Part I: Risk Stratification, Shared Decision Making, and Care Options. *The Journal of urology*. 2018;199(3):683-90.
26. McNeal JE. Normal histology of the prostate. *Am J Surg Pathol*. 1988;12(8):619-33.
27. Hara R, Jo Y, Fujii T, Kondo N, Yokoyama T, Miyaji Y, et al. Optimal approach for prostate cancer detection as initial biopsy: prospective randomized study comparing transperineal versus transrectal systematic 12-core biopsy. *Urology*. 2008;71(2):191-5.
28. Grummet J. How to Biopsy: Transperineal Versus Transrectal, Saturation Versus Targeted, What's the Evidence? *Urol Clin North Am*. 2017;44(4):525-34.
29. Barentsz JO, Richenberg J, Clements R, Choyke P, Verma S, Villeirs G, et al. ESUR prostate MR guidelines 2012. *Eur Radiol*. 2012;22(4):746-57.
30. Thompson JE, Moses D, Shnier R, Brenner P, Delprado W, Ponsky L, et al. Multiparametric magnetic resonance imaging guided diagnostic biopsy detects significant

prostate cancer and could reduce unnecessary biopsies and over detection: a prospective study. *J Urol*. 2014;192(1):67-74.

31. Weinreb JC, Barentsz JO, Choyke PL, Cornud F, Haider MA, Macura KJ, et al. PI-RADS Prostate Imaging - Reporting and Data System: 2015, Version 2. *Eur Urol*. 2016;69(1):16-40.

32. Rouviere O, Puech P, Renard-Penna R, Claudon M, Roy C, Mege-Lechevallier F, et al. Use of prostate systematic and targeted biopsy on the basis of multiparametric MRI in biopsy-naive patients (MRI-FIRST): a prospective, multicentre, paired diagnostic study. *Lancet Oncol*. 2019;20(1):100-9.

33. Kasivisvanathan V, Rannikko AS, Borghi M, Panebianco V, Mynderse LA, Vaarala MH, et al. MRI-Targeted or Standard Biopsy for Prostate-Cancer Diagnosis. *N Engl J Med*. 2018;378(19):1767-77.

34. Siddiqui MM, Rais-Bahrami S, Turkbey B, George AK, Rothwax J, Shakir N, et al. Comparison of MR/ultrasound fusion-guided biopsy with ultrasound-guided biopsy for the diagnosis of prostate cancer. *JAMA*. 2015;313(4):390-7.

35. Babalola O, Lee TJ, Viviano CJ. Prostate Ablation Using High Intensity Focused Ultrasound: A Literature Review of the Potential Role for Patient Preference Information. *The Journal of urology*. 2018;200(3):512-9.

36. Potters L, Klein EA, Kattan MW, Reddy CA, Ciezki JP, Reuther AM, et al. Monotherapy for stage T1-T2 prostate cancer: radical prostatectomy, external beam radiotherapy, or permanent seed implantation. *Radiother Oncol*. 2004;71(1):29-33.

37. Moul JW, Kane CJ, Malkowicz SB. The role of imaging studies and molecular markers for selecting candidates for radical prostatectomy. *Urol Clin North Am*. 2001;28(3):459-72.

38. Buyyounouski MK, Choyke PL, McKenney JK, Sartor O, Sandler HM, Amin MB, et al. Prostate cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(3):245-53.

39. Hull GW, Rabbani F, Abbas F, Wheeler TM, Kattan MW, Scardino PT. Cancer control

- with radical prostatectomy alone in 1,000 consecutive patients. *J Urol*. 2002;167(2 Pt 1):528-34.
40. Ohori M, Kattan M, Scardino PT, Wheeler TM. Radical prostatectomy for carcinoma of the prostate. *Mod Pathol*. 2004;17(3):349-59.
41. Stamey TA, McNeal JE, Yemoto CM, Sigal BM, Johnstone IM. Biological determinants of cancer progression in men with prostate cancer. *JAMA*. 1999;281(15):1395-400.
42. Leite KR, Srougi M, Kauffmann JR, Bevilacqua RG, Nesrallah AJ, Nesrallah LJ, et al. [Well differentiated localized prostate carcinoma: prognostic relevance of tertiary Gleason pattern 4 and tumor volume]. *Rev Assoc Med Bras*. 2005;51(6):329-33.
43. Brimo F, Partin AW, Epstein JI. Tumor grade at margins of resection in radical prostatectomy specimens is an independent predictor of prognosis. *Urology*. 2010;76(5):1206-9.
44. Stephenson AJ, Kattan MW, Eastham JA, Dotan ZA, Bianco FJ, Jr., Lilja H, et al. Defining biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy: a proposal for a standardized definition. *J Clin Oncol*. 2006;24(24):3973-8.
45. Center MSKC. Normograms Memorial Sloan Kettering Center MSKC [Available from: [ps://www.mskcc.org/nomograms/prostate](https://www.mskcc.org/nomograms/prostate)].
46. Gandaglia G, Fossati N, Zaffuto E, Bandini M, Dell'Oglio P, Bravi CA, et al. Development and Internal Validation of a Novel Model to Identify the Candidates for Extended Pelvic Lymph Node Dissection in Prostate Cancer. *Eur Urol*. 2017;72(4):632-40.
47. Thompson I, Thrasher JB, Aus G, Burnett AL, Canby-Hagino ED, Cookson MS, et al. Guideline for the management of clinically localized prostate cancer: 2007 update. *J Urol*. 2007;177(6):2106-31.
48. Wright JL, Lange PH. Newer potential biomarkers in prostate cancer. *Rev Urol*. 2007;9(4):207-13.
49. Kune GA, Kune S, Watson LF. Colorectal cancer risk, chronic illnesses, operations, and medications: case control results from the Melbourne Colorectal Cancer Study. *Cancer*

Res. 1988;48(15):4399-404.

50. Thun MJ, Namboodiri MM, Heath CW, Jr. Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N Engl J Med.* 1991;325(23):1593-6.

51. Rosenberg L, Palmer JR, Zauber AG, Warshauer ME, Stolley PD, Shapiro S. A hypothesis: nonsteroidal anti-inflammatory drugs reduce the incidence of large-bowel cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1991;83(5):355-8.

52. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.

53. Dong Q, Patel M, Scott KF, Graham GG, Russell PJ, Sved P. Oncogenic action of phospholipase A2 in prostate cancer. *Cancer Lett.* 2006;240(1):9-16.

54. Dannenberg AJ, Altorki NK, Boyle JO, Dang C, Howe LR, Weksler BB, et al. Cyclooxygenase 2: a pharmacological target for the prevention of cancer. *Lancet Oncol.* 2001;2(9):544-51.

55. Brglez V, Lambeau G, Petan T. Secreted phospholipases A2 in cancer: diverse mechanisms of action. *Biochimie.* 2014;107 Pt A:114-23.

56. Cummings BS. Phospholipase A2 as targets for anti-cancer drugs. *Biochem Pharmacol.* 2007;74(7):949-59.

57. Hua S, Yao M, Vignarajan S, Witting P, Hejazi L, Gong Z, et al. Cytosolic phospholipase A2 α sustains pAKT, pERK and AR levels in PTEN-null/mutated prostate cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1831(6):1146-57.

58. Li H, Zhang H, Wei G, Cai Q, Yan L, Xu Y. Tumor cell growth via phospholipase A(2) is involved in prostate cancer development. *Prostate.* 2011;71(4):373-84.

59. Niknami M, Vignarajan S, Yao M, Hua S, Witting PK, Kita Y, et al. Decrease in expression or activity of cytosolic phospholipase A2 α increases cyclooxygenase-1 action: A cross-talk between key enzymes in arachidonic acid pathway in prostate cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1801(7):731-7.

60. Patel MI, Singh J, Niknami M, Kurek C, Yao M, Lu S, et al. Cytosolic phospholipase A2- α : a potential therapeutic target for prostate cancer. *Clin Cancer Res.*

2008;14(24):8070-9.

61. Scott KF, Sajinovic M, Hein J, Nixdorf S, Galettis P, Liauw W, et al. Emerging roles for phospholipase A2 enzymes in cancer. *Biochimie*. 2010;92(6):601-10.
62. Vainio P, Gupta S, Ketola K, Mirtti T, Mpindi JP, Kohonen P, et al. Arachidonic acid pathway members PLA2G7, HPGD, EPHX2, and CYP4F8 identified as putative novel therapeutic targets in prostate cancer. *Am J Pathol*. 2011;178(2):525-36.
63. Huang TB, Yan Y, Guo ZF, Zhang XL, Liu H, Geng J, et al. Aspirin use and the risk of prostate cancer: a meta-analysis of 24 epidemiologic studies. *Int Urol Nephrol*. 2014;46(9):1715-28.
64. Vinay Kumar AKA, Jon C. Aster. *Robbins Basic Pathology*. 10 ed. 10th, editor2018. 910 p.
65. Sved P, Scott KF, McLeod D, King NJ, Singh J, Tsatralis T, et al. Oncogenic action of secreted phospholipase A2 in prostate cancer. *Cancer Res*. 2004;64(19):6934-40.
66. Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner BM, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res*. 2000;60(5):1306-11.
67. Nassar A, Radhakrishnan A, Cabrero IA, Cotsonis G, Cohen C. COX-2 expression in invasive breast cancer: correlation with prognostic parameters and outcome. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2007;15(3):255-9.
68. Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H. Cyclooxygenase-2 expression is related to prostaglandin biosynthesis and angiogenesis in human gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2000;6(1):135-8.
69. Garcia M, Velez R, Romagosa C, Majem B, Pedrola N, Olivan M, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitor suppresses tumour progression of prostate cancer bone metastases in nude mice. *BJU Int*. 2014;113(5b):E164-77.
70. Pruthi RS, Derksen JE, Moore D, Carson CC, Grigson G, Watkins C, et al. Phase II trial of celecoxib in prostate-specific antigen recurrent prostate cancer after definitive radiation therapy or radical prostatectomy. *Clin Cancer Res*. 2006;12(7 Pt 1):2172-7.

71. Dennis EA. Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *J Biol Chem.* 1994;269(18):13057-60.
72. Seilhamer JJ, Pruzanski W, Vadas P, Plant S, Miller JA, Kloss J, et al. Cloning and recombinant expression of phospholipase A2 present in rheumatoid arthritic synovial fluid. *J Biol Chem.* 1989;264(10):5335-8.
73. Yarla NS, Bishayee A, Vadlakonda L, Chintala R, Duddukuri GR, Reddanna P, et al. Phospholipase A2 Isoforms as Novel Targets for Prevention and Treatment of Inflammatory and Oncologic Diseases. *Curr Drug Targets.* 2016;17(16):1940-62.
74. Dennis EA, Cao J, Hsu YH, Magrioti V, Kokotos G. Phospholipase A2 enzymes: physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention. *Chem Rev.* 2011;111(10):6130-85.
75. Schaloske RH, Dennis EA. The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1761(11):1246-59.
76. Mukherjee AB, Miele L, Pattabiraman N. Phospholipase A2 enzymes: regulation and physiological role. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(1):1-10.
77. Mayer RJ, Marshall LA. New insights on mammalian phospholipase A2(s); comparison of arachidonoyl-selective and -nonselective enzymes. *FASEB J.* 1993;7(2):339-48.
78. Hara S, Yoda E, Sasaki Y, Nakatani Y, Kuwata H. Calcium-independent phospholipase A2 γ (iPLA2 γ) and its roles in cellular functions and diseases. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019;1864(6):861-8.
79. Shayman JA, Tesmer JJG. Lysosomal phospholipase A2. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019;1864(6):932-40.
80. Talib LL, Valente KD, Vincentiis S, Gattaz WF. Correlation between platelet and brain PLA(2) activity. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2013;89(4):265-8.
81. Avoranta T, Sundstrom J, Korkeila E, Syrjanen K, Pyrhonen S, Laine J. The expression and distribution of group IIA phospholipase A2 in human colorectal tumours. *Virchows Arch.* 2010;457(6):659-67.

82. Mounier CM, Wendum D, Greenspan E, Flejou JF, Rosenberg DW, Lambeau G. Distinct expression pattern of the full set of secreted phospholipases A2 in human colorectal adenocarcinomas: sPLA2-III as a biomarker candidate. *Br J Cancer*. 2008;98(3):587-95.
83. Kashiwagi M, Friess H, Uhl W, Berberat P, Abou-Shady M, Martignoni M, et al. Group II and IV phospholipase A(2) are produced in human pancreatic cancer cells and influence prognosis. *Gut*. 1999;45(4):605-12.
84. Leung SY, Chen X, Chu KM, Yuen ST, Mathy J, Ji J, et al. Phospholipase A2 group IIA expression in gastric adenocarcinoma is associated with prolonged survival and less frequent metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(25):16203-8.
85. Yu JA, Mauchley D, Li H, Meng X, Nemenoff RA, Fullerton DA, et al. Knockdown of secretory phospholipase A2 Ila reduces lung cancer growth in vitro and in vivo. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012;144(5):1185-91.
86. Jiang J, Neubauer BL, Graff JR, Chedid M, Thomas JE, Roehm NW, et al. Expression of group IIA secretory phospholipase A2 is elevated in prostatic intraepithelial neoplasia and adenocarcinoma. *Am J Pathol*. 2002;160(2):667-71.
87. Graff JR, Konicek BW, Deddens JA, Chedid M, Hurst BM, Colligan B, et al. Expression of group Ila secretory phospholipase A2 increases with prostate tumor grade. *Clin Cancer Res*. 2001;7(12):3857-61.
88. Chen J, Ye L, Sun Y, Takada Y. A Concise Update on the Relevance of Secretory Phospholipase A2 Group IIA and its Inhibitors with Cancer. *Med Chem*. 2017;13(7):606-15.
89. Murakami M, Taketomi Y, Miki Y, Sato H, Yamamoto K, Lambeau G. Emerging roles of secreted phospholipase A2 enzymes: the 3rd edition. *Biochimie*. 2014;107 Pt A:105-13.
90. Murakami M, Taketomi Y, Sato H, Yamamoto K. Secreted phospholipase A2 revisited. *J Biochem*. 2011;150(3):233-55.
91. Yamashita S, Yamashita J, Ogawa M. Overexpression of group II phospholipase A2 in human breast cancer tissues is closely associated with their malignant potency. *Br J Cancer*. 1994;69(6):1166-70.
92. Mirtti T, Laine VJ, Hiekkanen H, Hurme S, Rowe O, Nevalainen TJ, et al. Group IIA

- phospholipase A as a prognostic marker in prostate cancer: relevance to clinicopathological variables and disease-specific mortality. *APMIS*. 2009;117(3):151-61.
93. Oleksowicz L, Liu Y, Bracken RB, Gaitonde K, Burke B, Succop P, et al. Secretory phospholipase A2-IIa is a target gene of the HER/HER2-elicited pathway and a potential plasma biomarker for poor prognosis of prostate cancer. *Prostate*. 2012;72(10):1140-9.
94. Vainio P, Lehtinen L, Mirtti T, Hilvo M, Seppanen-Laakso T, Virtanen J, et al. Phospholipase PLA2G7, associated with aggressive prostate cancer, promotes prostate cancer cell migration and invasion and is inhibited by statins. *Oncotarget*. 2011;2(12):1176-90.
95. Dong M, Johnson M, Rezaie A, Ilesley JN, Nakanishi M, Sanders MM, et al. Cytoplasmic phospholipase A2 levels correlate with apoptosis in human colon tumorigenesis. *Clin Cancer Res*. 2005;11(6):2265-71.
96. Ilesley JN, Nakanishi M, Flynn C, Belinsky GS, De Guise S, Adib JN, et al. Cytoplasmic phospholipase A2 deletion enhances colon tumorigenesis. *Cancer Res*. 2005;65(7):2636-43.
97. Meyer AM, Dwyer-Nield LD, Hurteau GJ, Keith RL, O'Leary E, You M, et al. Decreased lung tumorigenesis in mice genetically deficient in cytosolic phospholipase A2. *Carcinogenesis*. 2004;25(8):1517-24.
98. Gorovetz M, Baekelandt M, Berner A, Trope CG, Davidson B, Reich R. The clinical role of phospholipase A2 isoforms in advanced-stage ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2006;103(3):831-40.
99. Rose DP, Connolly JM. Effects of fatty acids and eicosanoid synthesis inhibitors on the growth of two human prostate cancer cell lines. *Prostate*. 1991;18(3):243-54.
100. Chaudry AA, Wahle KW, McClinton S, Moffat LE. Arachidonic acid metabolism in benign and malignant prostatic tissue in vitro: effects of fatty acids and cyclooxygenase inhibitors. *Int J Cancer*. 1994;57(2):176-80.
101. Dong Z, Liu Y, Scott KF, Levin L, Gaitonde K, Bracken RB, et al. Secretory phospholipase A2-IIa is involved in prostate cancer progression and may potentially serve as a biomarker for prostate cancer. *Carcinogenesis*. 2010;31(11):1948-55.

102. Kallajoki M, Alanen KA, Nevalainen M, Nevalainen TJ. Group II phospholipase A2 in human male reproductive organs and genital tumors. *Prostate*. 1998;35(4):263-72.
103. Menschikowski M, Hagelgans A, Fuessel S, Mareninova OA, Asatryan L, Wirth MP, et al. Serum amyloid A, phospholipase A(2)-IIA and C-reactive protein as inflammatory biomarkers for prostate diseases. *Inflamm Res*. 2013;62(12):1063-72.
104. Murakami M, Miki Y, Sato H, Murase R, Taketomi Y, Yamamoto K. Group IID, IIE, IIF and III secreted phospholipase A2s. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2019;1864(6):803-18.
105. Hua S, Vignarajan S, Yao M, Xie C, Sved P, Dong Q. AKT and cytosolic phospholipase A2alpha form a positive loop in prostate cancer cells. *Curr Cancer Drug Targets*. 2015;15(9):781-91.
106. Hughes-Fulford M, Tjandrawinata RR, Li CF, Sayyah S. Arachidonic acid, an omega-6 fatty acid, induces cytoplasmic phospholipase A2 in prostate carcinoma cells. *Carcinogenesis*. 2005;26(9):1520-6.
107. Liu JW, Shen JJ, Tanzillo-Swarts A, Bhatia B, Maldonado CM, Person MD, et al. Annexin II expression is reduced or lost in prostate cancer cells and its re-expression inhibits prostate cancer cell migration. *Oncogene*. 2003;22(10):1475-85.
108. Hernandez M, Burillo SL, Crespo MS, Nieto ML. Secretory phospholipase A2 activates the cascade of mitogen-activated protein kinases and cytosolic phospholipase A2 in the human astrocytoma cell line 1321N1. *J Biol Chem*. 1998;273(1):606-12.
109. Reddy ST, Herschman HR. Transcellular prostaglandin production following mast cell activation is mediated by proximal secretory phospholipase A2 and distal prostaglandin synthase 1. *J Biol Chem*. 1996;271(1):186-91.
110. Mouchlis VD, Dennis EA. Phospholipase A. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2019;1864(6):766-71.
111. Wallace TA, Prueitt RL, Yi M, Howe TM, Gillespie JW, Yfantis HG, et al. Tumor immunobiological differences in prostate cancer between African-American and European-American men. *Cancer Res*. 2008;68(3):927-36.

112. Sun B, Zhang X, Talathi S, Cummings BS. Inhibition of Ca²⁺-independent phospholipase A2 decreases prostate cancer cell growth by p53-dependent and independent mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008;326(1):59-68.
113. Nicotera TM, Schuster DP, Bourhim M, Chadha K, Klaich G, Corral DA. Regulation of PSA secretion and survival signaling by calcium-independent phospholipase A(2)beta in prostate cancer cells. *Prostate.* 2009;69(12):1270-80.
114. Li H, Zhao Z, Antalis C, Emerson R, Wei G, Zhang S, et al. Combination therapy of an inhibitor of group VIA phospholipase A2 with paclitaxel is highly effective in blocking ovarian cancer development. *Am J Pathol.* 2011;179(1):452-61.
115. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods.* 2001;25(4):402-8.
116. Kita Y, Shindou H, Shimizu T. Cytosolic phospholipase A2 and lysophospholipid acyltransferases. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019;1864(6):838-45.
117. Murakami M, Taketomi Y, Miki Y, Sato H, Hirabayashi T, Yamamoto K. Recent progress in phospholipase A(2) research: from cells to animals to humans. *Prog Lipid Res.* 2011;50(2):152-92.
118. Clark JD, Lin LL, Kriz RW, Ramesha CS, Sultzman LA, Lin AY, et al. A novel arachidonic acid-selective cytosolic PLA2 contains a Ca(2+)-dependent translocation domain with homology to PKC and GAP. *Cell.* 1991;65(6):1043-51.
119. Takeuchi T, Yamazaki Y, Katoh-Fukui Y, Tsuchiya R, Kondo S, Motoyama J, et al. Gene trap capture of a novel mouse gene, jumonji, required for neural tube formation. *Genes Dev.* 1995;9(10):1211-22.
120. Shi Y. Histone lysine demethylases: emerging roles in development, physiology and disease. *Nat Rev Genet.* 2007;8(11):829-33.
121. Leon KE, Aird KM. Jumonji C Demethylases in Cellular Senescence. *Genes (Basel).* 2019;10(1).
122. Cheng Y, Wang Y, Li J, Chang I, Wang CY. A novel read-through transcript JMJD7-PLA2G4B regulates head and neck squamous cell carcinoma cell proliferation and survival.

Oncotarget. 2017;8(2):1972-82.

123. Pfau R, Tzatsos A, Kampranis SC, Serebrennikova OB, Bear SE, Tsihchlis PN. Members of a family of JmjC domain-containing oncoproteins immortalize embryonic fibroblasts via a JmjC domain-dependent process. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(6):1907-12.

124. Leslie CC. Regulation of the specific release of arachidonic acid by cytosolic phospholipase A2. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2004;70(4):373-6.

125. Yao M, Xie C, Kiang MY, Teng Y, Harman D, Tiffen J, et al. Targeting of cytosolic phospholipase A2 α impedes cell cycle re-entry of quiescent prostate cancer cells. *Oncotarget*. 2015;6(33):34458-74.

126. Ghosh M, Tucker DE, Burchett SA, Leslie CC. Properties of the Group IV phospholipase A2 family. *Prog Lipid Res*. 2006;45(6):487-510.

127. Lucas KK, Dennis EA. The ABC's of Group IV cytosolic phospholipase A2. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1636(2-3):213-8.

128. Lebrero P, Astudillo AM, Rubio JM, Fernández-Caballero L, Kokotos G, Balboa MA, et al. Cellular Plasmalogen Content Does Not Influence Arachidonic Acid Levels or Distribution in Macrophages: A Role for Cytosolic Phospholipase A. *Cells*. 2019;8(8).

129. Pniewska-Dawidczyk E, Kupryś-Lipińska I, Turek G, Kacprzak D, Wieczfinska J, Kleniewska P, et al. Expression of cPLA. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2021;35:2058738421990952.

130. Chiba H, Michibata H, Wakimoto K, Seishima M, Kawasaki S, Okubo K, et al. Cloning of a gene for a novel epithelium-specific cytosolic phospholipase A2, cPLA2delta, induced in psoriatic skin. *J Biol Chem*. 2004;279(13):12890-7.

131. Dong Z, Meller J, Succop P, Wang J, Wikenheiser-Brokamp K, Starnes S, et al. Secretory phospholipase A2-IIa upregulates HER/HER2-elicited signaling in lung cancer cells. *Int J Oncol*. 2014;45(3):978-84.

132. Sharipov M, Tawfik SM, Gerelkhuu Z, Huy BT, Lee YI. Phospholipase A2-Responsive Phosphate Micelle-Loaded UCNPs for Bioimaging of Prostate Cancer Cells. *Sci Rep*.

2017;7(1):16073.

133. Miki Y, Kidoguchi Y, Sato M, Taketomi Y, Taya C, Muramatsu K, et al. Dual Roles of Group IID Phospholipase A2 in Inflammation and Cancer. *J Biol Chem*. 2016;291(30):15588-601.
134. Igarashi A, Shibata Y, Yamauchi K, Osaka D, Takabatake N, Abe S, et al. Gly80Ser polymorphism of phospholipase A2-IIID is associated with cytokine inducibility in A549 cells. *Respiration*. 2009;78(3):312-21.
135. Takabatake N, Sata M, Inoue S, Shibata Y, Abe S, Wada T, et al. A novel polymorphism in secretory phospholipase A2-IIID is associated with body weight loss in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(9):1097-104.
136. Li K, Jin JY, Chen WY, Shi QX, Ni Y, Roldan ER. Secretory phospholipase A2 group IID Is involved in progesterone-induced acrosomal exocytosis of human spermatozoa. *J Androl*. 2012;33(5):975-83.
137. Murakami M, Sato H, Miki Y, Yamamoto K, Taketomi Y. A new era of secreted phospholipase A₂. *J Lipid Res*. 2015;56(7):1248-61.
138. Abbenhardt C, Poole EM, Kulmacz RJ, Xiao L, Curtin K, Galbraith RL, et al. Phospholipase A2G1B polymorphisms and risk of colorectal neoplasia. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2013;4(3):140-9.
139. Wu J, Li Z, Zeng K, Wu K, Xu D, Zhou J, et al. Key genes associated with pancreatic cancer and their association with outcomes: A bioinformatics analysis. *Mol Med Rep*. 2019;20(2):1343-52.
140. Sers C, Emmenegger U, Husmann K, Bucher K, Andres AC, Schäfer R. Growth-inhibitory activity and downregulation of the class II tumor-suppressor gene H-rev107 in tumor cell lines and experimental tumors. *J Cell Biol*. 1997;136(4):935-44.
141. Duncan RE, Sarkadi-Nagy E, Jaworski K, Ahmadian M, Sul HS. Identification and functional characterization of adipose-specific phospholipase A2 (AdPLA). *J Biol Chem*. 2008;283(37):25428-36.
142. Yang X, Zhang Z, Jia X, Zhang Y, Mu T, Zhou B, et al. High expression of PLA2G16

is associated with a better prognosis in HER2-positive breast cancer. *J Thorac Dis.* 2017;9(4):1002-11.

143. Yanatatsaneejit P, Chalermchai T, Kerekhanjanarong V, Shotelersuk K, Supiyaphun P, Mutirangura A, et al. Promoter hypermethylation of CCNA1, RARRES1, and HRASLS3 in nasopharyngeal carcinoma. *Oral Oncol.* 2008;44(4):400-6.

144. Husmann K, Sers C, Fietze E, Mincheva A, Lichter P, Schäfer R. Transcriptional and translational downregulation of H-REV107, a class II tumour suppressor gene located on human chromosome 11q11-12. *Oncogene.* 1998;17(10):1305-12.

145. Liang S, Ren Z, Han X, Yang J, Shan L, Li L, et al. PLA2G16 Expression in Human Osteosarcoma Is Associated with Pulmonary Metastasis and Poor Prognosis. *PLoS One.* 2015;10(5):e0127236.

146. Nazarenko I, Kristiansen G, Fonfara S, Guenther R, Gieseler C, Kemmner W, et al. H-REV107-1 stimulates growth in non-small cell lung carcinomas via the activation of mitogenic signaling. *Am J Pathol.* 2006;169(4):1427-39.

147. Jarrard WE, Schultz A, Etheridge T, Damodaran S, Allen GO, Jarrard D, et al. Screening of urine identifies PLA2G16 as a field defect methylation biomarker for prostate cancer detection. *PLoS One.* 2019;14(6):e0218950.

9. Apresentação em Congressos

9. Apresentação em Congressos



SAULO DA CUNHA RECUERO

Apresentou trabalho científico na sessão **URO-ONCOLOGIA** com o título **OVEREXPRESSION OF PHOSPHOLIPASE A2 IS RELATED TO THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS IN PROSTATE CANCER - AN OPPORTUNITY FOR THE IDENTIFICATION OF NEW BIOMARKERS AND A NEW TARGET FOR THERAPY**, no dia 28/08/2017 às 15:00:00 17:00:00.

Com o autor principal **SAULO DA CUNHA RECUERO** e os co-autores **KEITH T. MENDES; NAYARA I. VIANA; SABRINA T. REIS; MIGUEL SROUGI; LEDA L. TALIB; WAGNER F. GATTAZ; KATIA RAMOS MOREIRA LEITE.**

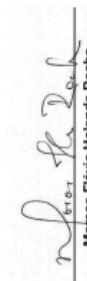
Durante o **XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE UROLOGIA.**

Fortaleza-CE, 29 de agosto de 2017.




Archimedes Nardozza Jr.
Presidente da
Sociedade Brasileira de Urologia Biliênio 2016-17


William Carlos Nahas
Presidente da Comissão Científica do
XXXVI Congresso Brasileiro de Urologia


Marcos Flávio Holanda Rocha
Presidente da Comissão Local do
XXXVI Congresso Brasileiro de Urologia

ISSN 2237-3446
Volume 53
Novembro 2017

JORNAL BRASILEIRO DE
**PATOLOGIA E
MEDICINA LABORATORIAL**

BRAZILIAN JOURNAL OF PATHOLOGY AND LABORATORY MEDICINE

Uma publicação conjunta das sociedades: SBPCML (Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial), SBP (Sociedade Brasileira de Patologia) e SBC (Sociedade Brasileira de Citopatologia)

SUPLEMENTOS PATOLOGIA



31° Congresso Brasileiro de
PATOLOGIA

Belo Horizonte 02 A 05 DE NOV 2017



Sociedade
Brasileira de
PATOLOGIA



AMB
Associação Médica Brasileira

TÍTULO

A SUPEREXPRESSION DA FOSFOLIPASE A2 ESTÁ RELACIONADA AO DIAGNÓSTICO E AO PROGNÓSTICO DO CÂNCER DE PRÓSTATA - UMA OPORTUNIDADE PARA A IDENTIFICAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES E UM NOVO ALVO PARA A TERAPIA

Autor	Instituição	Cidade	UF	País
SAULO DA CUNHA RECUERO	FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	SÃO PAULO	SP	BRASIL

Autor	Instituição	Cidade	UF	País
RECUERO, S. C.	FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	SÃO PAULO	SP	BRASIL
MENDES, K. T.	FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	SÃO PAULO	SP	BRASIL
VIANA, N.	FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	SÃO PAULO	SP	BRASIL
REIS, S. T.	FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	SAO PAULO	SP	BRASIL
SROUGI, M.	FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	SÃO PAULO	SP	BRASIL
NAHAS, W.	INSTITUTO DO CÂNCER DE SÃO PAULO	SÃO PAULO	SP	BRASIL
LEITE, K. R. M.	FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO	SÃO PAULO	SP	BRASIL

Área de Conhecimento
UROLOGIA

INTRODUÇÃO / OBJETIVO

A fosfolipase A2 (PLA2) faz parte de um grupo de enzimas que catalizam a conversão de prostaglandinas pela membrana plasmática. A PLA2 tem a propriedade oncogênica de estimular o crescimento de células cancerígenas in vitro e a sua inibição suprime a atividade de proliferação e invasão de linhagens celulares do câncer de próstata (CaP). Curiosamente, o líquido seminal contém concentrações aumentadas de PLA2 que é secretada principalmente pelas glândulas da zona periférica da próstata. Existem poucos estudos que analisam a expressão das PLA2 no CaP em espécimes cirúrgicos.

Temos como objetivo avaliar a expressão de várias isoformas da PLA2 no CaP e correlacionar com seus principais fatores prognósticos.

MÉTODOS

Foi extraído o mRNA de 108 espécimes de pacientes com CaP submetidos a prostatectomia radical. Foram avaliadas a expressão das seguintes isoformas: PLA2G1B, PLA2G2A, PLA2G2D, PLA2G4A, PLA2G4B, PLA2G4C, PLA2G4D, PLA2G4F, PLA2G6, PLA2G7, PLA2G16, PNPLA1e PNPLA2 pela técnica de PCR em tempo real (qRT-PCR). O grupo controle é constituído por seis espécimes cirúrgicos de hiperplasia prostática

benigna (HPB).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria das isoformas da PLA2 estão superexpressas no CaP em comparação com HPB. A maior expressão de PLA2G4B se relacionou com fatores prognósticos favoráveis, PSA<10ng/mL ($p=0,016$) e menor volume tumoral ($p=0.031$). Enquanto a superexpressão de PLA2G2A e PLA2G7 se relacionou com a doença não-órgão confinada pT3, $p=0,006$ e $p=0,028$ respectivamente.

CONCLUSÃO

Todas as isoformas de PLA2 estão superexpressas no CaP. Enquanto a superexpressão da isoforma PLA2G4B se relacionou com fatores favoráveis, a superexpressão de PLA2G2A e PLA2G7 está relacionada a um fator prognóstico desfavorável que é a doença não-órgão confinada. A caracterização do perfil de expressão dessas enzimas pode ter um papel relevante na identificação do prognóstico dessa neoplasia tão prevalente no homem.



Certificamos que o trabalho científico
na modalidade **Apresentação Oral (Pódium)**,
intitulado **ANALISE DA EXPRESSAO DAS FOSFOLIPASES A2 COMO DIAGNOSTICO E MARCADOR PROGNOSTICO NO CANCER**
DE PROSTATA

dos autores **Saulo da Cunha Recuero, Nayara I VIANA, Sabrina T Reis, Miguel Srougi, Leda L Talib, Wagner F Gattaz, Vanessa Ribeiro Guimarães, Ruan Cesar Aparecido Pimenta, Juliana Alves Camargo, Katia Ramos Moreira Leite,**

foi submetido e aprovado no **XXXVII Congresso Brasileiro de Urologia**, realizado no período de 24 a 27 de agosto de 2019,
no Expo Unimed Curitiba.

Curitiba, 27 de agosto de 2019.


Sebastião Westphal
Presidente da SBU Gestão 2018/2019


Gustavo Franco Carvalho
Presidente da Comissão Científica

Iniciativa e Realização

SBU
SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA

