UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

LABORATÓRIO DE IMUNOPATOLOGIA KEIZO ASAMI – LIKA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA A SAÚDE

INGRID TAVARES DE LIMA

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DAS METALOPROTEINASES-9 E -26 E DO INIBIDOR TIMP-2 EM PACIENTES PORTADORES DE NÓDULOS BENIGNOS E MALIGNOS DA TIREOIDE

Recife

2019

INGRID TAVARES DE LIMA

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DAS METALOPROTEINASES-9 E -26 E DO INIBIDOR TIMP-2 EM PACIENTES PORTADORES DE NÓDULOS BENIGNOS E MALIGNOS DA TIREOIDE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada a Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutor em Biologia Aplicada a Saúde.
Área de concentração: Biologia aplicada a saúde.

.

Orientador: Prof. Dr. Mário Ribeiro de Melo Júnior

Coorientador: Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto

Recife

2019

Catalogação na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Lima, Ingrid Tavares de
Análise da expressão das metaloproteinases-9 e -26 e do inibidor TIMP-2 em pacientes portadores de nódulos benignos e malignos da tireoide / Ingrid Tavares de Lima - 2019.
80 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Mário Ribeiro de Melo Júnior
Coorientador: Jacinto da Costa Silva Neto
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada a Saúde. Recife, 2019.

Inclui referências, apêndices e anexo

1. Câncer de tireoide 2. Imunohistoquímica 3. Imunocitoquímica I. Melo Júnior, Mário Ribeiro de (orient.) II. Silva Neto, Jacinto da Costa (coorient.) III. Título

614.99444 CDD (22.ed.) UFPE/CB-2019-104

INGRID TAVARES DE LIMA

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DAS METALOPROTEINASES-9 E -26 E DO INIBIDOR TIMP-2 EM PACIENTES PORTADORES DE NÓDULOS BENIGNOS E MALIGNOS DA TIREOIDE

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada a Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de doutor em Biologia Aplicada a Saúde.

Aprovada em: 01/03/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Mário Ribeiro de Melo-Junior (Depto de Patologia – CCS/UFPE)
Orientador

Prof. Dr. Lucas André Cavalcanti Brandão (Depto de Patologia – CCS/UFPE)
Examinador interno

Prof. Dr. Eduardo Isidoro Carneiro Beltrão (Depto de Bioquímica – CB/UFPE)
Examinador interno

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto (Depto de Histologia e Embriologia – CB/UFPE)
Examinador externo

Profa. Dra. Juliana Pinto de Medeiros (Depto de Histologia e Embriologia – CB/UFPE)
Examinador externo

AGRADECIMENTOS

Gratidão, eis um sentimento lindo e de imenso significado. Nesse momento meu coração está transbordando dele e do desejo de honrar aqueles que tornaram este trabalho possível. Sou grata a Deus, força e esperança da minha vida, que me sustentou e amparou em todos os momentos. Grata ao meu esposo Deiffy, meu maior incentivador, pelo seu amor e cuidado. Grata a minha família que sempre me apoia e se orgulha de minhas conquistas.

Grata aos meus queridos orientadores Mário Ribeiro e Jacinto Costa, professores maravilhosos e inspiradores, grandes exemplos para mim. Agradeço imensamente a acolhida, disponibilidade, investimento e dedicação. Especialmente ao professor Jacinto pelo apoio, motivação e atenção a mim dispensada nos momentos mais críticos. Grata também por todo suporte material e dos companheiros de trabalho no LPCM, especialmente a Giwellington, Ismael, Karina e Romildo. Grata ao programa de pós-graduação em Biologia Aplicada a Saúde e ao LIKA, pelo apoio estrutural e disponibilidade das técnicas do laboratório de patologia, Marina e Carmelita, e do secretário Fábio, sempre muito solícitos e atenciosos.

Grata as minhas queridas amigas Mayara Mansur (que mesmo de longe esteve sempre ao meu lado, me dando apoio e sugestões valiosas) e Edlene Ribeiro (que me deu a primeira oportunidade na ciência e me ensinou tanto). Grata pelo enorme privilégio de ter uma formação acadêmica de excelência em uma universidade pública e pelos órgãos de fomento que viabilizaram as condições financeiras para meu desenvolvimento profissional. Com este trabalho encerro um ciclo de 10 anos de muito aprendizado aqui na UFPE, com orgulho da pessoa que me tornei e pronta para os novos desafios que virão.

RESUMO

Os nódulos da tireoide apresentam alta prevalência na população e resultam da interação entre fatores moleculares e ambientais. A maioria é benigno, sendo 5% relacionado com malignidade. O carcinoma de tireoide é bastante incidente, principalmente no gênero feminino, sendo o quinto câncer mais comum nas mulheres brasileiras. O tipo histológico mais prevalente é o papilífero (85% dos casos) e ocorre em adultos jovens. Diante disto, o trabalho avaliou o perfil epidemiológico e anatomopatológico de 135 portadores de nódulos tireoidianos atendidos no Hospital das Clínicas de Pernambuco, através de questionários e laudos citológicos. 230 nódulos foram estudados, encontrando-se variação de 1 a 4 nódulos por paciente e diâmetro médio de 2,07cm. Após a classificação citológica pelo sistema Bethesda o número de nódulos foi reduzido para 120, devido o alto número de amostras com resultado Bethesda I. Destes 120, 90 eram benignos, 12 malignos e 18 indeterminados ou suspeitos. 92% das pacientes eram do sexo feminino; 70% tinham mais de 45 anos; 60% eram pardos; e 66% estavam com peso acima da normalidade. Considerando os nódulos malignos, a maioria ocorreu em indivíduos com 01 lesão (58%) e com tamanho entre 1,0-1,9cm (46,7%); o subtipo carcinoma papilífero foi o mais frequente (91,6%). O diagnóstico convencional do carcinoma de tireoide (CT) ainda apresenta limitações que poderiam ser reduzidas com o auxílio de marcadores e técnicas imunológicas. Essa pesquisa avaliou a expressão de MMP-9 e TIMP-2 em 230 amostras citológicas através de ICQ e a reatividade de MMP-26 em 100 amostras histológicas através de IHQ. Foi observada positividade de 81,81% para TIMP-2 e 100% para MMP-9 no grupo carcinoma e MMP-26 mostrou imunomarcação acentuada e difusa nos grupos bócio e carcinoma, sem diferenças específicas entre as lesões. Esses resultados demonstraram que a ICQ de MMP-9 e TIMP-2 foi útil para diferenciar benignidade de malignidade em tireoide, no entanto, a IHQ de MMP-26 apresentou falta de especificidade nesta distinção, embora seja um potencial marcador em outras neoplasias. Compreender o comportamento dessas proteínas em nódulos tireoidianos pode corroborar na avaliação diagnóstica, na elaboração de um indicador prognóstico ou na pesquisa de novos alvos terapêuticos, uma vez que estão diretamente ligadas aos processos carcinogênicos.

Palavras chave: Metaloproteinase de Matriz. Inibidor tecidual de metaloproteinase. Câncer de tireoide. Imunohistoquímica. Imunocitoquímica.

ABSTRACT

Thyroid nodules present high prevalence in the population and result from the interaction between molecular and environmental factors. Most are benign, with 5% being malignant. Thyroid carcinoma is quite incidental, mainly in the female gender, being the fifth most common cancer in Brazilian women. The most prevalent histological type is the papillary (85% of cases) and occurs in young adults. In view of this, the study evaluated the epidemiological and anatomopathological profile of 135 patients with thyroid nodules treated at the Hospital das Clínicas de Pernambuco, through questionnaires and cytological reports. 230 nodules were studied, ranging from 1 to 4 nodules per patient and mean diameter of 2.07cm. After the cytological classification by the Bethesda system the number of nodules was reduced to 120, due to the high number of samples with Bethesda I results. Of these 120, 90 were benign, 12 malignant and 18 indeterminate or suspect. 92% of the patients were female; 70% were over 45 years old; 60% were brown; and 66% were overweight. Considering the malignant nodules, the majority occurred in individuals with only 01 lesion (58%) and with size between 1.0-1.9cm (46.7%); the papillary carcinoma subtype was the most frequent (91.6%). The conventional diagnosis of thyroid carcinoma (CT) still presents limitations that could be reduced with the aid of markers and immunological techniques. This study evaluated the expression of MMP-9 and TIMP-2 in 230 cytological samples by ICQ and the reactivity of MMP-26 in 100 histological samples by IHC. MMP-9 and MMP-9 were found to be positive in 81.81% and MMP-26 and MMP-26 showed marked and diffuse immunostaining in the goiter and carcinoma groups, with no specific differences between the lesions. These results demonstrated that the ICMP of MMP-9 and TIMP-2 was useful to differentiate benignity of malignancy in the thyroid, however, the MMP-26 IHC showed lack of specificity in this distinction, although it is a potential marker in other neoplasms. Understanding the behavior of these proteins in thyroid nodules can corroborate in the diagnostic evaluation, in the elaboration of a prognostic indicator or in the research of new therapeutic targets, since they are directly related to the carcinogenic processes.

Key words: Matrix Metalloproteinase. Tissue inhibitor of metalloproteinase. Thyroid Cancer. Immunohistochemistry. Immunocytochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Revisão de Literatura

Figura 1- Anatomia e histologia da tireoide 14

Figura 2- Classificação dos nódulos da tireoide 15

Figura 3- Fluxo do diagnóstico dos nódulos de tireoide 18

Figura 4- Estrutura básica das metaloproteinases de matriz 20

Artigo 2

Gráfico 1- Resultado da expressão de MMP-9 e TIMP-2 na ICQ 44

Figura 1- Análise imunocitoquímica de MMP-9 e TIMP-2 45

Figura 2- Análise histológica e imunohistoquímica de MMP-26 48

LISTA DE TABELAS

Revisão de Literatura

Tabela 1- Sistema Bethesda para laudos citológicos 17

Tabela 2- Classificação das metaloproteinases 19

Artigo 1

Tabela 1- Sistema Bethesda para laudos citológicos 28

Tabela 2- Resultados anatomopatológicos dos nódulos 31

Tabela 3- Resultados epidemiológicos dos pacientes 32

Artigo 2

Tabela 1- Intensidade da expressão de MMP-9 e TIMP-2 na ICQ 46

Tabela 2- Distribuição do gênero por grupo de lesão 47

Tabela 3- Características dos tumores no grupo carcinoma 47

LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CA15-3	Antígeno de câncer 15-3
CaP	Carcinoma Prostático
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEC	Carcinoma de células escamosas
CHC	Carcinoma hepatocelular
CPT	Carcinoma papilífero de tireoide
CT	Câncer de Tireoide
DAB	Diaminobenzina
ER	Receptor de Estrogênio *(Estrogen Receptor)*
ERK	Sinalização extracelular regulada por quinases *(Extracellular signal-regulated)*
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos *(Fibroblast growth fator)*
FGFR	Receptor do fator de crescimento de fibroblastos *(Fibroblast growth fator receptor)*
HPB	Hiperplasia prostática benigna
HC	Hospital das Clínicas
HE	Hematoxilina Eosina
ICQ	Imunocitoquímica
IHQ	Imunohistoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
JNK	Quinases c-Jun *(c-Jun N-terminal kinases)*
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami

LPCM	Laboratório de Pesquisas Citológicas e Moleculares
MAPK	Quinases ativadas por mitógenos (Mitogen-activated protein kinase)
MEC	Matriz Extracelular
MMP	Metaloproteinase de Matriz (*Matrix metalloproteinase*)
mRNA	RNA mensageiro
NFKB	Fator nuclear kappa B *(Nuclear Factor Kappa B)*
PAAF	Punção Aspirativa por Agulha Fina
PBS	Tampão Fosfato Salino (*Phosphate Buffered Saline)*
PSA	Antígenos específicos da próstata *(Prostate-Specific Antigens)*
RNAi	RNA interferente
SiRNA	Silenciador de RNA
T3	Triiodotironina
T4	Tetraiodotironina
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCF-4	Fator de transcrição 4 *(Transcription factor 4)*
TGF	Fator de transformação do crescimento *(Transforming growth fator)*
TNM	Classificação dos tumore malignos *(Classification of Malignant Tumours)*
TIMP	Inibidores Teciduais de Metaloproteinase (*Tissue inhibitors of metalloproteinases)*
USG	Ultrassonografia
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular *(Vascular endothelial growth factor)*
WNT	*Wingless*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 12
2 REVISÃO DE LITERATURA 14
2. 1 A TIREOIDE E OS NÓDULOS TIREOIDIANOS 14
2.2 O CÂNCER DE TIREOIDE 15
2.3 DIAGNÓSTICO DOS NÓDULOS DE TIREOIDE 17
2.4 AS METALOPROTEINASES DE MATRIZ (MMPS) 18
2.5 RELAÇÃO ENTRE MMPS E TIMPS NO CÂNCER 21
3 OBJETIVOS 23
3.1 OBJETIVO GERAL 23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 23
4 RESULTADOS 24
4.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E ANATOMOPATOLÓGICO DE PACIENTES PORTADORES DE NÓDULOS TIREOIDIANOS EM PERNAMBUCO 24
4.2 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE MMP-9, MMP-26 E TIMP-2 EM LESÕES TUMORAIS DA TIREOIDE 38
4.3 O PAPEL DA METALOPROTEINASE 26 NO CÂNCER: UMA REVISÃO 56
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS 69
REFERÊNCIAS 70
APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO 72
APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PACIENTES 74
APÊNDICE C – SHORT COMMUNICATION 76
APÊNDICE D – SHORT COMMUNICATION EM COLABORAÇÃO 77
APÊNDICE E - ARTIGO EM COLABORAÇÃO 78
APÊNDICE F - ARTIGO EM COLABORAÇÃO 79
ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA 80

1 INTRODUÇÃO

A tireoide é responsável pela produção de hormônios essenciais para a saúde humanaOs nódulos tireoidianos constituem a principal forma de apresentação de várias doenças desta glândula e acometem cerca de 50% dos indivíduos adultos. A maioria é de natureza benigna enquanto 5% apresentam malignidade, que na maioria dos casos corresponde ao carcinoma bem diferenciado. O câncer de tireoide (CT) é o mais comum do sistema endócrino, afeta mais frequentemente mulheres entre 25 a 65 anos de idade, já sendo a quinta neoplasia maligna mais prevalente nas mulheres brasileiras.

O principal exame para avaliação de nódulos tireoidianos é a ultrassonografia (USG), através da qual é possível estimar o risco de malignidade por diferentes parâmetros. A punção aspirativa com agulha fina (PAAF) para obtenção de amostra citológica, também ajuda nesta avaliação e na distinção entre nódulos benignos e malignos, porém, apresenta ainda limitações como o alto número de amostras indeterminadas que levam o paciente a repunção. Portanto, tem sido crescente a pesquisa por novos métodos ou marcadores para as alterações tireoidianas. O uso de técnicas como a imunocitoquímica e a imunohistoquímica poderiam auxiliar na redução desses percalços.

Os carcinomas tireoidianos são classificados por parâmetros histológicos nos subtipos: papilar e folicular (diferenciados), medular (pouco diferenciado) e anaplásico (indiferenciado). Os diferenciados são geralmente associados a crescimento lento e bom prognóstico. No entanto, alguns casos mostram recorrência relativamente cedo ou metástases, tornando importante a identificação das características de alto risco. Vários fatores têm sido significativos no prognóstico, como idade no momento do diagnóstico, tamanho do tumor, invasão extracapsular e distância da metástase.

Entre os possíveis marcadores para esta avaliação estão as metaloproteinases de matriz (MMPs), enzimas proteolíticas que degradam componentes da matriz extracelular e da membrana basal, atuando em diversos processos fisiológicos e patológicos, incluindo câncer. As MMPs estão envolvidas em diferentes etapas do processo carcinogênico como invasividade, angiogênese e metástases, portanto, a compreensão de seus mecanismos moleculares e de sua expressão/ativação pode auxiliar a desenvolver novas estratégias para o diagnóstico precoce, prognóstico e tratamento do câncer de tireoide.

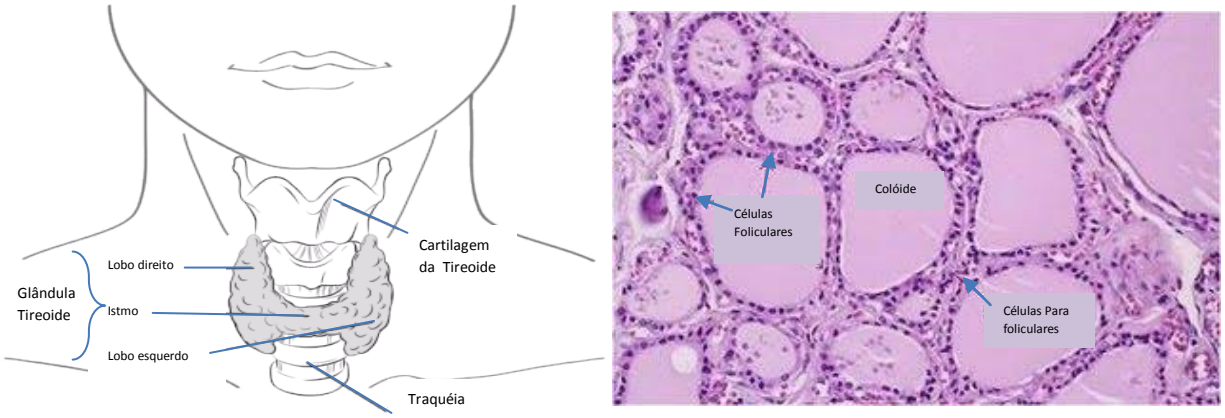
Atualmente, a remoção cirúrgica é a principal forma de tratamento para neoplasias tireoidianas. Este procedimento, além de invasivo e de alto custo, exige que os pacientes façam terapia de reposição hormonal ao longo da vida. Com base nisso, o objetivo deste estudo foi avaliar a expressão das MMPs, bem como de seus inibidores, através de técnicas não cirúrgicas como a imunocitoquímica e imunohistoquímica em amostras citológicas e histológicas de lesões da tireoide obtidas de pacientes atendidos no HC/UFPE. Além disso, a pesquisa também objetivou analisar algumas variáveis epidemiológicas e anatomopatológicas com relação aos fatores de risco para câncer de tireoide.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A TIREOIDE E OS NÓDULOS TIREOIDIANOS

A tireoide é uma glândula endócrina localizada na região cervical anterior, dividida anatomicamente em dois lobos, direito e esquerdo, conectados a traqueia através de uma fina região de tecido, chamada istmo. Apresenta epitélio formado por camada única de células cubóides, denominadas células foliculares, responsáveis pela produção dos hormônios triiodotironina (T3) e tetraiodotironina (T4). Estas células se organizam em círculos, formando o folículo tireoidiano, unidade anátomo-funcional da tireoide, que em seu interior armazena o colóide, substância gelatinosa rica em tireoglobulina. As células parafoliculares correspondem a outro tipo celular da tireoide, também conhecidas por células C, por atuarem na síntese do hormônio calcitonina (Figura 1) (WHITE; PORTERFIELD, 2013).

Figura 1: Anatomia e Histologia da glândula tireoide.

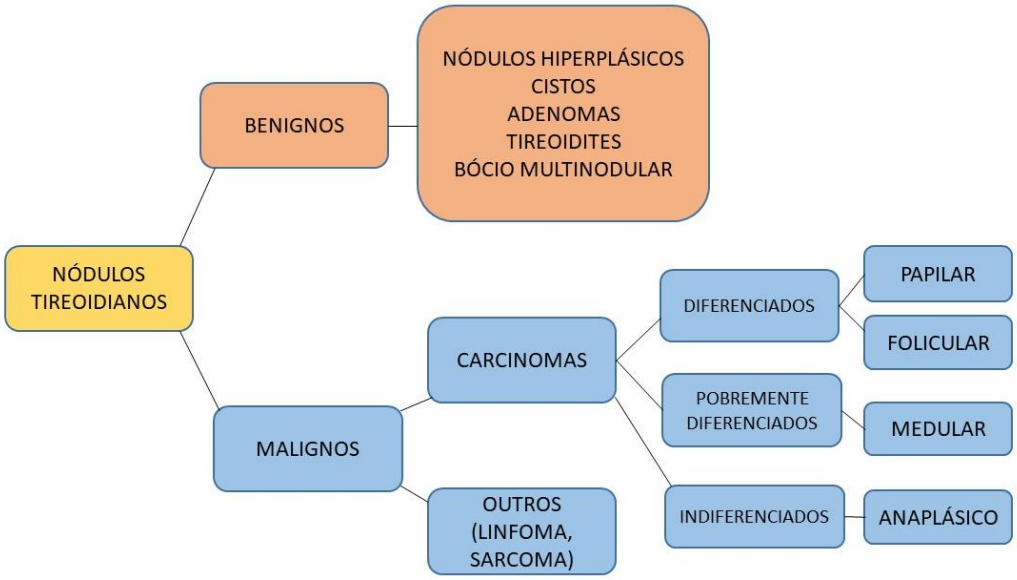


Fonte: http://anatpat.unicamp.br (Acesso em dezembro de 2018).

A tireoide pode ser afetada por diferentes alterações morfológicas, funcionais ou autoimunes. Alterações no tamanho e/ou forma da tireoide são conhecidas como nódulos, que podem se apresentar como uma massa tecidual ou um cisto líquido e caracterizam-se por aumento do volume glandular, crescimento excessivo e transformação estrutural e/ou funcional de uma ou mais áreas do parênquima normal da tireoide, variando desde alguns milímetros até vários centímetros de diâmetro (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2017). Em qualquer população, a doença nodular resulta da interação entre fatores moleculares e ambientais. É um achado bastante comum na prática clínica e podem ser classificados em relação a: quantidade (únicos ou múltiplos); composição **(**císticos, sólidos ou mistos); produção de hormônios (funcionantes ou não) e natureza (benignos ou malignos) (NACHIAPPAN et al., 2014; RODRIGUES; PONTES; ADAN, 2015).

Condições benignas como nódulos hiperplásicos (adenomatoso ou colóide), tireoidites (de Hashimoto, granulomatosa e indolor crônica), adenomas e bócio multinodular (difuso ou colóide) constituem 95% dos casos. Os outros 5% correspondem aos carcinomas, que representam cerca de 90% das neoplasias de tireoide e são de origem epitelial (iniciam-se nas células foliculares e parafoliculares). Outros tipos menos comuns de CT, como sarcoma, linfoma e hemangioendotelioma, possuem origem não epitelial (ADAMI; HUNTER; TRICHOPOULOS, 2008). A classificação anátomoclínica dos nódulos tireoidianos pode ser observada na figura 2.

Figura 2: Esquema da classificação anátomoclínica dos nódulos tireoidianos.



Fonte: o autor (2019).

2.2 O CÂNCER DE TIREOIDE

O câncer de tireoide (CT) é a neoplasia endócrina mais comum, representando cerca de 96% dos casos. Sua incidência é maior em mulheres do que homens, no entanto, estes geralmente procuram o serviço médico em um estágio mais avançado da doença, apresentando extensão extra-tireoidiana, pior prognóstico e menor taxa de sobrevivência (BARBUS et al., 2017). Diferentemente da maioria, o CT apresenta alto acometimento na população adulta jovem, abaixo dos 40 anos. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer, no Brasil, foram estimados para o ano de 2019, 1.570 casos novos para o sexo masculino e 8.040 para o feminino. Na região Nordeste, esta neoplasia é a 5ª mais incidente em mulheres e a 13ª em homens (INCA, 2018).

Nos últimos anos, os casos de CT aumentaram em todo o mundo. Fatores ambientais e de estilo de vida que alteram a estabilidade genética dos tiréocitos, bem como algumas comorbidades podem estar influenciando esse aumento dos índices. Alguns fatores de risco incluem a exposição à radiação, ação do estrogênio no organismo, tireoidite de Hashimoto, dieta e herança genética (LIU; SU; XIAO, 2017). Entretanto, as taxas de mortalidade permanecem relativamente estáveis. Um dos motivos reside no maior acesso a serviços e cuidados de saúde por parte da população bem como na melhoria da capacidade de diagnóstico (avanços tecnológicos de equipamentos, aumento da frequência e extensão de cirurgias e exames histopatológicos, que passaram a usar maior quantidade de espécimes tornando-se mais completos e ampliando o poder de detecção) (BALDINI et al., 2017).

De acordo com os critérios clínicos e histológicos, os carcinomas podem ser classificados como: diferenciados, que inclui os subtipos papilar e folicular, pobremente diferenciados, subtipo medular e indiferenciados, subtipo anaplásico (MENG et al., 2012). O papilar representa aproximadamente 85% dos casos, são prevalentes em adultos com menos de 40 anos e é de duas a quatro vezes mais comuns em mulheres (MENG et al., 2014). Caracteriza-se por crescimento lento, excelente prognóstico e alta taxa de sobrevida, no entanto, 15% dos casos exibem comportamento agressivo com invasão local, metástase para linfonodos cervicais, resistência ao tratamento e mortalidade (ZHANG et al., 2013).

O folicular representa cerca de 9% dos casos e tem bom prognóstico, porém com sobrevida inferior ao papilar. Prevalente em mulheres na faixa etária de 60 anos e disseminação metastática frequentemente para ossos, cérebro, pulmão e fígado. A citologia não permite diferenciação entre adenoma e carcinoma folicular, sendo em geral o diagnóstico histológico cirúrgico necessário para sua distinção (COQUIA; CHU; HAMPER, 2014). Já o medular representa 1% dos casos. Atualmente, a única abordagem para tratamento é ressecção cirúrgica do tumor, pois mostra resposta limitada as terapias, tendendo a metástases cervicais (Wajner et al., 2014). O anaplásico representa 2% dos casos, mais agressivo e caracterizado por invasão generalizada e metástase distante, sendo comumente fatal. Geralmente ocorre em idosos maiores de 60 anos e não apresenta predileção por sexo (ZHANG et al., 2013).

Tiroidectomia total seguido de terapia adjuvante com iodo 131 é o tratamento para a maioria dos pacientes com carcinomas diferenciados, onde o prognóstico geralmente é favorável. No entanto, o iodo 131 é ineficaz em tipos pouco diferenciados e indiferenciados, comtribuindo para prognósticos mais negativos nestes pacientes (BALDINI et al., 2017).

2.3 DIAGNÓSTICO DOS NÓDULOS DE TIREOIDE

A exclusão da neoplasia se constitui o mais importante aspecto da avaliação de nódulos na tireoide. Os fatores que sugerem o diagnóstico de CT incluem principalmente: história familiar de carcinoma medular ou neoplasia endócrina múltipla, crescimento tumoral rápido, nódulo solitário, muito firme ou com mais de 4 cm de diâmetro, fixação em estruturas adjacentes, linfadenopatia regional, metástases à distância, idade menor que 20 ou maior que 60 anos, sexo masculino e história de irradiação da cabeça ou pescoço (ROSÁRIO et al., 2013).

A USG é o exame de escolha para avaliação inicial e é capaz de estimar o risco de malignidade através de parâmetros como: composição, ecogenicidade, margens, forma e evidência de calcificação nos nódulos (KWAK et al., 2011). Entretanto, essas características de forma isolada não permite precisão na distinção entre lesões benignas e malignas, sendo a PAAF usada para essa finalidade (CHENG et al., 2013). A PAAF é o principal método diagnóstico pré-operatório, porém, devido à alta prevalência de nódulos tireoidianos na população, são selecionados para punção apenas aqueles que apresentam maiores risco de malignidade. Os nódulos menores que 1 cm sem qualquer outro fator de suspeita, devem ser acompanhados clinicamente (MAIA, 2007; HORVATH et al., 2009).

A análise citológica pós-punção é realizada com base no sistema Bethesda, criado pelo "National Cancer Institute" dos Estados Unidos (CIBAS; ALI, 2009), que classifica os nódulos em seis categorias, padronizando os laudos como pode ser observado na tabela 1:

Tabela 1 - Sistema Bethesda para laudos citopatológicos de tireoide.

Categoria	Diagnóstico	Risco de malignidade (%)	Orientação Clínica
I	Amostra não diagnóstica ou insatisfatória	-	Repetir PAAF
II	Benigno	0-3	Acompanhamento clínico
III	Atipia ou lesão folicular indetermidada	5-15	Repetir PAAF
IV	Neoplasia folicular ou suspeito	15-30	Lobectomia
V	Suspeito para malignidade	60-75	Lobectomia ou Tireoidectomia
VI	Maligno	97-99	Tireoidectomia

Fonte: adaptado de Cibas e Ali (2009).

Para a amostra citológica ser considerada satisfatória são necessários pelo menos seis conjuntos com no mínimo 10 células cada. Estão incluídos na categoria I: conteúdo líquido de cistos, amostras acelulares ou prejudicadas por mau processamento. A categoria II inclui: nódulos foliculares benignos, bócio e tireoidites. Já a categoria VI corresponde aos carcinomas diferenciados, indiferenciados, metastáticos e linfoma não-Hodgkin (CIBAS; ALI, 2009; COQUIA; CHU; HAMPER, 2014).

A PAAF possui algumas limitações, como alto percentual de achados citológicos indeterminados e falta de precisão na distinção entre benignidade ou malignidade de nódulos categorias III e IV. A falta de diagnóstico definitivo dificulta a condução clínica e frequentemente leva a cirurgias pacientes com nódulos que se mostram benignos à exames histológicos posteriores (DUARTE, 2012). Contudo, tumores mal diferenciados ou com características conflitantes podem se valer de técnicas complementares de detecção como ensaios imunocitoquímicos (ICQ) e imunohistoquímicos (IHQ) com o uso de biomarcadores específicos para alterações tireoideanas afim de definir ou complementar um diagnóstico (LIU;LIN, 2015), como mostrado na figura 3:

Figura 3: Fluxo do diagnóstico de nódulos tireoidianos. O uso de técnicas imunológicas complementares pode reduzir o número de cirurgias ao conferir maior precisão no diagnóstico.

Fonte: o autor (2019).

2.4 AS METALOPROTEINASES DE MATRIZ (MMPS)

MMPs são enzimas proteolíticas ou peptidases que dependem do zinco para a sua atividade. São secretadas por neutrófilos, monócitos, macrófagos, fibroblastos e células tumorais em resposta a diversos estímulos (ARAÚJO et al., 2011). Possuem capacidade de degradar e remodelar os componentes da matriz extracelular (MEC) e desempenham importante papel em vários processos fisiológicos como: clivagem de receptores celulares,

liberação de indutores apoptóticos, ativação ou inativação de quimiocinas e citocinas, atividades celulares de proliferação, diferenciação, migração, angiogênese e defesa do hospedeiro, remodelação tecidual, cicatrização, regulação de processos inflamatórios, além de ser fundamental durante a morfogênese e o desenvolvimento embrionário (MOHD et al., 2013).

Alterações da MEC podem ser um fator crítico no desenvolvimento de alguns processos patológicos, como, diabetes, aterosclerose, artrite, ulceração e câncer (ARAÚJO et al., 2011). Em especial, o processo de carcinogênese requer vários estágios onde o rearranjo da MEC e seu microambiente favorece a conversão do tecido normal em tumoral. As MMPs são as principais mediadoras dessas alterações, estando presentes desde etapas iniciais até estágios tardios do câncer. Já foi demonstrado por vários estudos que a produção de MMPs é exacerbada em diferentes tumores humanos se correlacionando com invasão, angiogênese, metástase e mau prognóstico (YADAV et al., 2014; CHENG et al., 2017; GUAN et al., 2018).

De acordo com Wajner et al. (2014), a família das MMPs inclui cerca de 30 proteínas, divididas e classificadas de acordo com a especificidade ao substrato e estrutura, conforme pode ser observado na tabela 2:

Tabela 2: classificação das MMPs em relação aos seus substratos.

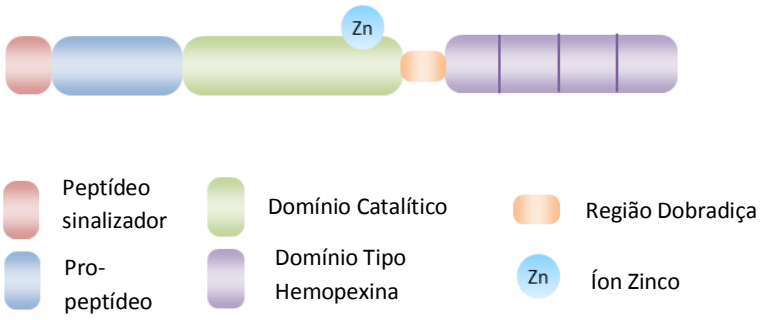
Classificação	Exemplos	Substrato
Colagenases	MMP-1, 8, 13 e 18	Colágenos tipos I, II e III, osteoctina, agreguina, serpona, laminina, macroglobulina- 2
Gelatinases	MMP-2 e 9	Fragmentos já degradados pelas colagenases, colágeno tipo IV, V, VII e X, elastina, fibronectina, fibrilina, osteoctina
Estromelisinas	MMP- 3, 10, 11, 12	Proteoglicanos, E-caderina, elastina, vitronectina, fibrilina, fibronectina, laminina e colágenos III e IV
Matrilisinas	MMP-7 e 26	Elastina, fibrinogênio, fibronectina, laminina, osteoctina, versican, colágeno tipo IV
MMPs tipo membrana	MT- MMP-14, 15, 16, 17, 24 e 25	Colágenos tipo I, II e III, fibronectina, gelatinas, laminina, vitronectina, perlecan, proteoglicanos e ativação de outras MMPs
Outras MMPs	MMP - 20, 21, 22, 23, 27, 28	Gelatinas, agreguinas, laminina, casepina e colágeno IV

Fonte: Adaptado de Mohd et al. (2013).

A estrutura básica de uma MMP consiste em: pró-domínio, responsável por manter a enzima inativa através da interação entre uma cisteína e o íon zinco; o domínio catalítico, que contém o íon zinco e forma o sítio ativo; e o domínio C-terminal de tipo hemopexina,

envolvido nas interações entre proteínas e determinante da especificidade do substrato. O domínio hemopexina liga-se ao domínio catalítico através de uma região de dobradiça flexível, muito importante para a estabilidade enzimática. Também é uma região inibitória, onde ocorre a ligação de TIMP-1 e 2 (MOHD et al., 2013; KESSENBROCK; PLAKS; WERB, 2010). Existem ainda outros domínios que podem variar conforme as classes das MMPs, como mostrado na figura 4:

Figura 4: estrutura funcional básica das MMPs. Matrilisinas contém o peptídeo sinalizador, pró-peptídeo ou pró-domínio e o domínio catalítico, onde fica o íon zinco. Colagenases, gelatinases e estromelisinas possuem além destes, a região dobradiça e o domínio do tipo hemopexina.



Fonte: Adaptado de Mohd et al. (2013).

As MMps são reguladas em 3 níveis, na transcrição, ativação e inibição. A transcrição gênica de uma MMP pode ser induzida em células tumorais ou estromais por vários agentes, como hormônios, oncogenes, citocinas e fatores de crescimento (YADAV et al., 2014). A ativação enzimática pode ocorrer intracelularmente ou no espaço extracelular por proteinases plasmáticas como plasminas, proteinases bacterianas ou outras MMPs. Importante ressaltar que as MMPs são sintetizadas como zimogênios, necessitando de ativação para sua atividade. A desregulação deste equilíbrio pode levar ao dano tecidual, perpetuação da resposta inflamatória, doenças crônicas e câncer (KESSENBROCK, PLACKS, WERB, 2010).

A inibição da atividade proteolítica das MMPs pode ocorrer de forma exógena através de medicamentos sintéticos ou naturais, ou endógena, de forma não específica através de proteínas como inibidor de proteinase α1 e a macroglobina α2. E de forma específica através dos inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs), que se ligam ao sitio de zinco das MMPs em uma proporção de 1:1, bloqueando sua atividade. Os TIMPs constituem uma família de quatro proteínas (TIMP-1,-2,-3,-4). Já foi relatado que TIMP-1 age

preferencialmente sobre MMP-9, TIMP-2 sobre MMP-2 e TIMP-4 sobre MMP-26, contudo não há exclusividade (MOHD et al., 2013).

Além da ação inibitória, os TIMPs também apresentam vários efeitos no crescimento celular, apoptose e diferenciação através de um mecanismo MMP-independente. TIMP-2 é capaz de induzir apoptose e inibir várias fases da angiogênese, logo, sua alta expressão impede o crescimento e a progressão de tumores, invasão e metástase. A redução de TIMP-1 e 2 é observada em diversos tipos de cânceres humano, incluindo os carcinomas de tireoide, particularmente nos mais invasivos e metastáticos (WAJNER et al., 2014).

2.5 RELAÇÃO ENTRE MMPS E TIMPS NO CÂNCER

A correlação entre MMPs e tumores malignos é bem documentada tanto in vitro quanto in vivo (ZHANG et al., 2011; LEE et al., 2011; KHAMIS et al., 2013). Em geral, os níveis são anormalmente induzidos em células tumorais metastáticas e associados a lesões invasivas com mau prognóstico clínico. Porém, desempenham também papéis críticos em estágios iniciais da carcinogênese, como promoção e modulação do crescimento tumoral e angiogênese (NISHI et al., 2013). A MMP-9 tem se mostrado significativamente elevada nos CT, relacionando-se com uma maior agressividade tumoral e elevado potencial metastático (YADAV et al., 2014). Além de apresentar papel crucial na angiogênese por aumentar a biodisponibilidade de fatores pró-angiogênicos. Sua expressão basal é normalmente baixa, enquanto que na maioria dos cânceres é altamente expressa em resposta a fatores de crescimento e citocinas (WAJNER et al., 2014).

MMP-26 tem se mostrado um potencial marcador para diversos tumores de origem epitelial, onde seus níveis elevados se associam a invasividade e metástases. Este fato está intimamente ligado à sua capacidade de ativar a pró-MMP-9. Esse mecanismo foi observado em câncer colorretal (HU et al., 2014), pulmonar (ZHANG et al., 2011), esofágico (AHOKAS et al., 2006), prostático (ZHAO et al., 2003) e mamário (ZHAO et al., 2004). TIMP-2 é capaz de induzir apoptose e inibir angiogênese, logo, sua alta expressão é benéfica para impedir o avanço tumoral. A redução de TIMP-2 é observada em carcinomas papilares e medulares de tireoide e altos níveis estão associados à inibição do crescimento tumoral, angiogênese, invasão e metástase (WAJNER et al., 2014). Entretanto, foi identificado um prognóstico negativo nos tumores malignos com elevado TIMP-2, provavelmente devido aos outros efeitos biológicos dessas proteínas, como a ativação de MMP-2 (CHO MAR et al., 2006).

MMP-26 e TIMP-4 foram co-localizadas em tecidos malignos de mama (ZHAO et al., 2004), próstata (LEE et al., 2006) e pâncreas (BISTER et al., 2007), o que sugere também uma regulação in vivo. Esses estudos mostraram maior expressão de MMP-26 e TIMP-4 em lesões pré-invasivas com redução nos casos mais invasivos. Uma hipótese é que TIMP-4 estaria atuando de modo compensatório para inibir a influência proinvasiva de MMP-26, porém, se a inibição for ineficaz, ocorre o rompimento da membrana basal e liberação das células cancerígenas, que se tornam menos dependentes da MMP-26, resultando na redução da sua expressão juntamente com seu inibidor (ZHAO et al., 2004; LEE et al., 2006).

Compreender o comportamento dessas proteínas em nódulos tireoidianos pode corroborar na avaliação diagnóstica, na elaboração de um indicador prognóstico ou na pesquisa de novos alvos terapêuticos, uma vez que sua inibição modula os processos da MEC dificultado os processos carcinogênicos.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL:

- Avaliar o padrão de expressão das metaloproteinases 9 e 26, bem como, do inibidor TIMP-2 em lesões benignas e malignas da tireoide obtidas de pacientes atendidos no hospital das clínicas de Pernambuco (HC/UFPE).

3.2 ESPECÍFICOS:

- Traçar o perfil epidemiológico (sexo, faixa etária, cor da pele, índice de massa corpórea, histórico familiar) dos pacientes portadores de lesões tireoidianas atendidos no HC/UFPE;
- Estabelecer associação entre o perfil epidemiológico e os resultados das análises citológicas dos nódulos obtidos por PAAF;
- Analisar as principais características anatomopatológicas dos nódulos obtidos de biópsias (número, tamanho e natureza dos nódulos, tratamentos prévios);
- Identificar a expressão de MMP-9 e TIMP-2 em amostras de PAAF de tireoide através da imunocitoquímica;
- Avaliar a expressão de MMP-26 em amostras de biópsias de tireoide através da imunohistoquímica.

4 RESULTADOS

4.1 PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E ANATOMOPATOLÓGICO DE PACIENTES PORTADORES DE NÓDULOS TIREOIDIANOS ATENDIDOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE PERNAMBUCO

Ingrid Tavares de Lima[1], Ana Karina Brizeno Ferreira Lopes[1], Carla Tacilia Bezerra[2], Júlia Maria Dantas Ferreira[2], Jacinto Costa Silva Neto[3], Mário Ribeiro de Melo-Júnior[4].

1 Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, 2 Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), 3 Depto de Histologia e Embriologia (UFPE), 4 Depto de Patologia (UFPE).

RESUMO

De alta prevalência na população adulta, sobretudo em mulheres, os nódulos tireoideanos são resultado da interação entre suscetibilidade genética e fatores ambientais. A maioria são benignos, sendo 7-15% relacionado a malignidade. Este trabalho avaliou o perfil epidemiológico e anatomopatológico de 135 portadores de nódulos tireoidianos atendidos no Hospital das Clínicas de Pernambuco, através de questionários e laudos citológicos. Na análise anatomopatológica, 230 nódulos foram estudados, encontrando-se variação de 1 a 4 por paciente; e diâmetro médio de 2,07cm. Quanto a natureza citológica, dos 120 com resultado satisfatório, 90 (75%) eram benignos, 12 (10%) malignos e 18 (15%) indeterminados ou suspeitos. Na avaliação epidemiológica, 92% foram mulheres; 70% tinham mais de 45 anos; 60% eram pardos; e 66% estavam com peso acima da normalidade. Considerando os nódulos malignos, a maioria ocorreu em indivíduos com 01 lesão (58%) e com tamanho entre 1,0-1,9cm (46,7%); o subtipo carcinoma papilífero foi o mais frequente (91,6%). Observou-se risco 4 vezes maior para câncer em participantes submetidos a iodo radioativo, masculinos e com idade superior a 45 anos, sendo estes fatores conhecidos na literatura. Não foi identificado correlação de malignidade quanto ao número e dimensões dos nódulos, cor da pele e peso dos participantes. Esta pesquisa permitiu um conhecimento sobre a população que é mais acometida por patologias da tireoide no estado de Pernambuco, sendo útil para determinar quem pode se beneficiar de rastreios populacionais para evitar câncer agressivo da tireoide.

PALAVRAS CHAVE: Tireoide. Nódulo Tireoidiano. Carcinoma da Tireoide.

ABSTRACT

High prevalence in the adult population, especially in women, thyroid nodules result from the interaction between genetic susceptibility and environmental factors. Most are benign, with 7-15% being malignant. This study evaluated the epidemiological and anatomopathological profile of 135 patients with thyroid nodules treated at the Hospital das Clínicas de Pernambuco, through questionnaires and cytological reports. In the anatomopathological analysis, 230 nodules were studied, ranging from 1 to 4 per patient; and average diameter of 2.07cm. As to the cytological nature, of the 120 with satisfactory results, 90 (75%) were benign, 12 (10%) malignant and 18 (15%) were undetermined or suspected. In the epidemiological evaluation, 92% were women; 70% were over 45 years old; 60% were brown; and 66% were overweight. Considering the malignant nodules, the majority occurred in individuals with only 01 lesion (58%) and with size between 1.0-1.9cm (46.7%); the papillary carcinoma subtype was the most frequent (91.6%). There was a 4-fold higher risk for cancer in participants submitted to radioactive iodine, men and those older than 45 years, and these factors are known in the literature. No correlation of malignancy was identified regarding the number and dimensions of the nodules, ethnicity and weight of the participants. This research allowed a knowledge about the population that is most affected by thyroid pathologies in the state of Pernambuco, being useful to determine who can benefit from population screening to avoid aggressive thyroid cancer.

KEYWORDS: Thyroid. Thyroid Nodule. Thyroid Neoplasms.

INTRODUÇÃO

A tireoide pode ser afetada por diferentes doenças decorrentes de alterações morfológicas, funcionais ou autoimunes. Alterações no tamanho e/ou forma da tireoide são conhecidas como nódulos, que se caracterizam pelo crescimento excessivo e transformação estrutural e/ou funcional de uma ou mais áreas do parênquima normal (MAZETO, 2014). Os nódulos resultam da interação entre suscetibilidade genética e fatores ambientais. É um achado bastante comum na prática clínica e podem ser classificados em relação a: quantidade (únicos ou múltiplos); composição **(**císticos, sólidos ou mistos); produção de hormônios (funcionantes ou não); natureza (benignos ou malignos) (NACHIAPPAN et al., 2014; RODRIGUES; PONTES; ADAN, 2015).

As condições benignas apresentadas sob a forma nodular constituem 95% dos casos e compreendem os nódulos hiperplásicos (adenomatosos ou colóides), tireoidites, adenomas e bócio multinodular (difuso ou colóide). Já entre as alterações malignas, o maior percentual corresponde aos carcinomas de origem epitelial, ou seja, de células foliculares e parafoliculares. Eles representam cerca de 90% das neoplasias e os tipos histológicos mais frequentes são os diferenciados (papilífero com 75-80% e folicular com 10-20%), seguido dos pobremente diferenciados (medular com 5-10%) e indiferenciados (anaplásico com 1-2%). Outros cânceres menos comuns na tireoide, são de origem não epitelial, como sarcoma e linfoma (ADAMI; HUNTER; TRICHOPOULOS, 2008).

Tiroidectomia total seguido de terapia adjuvante com iodo 131 é o tratamento recomendado para a maioria dos pacientes. Em geral, os carcinomas diferenciados apresentam crescimento lento, melhor prognóstico e taxa de sobrevivência de 90%. Porém, quanto menor o nível de diferenciação maior a agressividade. Os prognósticos mais reservados são observados em carcinomas medulares e anaplásicos, que mostram resposta limitada ou nula as terapias, muitas vezes fatal (ZHANG et al., 2013; WAJNER et al., 2014; BALDINI et al., 2017).

O câncer de tireoide (CT) exibe uma incidência maior em mulheres do que homens, pois estas apresentam uma maior frequência de nódulos tireoideanos, entretanto, a maior probabilidade de malignidade destes tumores ocorre no gênero masculino. Diferentemente da maioria dos cânceres, apresenta alto acometimento em adultos jovens, abaixo dos 40 anos (BARBUS et al., 2017). Fatores ambientais e de estilo de vida que alteram a estabilidade genética dos tiréocitos, bem como algumas comorbidades podem estar influenciando no

aumento dos índices mundiais de CT. Alguns fatores de risco incluem: exposição à radiação, ação estrogênica, tireoidite de Hashimoto, dieta e herança genética (LIU; SU; XIAO, 2017).

A exclusão da neoplasia se constitui o mais importante aspecto da avaliação de nódulos na tireoide. Os fatores que sugerem o diagnóstico de carcinoma tireoidiano incluem principalmente: história familiar de carcinoma medular, crescimento tumoral rápido, nódulo solitário, muito firme ou com mais de 4 cm de diâmetro, metástases à distância, idade menor que 20 ou maior que 60 anos, sexo masculino, história de irradiação da cabeça ou pescoço, entre outros (MAZETO, 2014).

Nódulos palpáveis ou menores podem ser detectados por ultrassonografia em adultos assintomáticos, sendo o exame de escolha para avaliação inicial, entretanto, não permite precisão em distinguir nódulos benignos e malignos, sendo a análise citológica a partir da punção aspirativa (PAAF) o principal método para essa distinção (KWAK et al., 2011; CHENG et al., 2013). Os laudos citológicos das PAAF classificam os nódulos de acordo com o sistema Bethesda em insatisfatórios, benignos, indeterminados, suspeito de malignidade e maligno (CIBAS; ALI, 2009). Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil epidemiológico e anatomopatológico de pacientes portadores de nódulos tireoidianos atendidos no hospital das clínicas de Pernambuco.

METODOLOGIA

Casuística e aspectos éticos: O estudo foi realizado com pacientes voluntários que apresentaram lesões benignas e malignas da tireoide, atendidos no Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no período entre maio de 2015 a maio 2017. Foram obtidas nesta pesquisa 230 amostras citológicas de 135 pacientes com lesão nodular, única ou múltipla, encaminhados ao setor de ultrassonografia para realização de PAAF. Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da mesma universidade com aprovação de número CAAE 47863515.0.0000.5208.

Coletas das amostras: Foram analisados o histórico médico do paciente, seus exames de imagem e laboratoriais, e exposição a fatores de risco para câncer de tiróide, através da aplicação de um questionário padronizado. As coletas das amostras citológicas por PAAF foram realizadas por uma médica colaboradora. Do material aspirado foram confeccionados esfregaços encaminhados ao setor de patologia do hospital, onde posteriormente resgatou-se os laudos citológicos, que foram classificados segundo os critérios de Bethesda (tabela 1).

Tabela 1: Sistema Bethesda de classificação.

Categoria	Diagnóstico	Risco de malignidade (%)	Orientação Clínica
I	Amostra não diagnóstica ou insatisfatória	-	Repetir PAAF
II	Benigno	0-3	Acompanhamento clínico
III	Atipia ou lesão folicular indetermidada	5-15	Repetir PAAF
IV	Neoplasia folicular ou suspeito	15-30	Lobectomia
V	Suspeito para malignidade	60-75	Lobectomia ou Tireoidectomia
VI	Maligno	97-99	Tireoidectomia

Fonte: Adaptado de Cibas, Ali, 2009.

Análise Estatística: Foi realizado avaliação pelo teste qui-quadrado e razão de possibilidade através do *software* MEDCALC® (*Panmun Education, Seoul, Republic of Korea*), para as variáveis categóricas epidemiológicas. Considerou-se o intervalo de confiança (IC) de 95% e *p-valor* < 0.05. As variáveis epidemiológicas usadas foram: sexo (masculino e feminino), idade (maior ou menor de 45 anos), cor da pele (branco, pardo, negro, indígena e amarelo), índice de massa corpórea (elevado – sobrepeso e obesidade e não elevado – normal e baixo peso), histórico familiar da doença, cirurgia prévia de tireoide, medicação prévia para tireoide e tratamento prévio com iodo. As análises foram realizadas pelos sites https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php. e http://www.waent.org/Chi-Square-Test.htm.

RESULTADOS

Resultados Anatomopatológicos

Número de nódulos: Dos 135 pacientes participantes do estudo, que se submeteram a PAAF e responderam aos questionários, 45 foram excluídos por apresentarem resultados citológicos insatisfatórios ou inconclusivos (Bethesda I), com consequente redução do número de nódulos da pesquisa de 230 para 120 nódulos. Os 90 pacientes restantes apresentaram pelo menos um nódulo tireoidiano com resultado satisfatório a punção, sendo 68 com 01 nódulo (75,55%), 15 com 02 nódulos (16,66%), 06 com 03 nódulos (6,67%) e 01 com 04 nódulos (1,11%), totalizando 120 nódulos (tabela 2). Dentre os nódulos malignos encontrados em nossa pesquisa (n=10), 58% ocorreram em indivíduos com 01 nódulo e 32% em pacientes com mais de um nódulo; apenas 01 paciente (10%) apresentou mais de uma lesão maligna na glândula, com 03 nódulos.

Tamanho dos nódulos: Os nódulos avaliados foram divididos de acordo com seu diâmetro em 4 grupos: menores de 1,0cm; entre 1,0 cm e 1,9cm; entre 2,0cm e 2,9cm; e igual ou maior a 3,0cm. Respectivamente, estes grupos apresentaram a seguinte quantidade de lesões: 4 (3,33%), 75 (62,5%), 22 (18,33%) e 19 (15,83%), como pode ser visualizado na tabela 2. O diâmetro médio das lesões foi de 2,07cm, variando de 0,6cm a 7,2cm. Dentre os nódulos com suspeita ou confirmação de malignidade, sete (46,7%) apresentaram dimensões entre 1,0-1,9cm. Porém, não foram considerados significantes estatisticamente (OR=0.410, IC=0.1342-1.1986, p=0.1019, para nódulos <2,0cm).

Natureza dos nódulos: Dos 120 nódulos analisados, 90 foram benignos (75%) sendo as seguintes lesões: bócio nodular (81 casos) e tireoidite crônica (9 casos). 15 nódulos tiveram diagnóstico de atipia ou lesão folicular de significado indeterminado (12,5%). 1 caso de neoplasia folicular foi confirmado (0,83%) e 2 casos tiveram suspeita de malignidade não confirmada (1,66%). 12 casos tiveram diagnóstico maligno (10%), onde destes somente um caso de carcinoma pouco diferenciado do tipo anaplásico foi observado e os 11 restantes representados por carcinoma papilífero. Nenhum caso de carcinoma medular foi identificado no estudo. Os resultados estão resumidos na tabela 2.

Tratamentos prévios: Analisando o histórico médico, foi observado que 4 dos 90 pacientes (4,44%) realizaram cirurgia prévia da tireoide (tireoidectomia parcial), e destes, 1 confirmou malignidade (OR=2.7407, IC=0.2571-29.2199, *p*=0.4037). 3 pacientes tiveram passado de tratamento tireoidiano com iodo radioativo, e somente 1 destes foi diagnosticado com câncer (carcinoma papilífero); os outros 2 eram portadores de tireoidite crônica. Afora risco quatro vezes maior de câncer observado nestes pacientes, não foi possível estabelecer resultados estatísticos (OR=4.2778, IC=0.3519-52.0008, *p*=0.2541).

Devido a indisponibilidade da maioria dos exames laboratoriais no momento da PAAF, a avaliação da função tireoidiana foi realizada através de levantamento baseado no uso de medicações específicas. 22 pacientes fazem uso de medicação para tratamento de hipotireoidismo com levotiroxina (16,3%); 1 para tratamento de hipertireoidismo (0,74%); e 2 (1,48%) não souberam informar qual medicamento utilizava. Com malignidade citológica confirmada, 04 pacientes recebiam tratamento para tireoide, 03 com reposição hormonal devido hipotireoidismo, e 01 não especificou a finalidade; não se evidenciou significância (OR=1.8095, IC=0.4642-7.0539, *p*=0.3929). Os dados podem ser melhor visualizados na tabela 2.

Resultados Epidemiológicos

Gênero: Dos 90 pacientes da pesquisa, 83 foram do gênero feminino (92%) e 7 do masculino (8%) (tabela 3). No grupo dos pacientes com casos malignos (N=10), foram acometidos dois homens (20%) e oito (80%) mulheres. Entretanto, quando se considera a proporção total de analisados, 28,6% dos pacientes masculinos apresentaram câncer, contra 9,6% dos femininos. Apesar de observado um fator de risco de quase quatro vezes mais de malignidade entre os homens, essa diferença não foi significante estatisticamente (OR=3.7500, IC 0.0443-1.6045, *p*=0.1489).

Faixa Etária: A idade dos participantes do estudo variou entre 15 e 81 anos, com média de 51,6 anos. Os pacientes foram divididos em 3 grupos: crianças e adolescentes - 1 paciente com idade abaixo de 18 anos (1,11%); adultos - 26 pacientes com idade entre 18 e 45 anos (28,88%); e adultos maiores de 45 anos e idosos - 63 pacientes (70%) (tabela 3). Entre os diagnosticados com câncer, apenas 1 possuía idade inferior a 45 anos. Foi observado um fator de risco de 4,3 vezes maior de neoplasia de tireoide quando ultrapassado o limite de 45 anos, porém sem valores significantes estatisticamente (OR=4.333, IC 0.5210-36.0415, *p*=0.1749).

Auto declaração da cor da pele: a mais prevalente foi a parda, com 54 pacientes (60%); 1 paciente não respondeu ao questionário (1,11%); os demais se intitularam como: brancos - 25 (27,78%); negros - oito (8,89%) e amarelos - dois (2,22%). Nenhum paciente indígena participou do estudo (0%) (tabela 3). Dos 10 pacientes com malignidade, sete (70%) são pardos, e os demais brancos. Nenhum paciente negro ou amarelo apresentou câncer. Não houve significância estatística nesta análise (pardo/branco OR=1.0922, IC=0.2577-4.6292, *p*=0.9047; negro/não-negro OR=0.4062, IC=0.0218-7.5664, *p*=0.5460).

Índice de massa corpórea: Em relação ao IMC, os participantes foram classificados em: baixo peso, peso normal, sobrepeso e obesidade. 77 pacientes souberam informar seu peso e altura. Destes, 28 estavam com sobrepeso (31,11%); 23 com obesidade (25,55%); 24 com peso ideal (26,66%); 2 com baixo peso (2,22%) (tabela 3). Ou seja, mais de 66% dos pacientes estavam com IMC acima da faixa na normalidade. No grupo de pacientes com malignidade houveram sete (70%) pacientes na mesma situação (OR=1.9091, IC=0.3673-9.9240, *p*=0.4420).

Histórico Familiar: 9 estudados (10%) apresentaram casos anteriores na família, porém não souberam informar o tipo histológico. Um único portador de malignidade (10%) tinha este histórico, apresentando citologia para carcinoma papilífero variante folicular (OR=1.0, IC=0.1118-8.9473, *p*=1.0000).

Tabela 2. Resultados anatomopatológicos dos nódulos de tireoide de pacientes atendidos no HC. A tabela mostra: a quantidade de nódulos por paciente (120 nódulos distribuídos em 90 pacientes); o tamanho dos nódulos puncionados; a distribuição dos diagnósticos dos nódulos analisados; os tratamentos realizados anteriormente a PAAF no total de pacientes (N=90) e no grupo com malignidade confirmada (N=10).

Resultados Anatomopatológicos		
Número de nódulos		
1 nódulo	68 pacientes	75,55%
2 nódulos	15 pacientes	16,66%
3 nódulos	06 pacientes	6,67%
4 nódulos	01 paciente	1,11%
Tamanho dos nódulos		
<1,0 cm	04 pacientes	3,33%
1,0-1,9 cm	75 pacientes	62,5%
2,0-2,9 cm	22 pacientes	18,33%
>3,0 cm	19 pacientes	15, 83%
Natureza dos nódulos		
Benignos	90 nódulos	75%
Malignos (carcinomas)	12 nódulos	10%
Indeterminados (laudos diversos)	18 nódulos	15%
Tratamentos prévios	**Todos os casos (N=90)**	**CasosMalignos (N=10)**
Cirurgia	04 pacientes	01 paciente
Iodo radioativo	03 pacientes	01 paciente
Medicação	25 pacientes	04 pacientes
Total: 120 nódulos	**90 pacientes**	**100%**

Fonte: O autor (2019).

Tabela 3. Resultados epidemiológicos dos pacientes portadores de nódulos tireoidianos atendidos no HC. A tabela mostra a distribuição dos pacientes com relação a gênero, IMC, auto declaração da cor da pele e faixa etária de acordo com os dados obtidos através do questionário aplicado durante as coletas.

Resultados Epidemiológicos		
Gênero		
Feminino	83 pacientes	92%
Masculino	07 pacientes	8%
Faixa etária		
Até 18 anos	01 paciente	1,11%
Entre 18 e 45 anos	26 pacientes	28,88%
Acima de 45 anos	63 pacientes	70%
Cor da pele		
Brancos	25 pacientes	27,78%
Negros	08 pacientes	8,89%
Pardos	54 pacientes	60%
Amarelos	02 pacientes	2,22%
Não informou	01 paciente	1,11%
IMC		
Baixo peso	02 pacientes	2,22%
Sobrepeso	28 pacientes	31,11%
Peso ideal	24 pacientes	26,66%
Obesidade	23 pacientes	25,55%
Não informou	13 pacientes	14,44%
Total	**90 pacientes**	**100%**

Fonte: O autor (2019).

DISCUSSÃO

A relação entre número de nódulos e prognóstico da doença tireoidiana ainda não está bem estabelecida. Estudo de Castro et al. (2011) mostrou que nódulos menores em número e tamanho tiveram maior chance de serem malignos. Maia et al. (2011) avaliaram que nódulos com diâmetro maior que 2 cm apresentaram maior risco de malignidade enquanto que Rio et al. (2011) não encontraram diferença significativa em relação ao tamanho e número dos nódulos benignos e malignos. A pesquisa de Frates et al. (2006) revelou que não houve diferença na prevalência de CT entre pacientes com nódulos únicos ou múltiplos e ainda ressaltaram que, quanto maior o número de nódulos, diminui a chance do nódulo maior ser maligno. Esses achados corroboram com nossos resultados que também não mostraram maior ou menor risco de malignidade com relação ao número e diâmetro dos nódulos avaliados.

As lesões tireoideanas podem ser classificados citológicamente de acordo com o sistema Bethesda em: benignos, indeterminados, neoplasia folicular, suspeito de malignidade e maligno (CIBAS; ALI, 2009). Esta pesquisa evidenciou 75% de casos benignos e 10% com confirmação de malignidade, concordante com a literatura (GRANT et al., 2015). Os casos malignos são representados, sobretudo, pelos carcinomas diferenciados. Dentre eles, destaca-se o subtipo papilar ou papilífero, presente em 11 dos 12 casos encontrados em nossa pesquisa. Esse tipo de carcinoma representa 80% dos casos de CT e é caracterizado por crescimento lento e bom prognóstico. No entanto, 10-15% dos casos exibem comportamento agressivo com invasão local, metástase à distância e mortalidade (MENG et al., 2014).

Espécimes inadequadas advindas de amostras com pouca ou nenhuma celularidade representativa do nódulo ou que passaram por problemas técnicos de processamento, inviabilizam o diagnóstico. Nesta pesquisa, 110 amostras foram consideradas insatisfatórias (Bethesda I), e excluídas da análise. Esse número é considerado elevado, e poderia ser justificado devido ao serviço de coleta ser realizado em hospital escola, onde médicos em início de capacitação realizam a maioria dos exames. Os casos indeterminados, 15 amostras, representam um dilema clínico devido à dificuldade de classificá-los como benignos ou malignos, necessitando em geral de PAAF com intervalo de 6 meses para nova avaliação. Assim como, nos casos de neoplasia folicular, encontrado em 1 resultado, pois a citologia é limitada para verificar critérios determinantes de malignidade, como invasão de vasos e/ou cápsula, necessitando de investigação histológica (CIBAS; ALI, 2009; CERUTTI, 2007).

Em termos de medicamentos usados previamente pelos pacientes, a relação negativa com a prescrição medicamentosa encontrada, é apoiada pela constatação de a maioria dos pacientes com câncer ser eutiroideanos, ou seja, apresentarem funções normais da tireoide, assim como o hipotireoidismo não apresentar associação de elevação de risco (HEGEDUS et al., 2004). Existe vínculo estabelecido entre desordens tireoideanas benignas, como bócio e adenoma, com CT (ADAMI; HUNTER; TRICHOPOULOS, 2008); principalmente linfoma e carcinoma papilífero em portadores de Doença de Hashimoto (PAIVA et al., 2017), não sendo, entretanto, encontrado relevância na pesquisa, devido o pequeno número de pacientes com estas lesões. O mesmo foi percebido com relação a exposição a radiação, através do histórico de iodo radioativo, confirmado por três pacientes.

Em relação aos aspectos epidemiológicos, como esperado, a maioria dos nódulos foi observado em mulheres. De acordo com a American Cancer society (2017), a incidência de doenças da tireoide ocorre 4 a 5 vezes mais no gênero feminino, sendo o risco de desenvolver distúrbios de 1 em cada 8 mulheres. O CT é o oitavo câncer feminino mais comum no mundo e o quinto no Nordeste do Brasil (INCA, 2018). Estudos sugerem que fatores hormonais podem explicar essa maior incidência devido a exposição a contraceptivos, terapia de reposição hormonal e a própria ação estrogênica sobre o organismo (LIU; SU; XIAO, 2017). Rajoria et al. (2012) observaram que o estrogênio e seus receptores desempenham papel importante no CT, uma vez que os tireócitos são responsivos a esse hormônio, podendo modular a proliferação das células cancerígenas.

Não há consenso em relação ao gênero masculino ser considerado fator de risco para CT. Embora haja disparidade de gênero no CT em relação a incidência, agressividade e prognóstico sua causa é mal compreendida. Os subtipos histológicos menos agressivos, como papilar e folicular são mais comuns nas mulheres, enquanto os mais agressivos, como medular e anaplásico, têm distribuição de gênero semelhante (RAHBARI; ZHANG; KEBEBEW, 2010). Um maior risco de carcinoma foi identificado nos homens da pesquisa, no entanto, essa diferença não foi significativa; achado semelhante foi encontrado por Jin et al. (2010).

Em relação a faixa etária, nossos resultados convergem parcialmente com outros estudos que demonstraram maior taxa de ocorrência de nódulos nos extremos de idade, isto é, idade inferior a 30 anos e superior a 50 anos (JIN et al., 2010). Nachiappan et al. (2014) ressaltam que a chance de um nódulo tireoidiano ser maligno é maior quando ocorre em indivíduo de idade inferior aos 15 ou superior aos 45 anos. Não foi encontrado nenhum paciente nesta faixa etária durante a pesquisa. A correlação com indivíduos acima de 45 anos foi positiva. Nas mulheres, a taxa de incidência aumenta acentuadamente entre 40 a 49 anos, enquanto nos homens o pico é de 60 a 69 anos. Sendo coincidentes aos 85 anos de idade. Esta maior incidência de malignidades em mulheres pré-menopáusicas sugere um possível papel do estrogênio, como já foi discutido acima (RAHBARI; ZHANG; KEBEBEW, 2010). A idade também influencia o subtipo histológico. De acordo com Adami, Hunter e Trichopoulos (2008), o carcinoma papilar tem uma incidência máxima em mulheres de 45-55 anos. Mais de 50% dos pacientes em nosso estudo têm idade entre 40-59 anos e dos 11 participantes com suspeita ou confirmação de CT, 6 estão incluídos neste subgrupo de idade.

As disparidades raciais são reconhecidas em diferentes tipos de câncer, por exemplo: cânceres de cólon, pulmão, próstata, gástrico e cabeça e pescoço tem maior prevalência e mortalidade entre as populações negras. No entanto, o CT tem sido historicamente mais incidente em brancos, seguidos por asiáticos (MAGRENI et al., 2015). Estudo de Aschebrook-Kilfoy et al. (2013) nos EUA, encontrou menor risco de carcinoma papilífero em negros quando comparado a brancos. Esta informação apoia os nossos resultados que mostraram apenas 8,89% dos pacientes negros com nódulos de tireoide. A exposição diferencial a fatores de risco, genéticos, ambientais e acesso a cuidados médicos podem explicar a alta variabilidade na incidência de CT por área geográfica e etnia (PELLEGRITI et al., 2013).

De acordo com Kitahara et al. (2011), uma forte correlação entre obesidade e o risco de mortalidade por CT foi demonstrada através da análise de cinco estudos prospectivos. Entretanto, vale ressaltar que como a obesidade é uma síndrome multifatorial, a contribuição de cada característica (tipo de adiposidade, distúrbio metabólico, resistência à insulina) não está clara. Adami, Hunter e Trichopoulos (2008) observaram em seu estudo uma relação entre IMC elevado com o risco de CT, particularmente em mulheres. Estes resultados podem estar associados ainda com o hipotireoidismo, que pode levar ao ganho de peso. Em nosso estudo, pelo menos 16% dos pacientes foram diagnosticados com hipotireoidismo.

Há uma forte relação de fatores genéticos com CT. Uma série de síndromes hereditárias como: a síndrome da neoplasia endócrina múltipla, síndrome de Cowden, síndrome de Pendren, síndrome de Werner, complexo de Carney, polipose adenomatosa familiar possuem risco aumentado de desenvolver esta malignidade. Aproximadamente 20% dos casos de CT estão associados a um gene autossômico dominante, sendo a principal correlação com o tipo medular (ADAMI; HUNTER; TRICHOPOULOS, 2008). Nenhum paciente avaliado com história familiar apresentou este subtipo, provavelmente devido ao pequeno tamanho da amostra, uma vez que o carcinoma medular é mais raro, o que poderia explicar a ausência desses casos em nossa pesquisa.

CONCLUSÃO

Este estudo permitiu um conhecimento sobre a população que é mais acometida por nódulos benignos e malignos da tireoide no estado de Pernambuco. Os dados desta pesquisa podem ser utilizados em pesquisas futuras, visando determinar quais pacientes necessitam de maior atenção na saúde básica, com consultas direcionadas para especialistas na área, e

possam se beneficiar de rastreio populacionais, com exames ultrassonográficos de rotina, para evitar o diagnóstico tardio do câncer, melhorando a qualidade de vida destes pacientes.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

ADAMI, H.; HUNTER, D.; TRICHOPOULOS, D. Thyroid Cancer. In: **Textbook of Cancer epidemiology.** Oxford, University Press, 2008. p. 127-154.

ASCHEBROOK-KILFOY, B. et al. The acceleration in papillary thyroid cancer incidence rates is similar among racial and ethnic groups in the United States. **Ann Surg Oncol**. v. 20, n. 8, p. 2746-53, 2013.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Thyroid Cancer.** Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/thyroid-cancer/about/what-is-thyroid-cancer.html >. Acesso em: 20 ago. 2017.

BALDINI, E. et al. New perspectives in the diagnosis of thyroid follicular lesions. **Int J Surg.** v. 41, 2017.

BARBUS, E. et al. Quality of life in thyroid cancer patients: A Literature Review. **Clujul Medical.** v. 90, n. 2, p. 147-153, 2017.

CASTRO, M. R. et al. Predictors of malignancy in patients with citologically suspicious thyroid nodules. **Thyroid.** v. 21, n. 11, p. 1191-1198, 2011.

CERUTTI, J. M. Nodule diagnosed as follicullar patterned lesion: Are biomarkers the promise? **Arq Bras Endocrinol Metabol.** v. 51, p. 832-842, 2007.

CHENG, S.P. et al. Characterization of thyroid nodules using the proposed thyroid imaging reporting and data system (TI-RADS). **Head & Neck.** v. 35, n. 4, p. 541–547, 2013.

CIBAS, E. S.; ALI, S. Z. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. **Am J Clin Pathol**. v. 132, p. 658–665, 2009.

FRATES, M. C. et al. Prevalence and distribution of carcinoma in patients with solitary and multiple thyroid nodules on sonography. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 91, n. 9, p. 3411-3417, 2006.

GRANT, E. G. et al. Thyroid ultrasound reporting lexicon: White paper of the ACR thyroid imaging, reporting and data system (TIRADS) committee. **J Am Coll Radiol.** v. 12, p. 1272–1279, 2015.

HEGEDUS, L. The Thyroid Nodule. **New Eng J of Med.** v. 351, p. 1764–1771, 2004.

INCA. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018**. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/sintese-de-resultados-comentarios.asp>. Acesso em: 20 dez. 2018.

JIN, M. R.; McHenry, C. R. The utility of preoperative serum thyroid- stimulating hormone level for predicting malignant nodular thyroid disease. **Am J Surg.** v. 199, n. 3, p. 294-298, 2010.

KITAHARA, C. M. et al. Obesity and thyroid cancer risk among U.S. men and women: a pooled analysis of five prospective studies. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**. v. 20, n. 3, p. 464-472, 2011.

KWAK, J.Y. et al. Thyroid Imaging Reporting and Data System for US Features of Nodules: A Step in Establishing Better Stratification of Cancer Risk. **Radiology.** v. 260, n. 3, p. 892–899, 2011.

LIU, S.; SU, L.; XIAO, H. Review of factors related to the thyroid cancer epidemic. **Int J Endocrinol.** v. 5308635, 2017.

MAIA, A. L. et al. Nódulos de Tireoide e Câncer Diferenciado de Tireoide: Consenso Brasileiro. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 51, p. 867-93, 2007.

MAGRENI, A. et al. The Effects of Race and Ethnicity on Thyroid Cancer Incidence. **JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.** v. 141, n. 4, p. 319-323, 2015.

MAZETO, G. M. F. S. Nódulo da Tireoide: Quando e Como Investigar. **Prática Hospitalar**. v. 95, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/267545288. Acesso em: 18. mar. 2018.

MENG, X. Y. et al. Immunohistochemical levels of COX-2, MMP-9 and VEGF in papillary thyroid carcinoma and their clinicopathological correlations. **J Int Med Res**. v. 42, n. 3, p. 619–627, 2014.

NACHIAPPAN, A. C. et al. The thyroid: review of imaging features and biopsy techniques with radiologic-pathologic correlation. **Radiographics.** v. 34, n. 2, p. 276-93, 2014.

PAIVA, C. R. et al. Association between Hashimoto's Thyroiditis and Thyroid Cancer in 64,628 Patients. **Front Oncol.** . v. 7, p. 1–10, 2017.

PELLEGRITI, G. et al. Worldwide Increasing Incidence of Thyroid Cancer: Update on Epidemiology and Risk Factors. **J Cancer Epidemiol.** v. 965212, 2013.

RAHBARI, R.; ZHANG, L.; KEBEBEW, E. Thyroid cancer gender disparity. **Future Oncol**. v. 6, n. 11, p. 1771–1779, 2010.

RAJORIA, S. et al. Estrogen activity as a preventive and therapeutic target in thyroid cancer. **Biomed pharmacother.** v. 66, n. 2, p. 151-158, 2012.

RIO, A. L. et al. Avaliação de fatores clínicos, laboratoriais e ultrassonográficos preditores de malignidade em nódulos tireoidianos. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v. 55, n. 1, p. 29-37, 2011.

RODRIGUES, H.; PONTES, A.B.N.; ADAN, L.F. Doença nodular da tireoide: dificuldades e perspectivas no diagnóstico pré-operatório. **Rev. Bras. Med.** v. 72, p. 44-48, 2015.

WAJNER, S. M. et al. Reduced tissue inhibitor of metalloproteinase- 2 expression is associated with advanced medullary thyroid carcinoma. **Oncol Lett.** v.7, n. 3, p. 731-737, 2014.

ZHANG, C. Y. et al. Curcumin inhibits invasion and metastasis in K1 papillary thyroid cancer cells. **Food Chem.** v.139, n. 2013, p. 1021–1028, 2013.

4.2 ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE MMP-9, MMP-26 E TIMP-2 EM LESÕES TUMORAIS DA TIREOIDE

Ingrid Tavares de Lima[1], Ana Karina Brizeno Ferreira Lopes[1], Romildo Luciano da Silva [2], Mário Ribeiro de Melo-Júnior[3], Jacinto da Costa Silva Neto[4].

1 Pós-graduação em Biologia Aplicada a Saúde (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE), 2 Pós-Graduação em Morfotecnologia (UFPE), 3 Departamento de Patologia (UFPE), 4 Departamento de Histologia e Embriologia (UFPE).

RESUMO

O diagnóstico convencional do carcinoma de tireoide (CT) ainda apresenta limitações que poderiam ser reduzidas com o auxílio de marcadores e técnicas como a imunocitoquímica (ICQ) e a imunohistoquímica (IHQ). As metaloproteinases de matriz (MMPs) são endopeptidases diretamente relacionadas ao processo carcinogênico, tendo sua expressão exacerbada em células tumorais e interferindo em diferentes etapas da progressão neoplásica. Nosso objetivo foi avaliar a expressão das MMPs (9 e 26) e seu inibidor TIMP-2 em nódulos tireoidianos para compreender seus mecanismos de atuação e viabilidade no suporte ao diagnóstico, prognóstico e tratamento do CT. Foram obtidas 230 amostras citológicas e 100 amostras histológicas de pacientes com lesões na tireoide para avaliação ICQ e IHQ, respectivamente. Na análise citológica dos 230 nódulos obtidos, 110 foram insatisfatórios, 90 benignos, 18 indeterminados e 12 apresentaram malignidade. A ICQ foi realizada para expressão de MMP-9 e TIMP-2, sendo observado que 52% dos casos controle reagiram para MMP-9, já no grupo carcinoma houve positividade de 81,81% para TIMP-2 e 100% para MMP-9. A análise dos laudos histopatológicos mostrou características de agressividade tumoral no grupo carcinoma, tais como encapsulamento, infiltração e metástase linfonodal. A IHQ foi realizada para avaliar a expressão de MMP-26 nessas amostras. Houve reatividade acentuada e difusa nos grupos bócio e carcinoma, sem diferenças específicas entre as lesões. Nossos resultados demonstraram que a ICQ de MMP-9 e TIMP-2 foi útil para diferenciar benignidade de malignidade em tireoide, no entanto, a IHQ de MMP-26 apresentou falta de especificidade nesta distinção, embora seja um potencial marcador em outras neoplasias.

PALAVRAS CHAVE: Metaloproteinase de Matriz. Inibidor tecidual de metaloproteinase. Imunocitoquímica. Imunohistoquímica. Câncer de Tireoide.

ABSTRACT

The conventional diagnosis of thyroid carcinoma (TC) still presents limitations that could be reduced with the aid of markers and techniques such as immunocytochemistry (ICC) and immunohistochemistry (IHC). Matrix metalloproteinases (MMPs) are endopeptidases directly related to the carcinogenic process, their expression being exacerbated in tumor cells and interfering in different stages of neoplastic progression. Our objective was to evaluate expression of MMPs (9 and 26) and its TIMP-2 inhibitor in thyroid nodules in order to understand their mechanisms of action and viability in supporting diagnosis, prognosis and treatment. We obtained 230 cytological samples and 100 histological samples from patients with thyroid lesions for ICC and IHC evaluation, respectively. In the cytological analysis of the 230 nodules obtained, 110 were unsatisfactory, 90 benign, 18 undetermined and 12 presented malignancy. The ICC was performed for expression of MMP-9 and TIMP-2, and 52% of the control cases reacted to MMP-9, whereas in the carcinoma group there was positivity of 81.81% for TIMP-2 and 100% for MMP- 9. The analysis of histopathological reports showed characteristics of tumor aggressiveness in the carcinoma group, such as encapsulation, infiltration and lymph node metastasis. IHC was performed to evaluate the expression of MMP-26 in these samples. There was a pronounced and diffuse reactivity in the goiter and carcinoma groups, with no specific differences between the lesions. Our results demonstrated that the ICC of MMP-9 and TIMP-2 was useful to differentiate benignity of thyroid malignancy, however, the MMP-26 IHC showed lack of specificity in this distinction, although it is a potential marker in other neoplasms.

KEYWORDS: Matrix Metalloproteinase. Tissue inhibitor of metalloproteinase. Immunocytochemistry. Immunohistochemistry. Thyroid Cancer.

INTRODUÇÃO

Os tumores tireoidianos acometem cerca de 50% da população adulta, entretanto, 5% são malignos e a maioria dos casos são carcinomas bem diferenciados (BARBUS et al., 2017; LIU; SU; XIAO, 2017). Sua incidência é maior no sexo feminino, sendo o quinto câncer mais frequente nas mulheres brasileiras (INCA, 2018). O diagnóstico convencional do carcinoma de tireoide (CT) por ultrassonografia e PAAF apresenta algumas limitações, o que leva a cirurgia alto número de pacientes com nódulos que se mostram benignos à exames posteriores. O uso de técnicas não cirúrgicas como imunocitoquímica (ICQ) e imunohistoquímica (IHQ), podem definir ou auxiliar no diagnóstico e prognóstico de tumores mal diferenciados ou com características conflitantes, além de reduzir custos e procedimentos mais invasivos aos pacientes (NACHIAPPAN et al., 2014; LIU; LIN, 2015).

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são enzimas que acumulam diversas funções fisiológicas e patológicas através da degradação e remodelamento da matriz extracelular (MEC). São conhecidos cerca de 30 membros da família MMP, classificados de acordo com sua estrutura e especificidade de substrato. A expressão exacerbada é induzida em células tumorais e estroma circundante, interferindo em diferentes etapas da progressão tumoral, como angiogênese, invasão e regulação da resposta imune. Além disso, também atuam na ativação de fatores de crescimento, apoptóticos e angiogênicos, moléculas de adesão, citocinas, quimiocinas e receptores (HADLER OLSEN et al., 2013; GALLIERA et al., 2015).

Já foi demonstrado que MMP-9 apresenta expressão basal baixa, elevando-se no câncer em resposta a fatores de crescimento e citocinas. A MMP-9 atua degradando o colágeno IV, principal componente da membrana basal, ao se ligar a receptores de superfície CD44 que se encontram aumentados nas células cancerígenas (CHIU et al., 2015; JABLONSKA et al., 2016, CID et al., 2018). Estudos recentes vêm revelando diferentes vias de ativação desta enzima no câncer de tireoide papilar (CTP) (LUO et al., 2017; HUANG et al., 2017; GUAN et al., 2018; JIA et al., 2018), onde a expressão aumentada de MMP-9 está relacionada a crescimento e progressão tumoral, maior invasividade e metástases. Outras pesquisas também associaram essa elevação a mau prognóstico tanto em CT (MENG et al., 2014; MARECKO et al., 2014) quanto em câncer de mama (STANKOVIC et al., 2010; CID et al., 2018), próstata (SCHEVEIGERT et al. 2013; POUYANFA et al., 2016) e colorretal (BENDARDAF et al., 2010; SVAGZDYS et al., 2011).

A MMP-26 é constitutiva no útero, sendo altamente expressa em tumores de origem epitelial, havendo evidências de seu potencial biomarcador para câncer de mama e próstata (LEE et al., 2011; CHENG et al., 2017), entretanto, não há estudos sobre sua expressão em tumores tireoidianos. Os principais substratos de MMP-26 incluem fibrinogênio, fibronectina e colágeno tipo IV e sua localização é intracelular, diferente da maioria das MMPs que são extracelulares. Apesar disso, pequenas quantidades são secretadas onde pode atuar na ativação da pró-MMP-9 (LI et al., 2014). Já foi relatado que esse mecanismo favorece a invasão e metástase em câncer colorretal (HU et al., 2014), esofágico (AHOKAS et al., 2006), prostático (ZHAO et al., 2003) e mamário (ZHAO et al., 2004). Por outro lado, evidências recentes sugeriram um efeito benéfico e protetor de MMP-26 em câncer de próstata (KHAMIS et al., 2013; 2016), o que denota maior necessidade de investigar sua potencialidade.

A atividade das MMPs pode ser regulada pelos inibidores TIMPs que bloqueiam as formas ativas da enzima ou interferem na ativação dos zimogênios, sendo sua expressão regulada por citocinas e fatores de crescimento (YADAV et al., 2014; JABLONSKA et al., 2016). Os TIMPs apresentam efeitos no crescimento celular, sendo capazes de induzir apoptose e inibir angiogênese, por isso, originalmente constatou-se que sua elevação reduz a progressão de tumores, invasão e metástase (GALLIERA et al., 2015). Níveis aumentados de TIMP-2 promoveu melhor prognóstico em câncer de pulmão (ZHU et al., 2015), ovário (HALON et al., 2012) e endométrio (HONKAVUORI et al., 2007). Entretanto, outros estudos associaram seu aumento a maior agressividade tumoral e pobre prognóstico em câncer de tireoide (WAJNER et al., 2014), estômago (WANG et al., 2017), reto (GROBLEWSKA et al., 2014) e mama (CID et al., 2018). Esses resultados provavelmente advêm de outros efeitos biológicos dessas enzimas que também atuam de modo MMP-independente (LAWICKI et al., 2015).

Este estudo tem como objetivo avaliar a expressão das MMPs (9 e 26) e TIMP-2 em tumores tireoidianos devido a sua relação direta nos processos carcinogênicos e compreender os mecanismos de expressão, ativação e inibição dessas enzimas as quais podem auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias para o diagnóstico, prognóstico e tratamento do CT.

METODOLOGIA

Foram selecionadas 230 amostras citológicas e 100 amostras histológicas obtidas de pacientes com lesões na tireoide atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC/UFPE) no período de 2015 a 2017. Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética da mesma universidade (CAAE 47863515.0.0000.5208) (Anexo C). O material obtido por PAAF teve parte utilizada para avaliação citológica no hospital e outra parte armazenada em solução preservante (*LiquiPREP cytology processing kit – Sirius*) e enviada ao laboratório para análise ICQ. Os blocos histológicos e seus respectivos laudos foram resgatados no setor de patologia do hospital e encaminhados ao laboratório para IHQ.

Análise Citológica: As PAAF foram analisadas pelos médicos patologistas do HC e os diagnósticos foram emitidos com base no sistema Bethesda (Cibas, Ali, 2009), que padroniza os laudos citológicos, classificando os nódulos em categorias, onde Bethesda I são amostras não diagnósticas; Bethesda II são benignos, Bethesda III correspondem a atipia ou lesão folicular indeterminada, Bethesda IV compreendem neoplasias foliculares, Bethesda V são lesões suspeitas de malignidade e Bethesda VI são nódulos malignos confirmados.

Análise Imunocitoquímica: As lâminas foram preparadas de acordo com o fabricante do kit de citologia em meio líquido (*LiquiPREP cytology processing kit – Sirius*). As amostras que estavam em solução preservante (LiquiPREP *preservative solution*) foram centrifugadas e tiveram o sobrenadante descartado. Ao *pellet* foi adicionada a solução que promove adesão a lâmina (LiquiPREP *Cellular Base Solution*), e a amostra foi homogeneizada. Alíquotas de cerca de 20 µl foram colocadas em lâminas de vidro silanizadas e processadas para ICQ. O protocolo usado foi o descrito pelo fabricante do kit de detecção *reveal* (SPD 125, *Spring bioscience*): as lâminas foram imersas em solução decrescente de álcool etílico (100%, 100% e 70%) e água destilada durante 5 minutos cada, seguindo para a recuperação antigênica com tampão citrato (10 mM, pH 6,0). Após o resfriamento até 25ºc, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena e das proteínas inespecíficas com as soluções do kit (*Hydrogen Peroxide Block e Protein Block*) e os tecidos foram incubados com os anticorpos primários anti-MMP-9 (SC 21733, 1:200) e anti-TIMP-2 (SC 21735, 1:400) em câmara úmida, *overnight*, a 4ºC.

Em seguida, o material foi lavado com tampão fosfato salino (PBS, 100 mM, pH 7,2) e incubado com o anticorpo secundário e terciário contido no kit (*reveal complemente* e *reveal HRP*). Após lavagens com PBS, os tecidos seguiram para etapa de revelação com diaminobenzidina (DAB) e contracoloração com hematoxilina, imersão em água corrente e

destilada, seguida de solução alcoólica crescente (70%, 100% e 100%) por 5 minutos cada. Ao final, foram imersas em xilol, retiradas, secadas em temperatura ambiente e montadas com lamínulas interfaceadas com resina sintética para análise microscópica. O controle negativo foi realizado utilizando o mesmo protocolo de reatividade, na ausência do anticorpo primário.

Análise Imunohistoquímica: Os blocos contendo parte representativa do tumor foram submetidos a microtomia e cortes de 5µ seguiram para reação. As lâminas foram desparafinizadas em xilol, banhadas em solução decrescente de álcool etílico (100%, 100% e 70%) e água deionizada por 5 minutos cada. Após a recuperação antigênica com tampão citrato (10 mM, pH 6,0) e o bloqueio da peroxidase endógena e proteínas inespecíficas com as soluções contidas no kit Envision Flex (*Dako Denmark A/S*), as amostras foram incubadas com o anticorpo primário anti-MMP-26 (FNab 05242, Fine Test, nas diluições 1:100, 1:200, 1:300 e 1:500) em câmara úmida, *overnight*, a 4ºC. Em seguida, o material foi imerso em PBS (100 mM, pH 7,2) e incubado com o polímero HRP (*Horseradish peroxidase*). Após lavagens, os tecidos foram incubados com o revelador DAB e contracorados com hematoxilina, imersos em água corrente e solução alcoólica crescente (70%, 100% e 100%) por 5 minutos cada, imersos em xilol e as lâminas foram montadas com lamínulas interfaceadas com resina sintética. O controle negativo foi realizado utilizando o mesmo protocolo na ausência do anticorpo primário. Para controle positivo foram utilizadas amostras conhecidas de adenocarcinoma endometrial.

Obtenção e Análise de Imagens: As células marcadas foram observadas em microscópio *Zeiss AxioCam e* sistema de captura de imagens *Zen Blue edition 2011*. Utilizou-se o parâmetro de quantificação manual, considerando as células epiteliais do parênquima. A reação foi descrita como negativa para menos de quatro células epiteliais por campo e positivas quando na análise semiquantitativa de intensidade da reação no núcleo e/ou citoplasma nas células epiteliais. A reatividade foi considerada positiva leve (04 a 09 núcleos e/ou citoplasmas reativos), positiva moderada (10 a 15 e intensidade superior a leve) e positiva acentuada (acima de 15 e intensidade superior a moderada).

Análise Estatística: para ICQ foi realizado teste qui-quadrado e razão de possibilidade através do software MEDCALC® (*Panmun Education, Seoul, Republic of Korea*), bem como análise de regressão logística para a expressão de MMP-9 e TIMP-2. Considerou-se o intervalo de confiança (IC) de 95% e p-valor < 0.05.

RESULTADOS

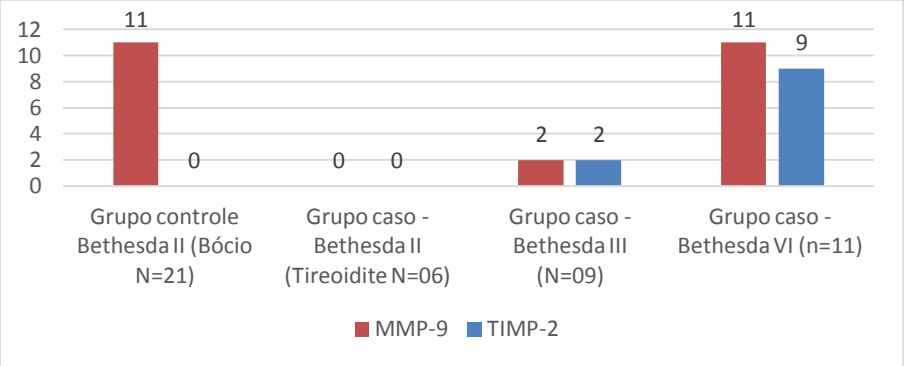
Avaliação Citológica

Dos 230 nódulos obtidos durante a coleta das amostras e classificados de acordo com o sistema Bethesda, 110 foram insatisfatórias e excluídas (Categoria I). 90 foram benignas (Categoria II), sendo incluídos neste grupo casos de bócio nodular (81 casos) e tireoidite linfocítica crônica (9 casos). 15 nódulos tiveram natureza indeterminada (Categoria III), 1 caso de neoplasia folicular (Categoria IV) foi confirmado e 2 casos tiveram suspeita de malignidade não confirmada (Categoria V). A malignidade foi diagnosticada em 12 lesões (Categoria VI), sendo 1 caso de carcinoma anaplásico e os 11 restantes carcinoma papilífero, com ou sem variante folicular e diferenciação oncocítica. Nenhum caso de carcinoma medular foi identificado.

Avaliação Imunocitoquímica

Nesta análise foram consideradas apenas células foliculares para configurar uma expressão positiva, seja com padrão difuso ou granular. Entretanto, foi observada reatividade em células estromais (mio/fibroblastos e endoteliais) e inflamatórias, não incluídas nos objetivos. Foram selecionadas 47 das 120 amostras viáveis, que foram divididas em 2 grupos. Grupo controle contando com 21 amostras de resultado benigno (Categoria II - bócio nodular) e grupo caso contendo 26 amostras, sendo 06 com diagnóstico de tireoidite linfocítica crônica (Categoria II), 9 de atipias ou lesões foliculares indeterminadas (Categoria III) e 11 carcinomas (Categoria VI), este último grupo foi composto apenas de casos de carcinoma papilífero. De uma maneira geral, com relação a expressão imunocitoquímica de MMP-9 e TIMP-2, foram obtidos os seguintes resultados (Gráfico 1):

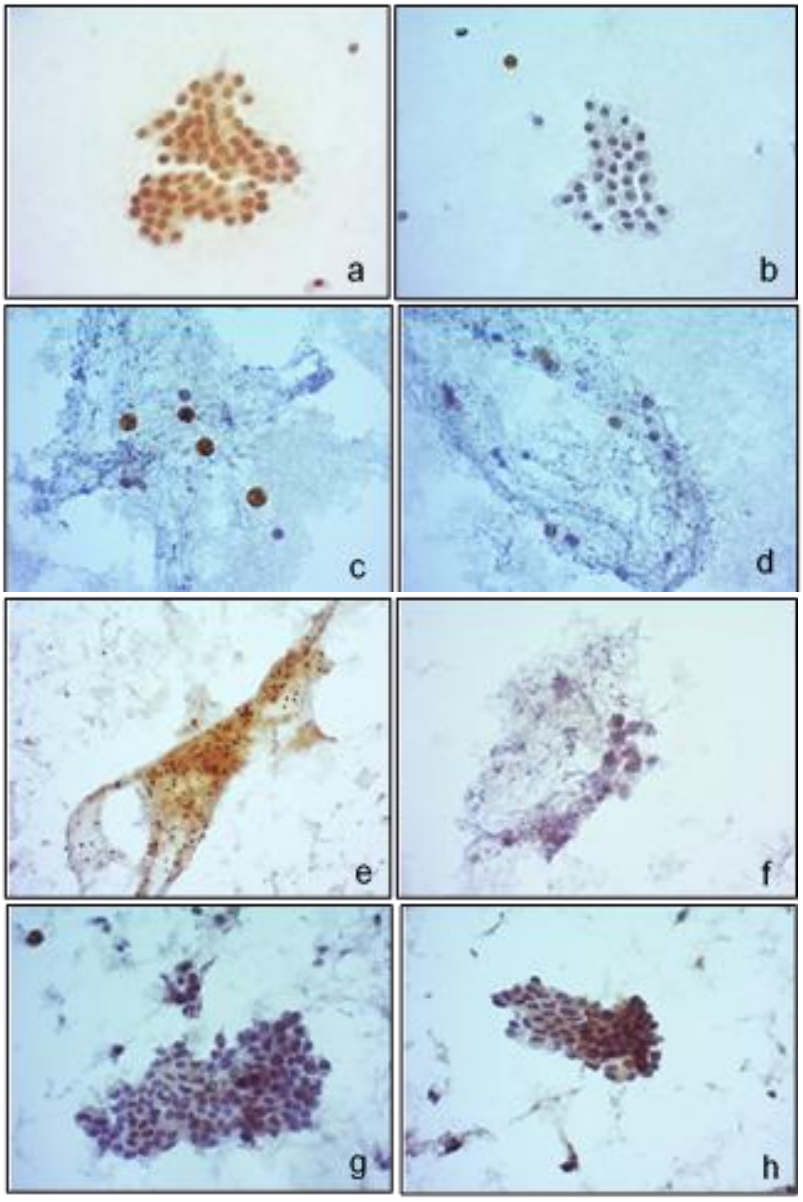
Gráfico 1: Resultado da expressão de MMP-9 e TIMP-2 na imunocitoquímica de acordo com a classificação Bethesda



Fonte: O autor (2019).

No grupo controle (categoria II) nenhuma das 21 amostras apresentou expressão para TIMP-2 e 11 reagiram para MMP-9 (52%). A intensidade da reação pode ser vista na tabela 2. No grupo caso (categorias II, III e VI) as amostras de tireoidite crônica (categoria II) não apresentaram reatividade. 02 amostras de atipia (categoria III) expressaram TIMP-2 (22,22%) e MMP-9 (22,22%). Nos carcinomas (categoria VI), 9 reagiram positivamente para TIMP-2 (81,81%) e 11 para MMP-9 (100%) (Figura1).

Fig 1 Imunocitoquímica: expressão positiva de MMP-9 (a) e negativa de TIMP-2 (b) em bócio nódular; ausência de expressão de MMP-9 (c) e TIMP-2 (d) em tireoidite e em atipias MMP-9 (e) e TIMP-2 (f); expressão de MMP-9 (g) e TIMP-2 (h) em carcinomas papilíferos de tireoide.



Fonte: O autor (2019).

Tabela 1: Nota: Avaliação imunocitoquímica. PAAF de nódulo tireoidiano. Intensidade da expressão dos anticorpos no grupo controle (Bethesda II), grupo caso com tireoidite crônica linfocítica (Bethesda II), grupo caso com atipia de significado indeterminado (Bethesda III) e grupo caso com malignidade (Bethesda VI).

Intensidade da Expressão Imunocitoquímica	**Negativa**	**Leve**	**Moderada**	**Acentuada**
Categoria II (N=21)				
MMP-9	10	03	08	0
TIMP-2	21	0	0	0
Categoria II (N=06)				
MMP-9	06	0	0	0
TIMP-2	06	0	0	0
Categoria III (N=09)				
MMP-9	07	0	02	0
TIMP-2	07	01	01	0
Categoria VI (N=11)				
MMP-9	00	0	10	01
TIMP-2	02	04	05	0

Fonte: O autor (2019).

Os anticorpos para MMP-9 tiveram reatividade predominante nos carcinomas, porém não foi atingido valores significativos na análise em regressão logística. Quando utilizado o teste de razão de possibilidade, confrontado benignos e malignos, observou-se maior expressão nos nódulos cancerígenos (OR=33.0000, IC=17623-617.9305, *p*=0.0193); bem como quando contraposto casos de tireoidite e atipias com carcinomas (OR=40.0370, IC=2.1821-734.5967, *p*=0.0129). As maiores diferenças em regressão logística ocorreram na análise de TIMP-2, com valores significativos quando se comparou a expressão entre lesões malignas e as demais (*p*=0.000126), assim como quando se considerou isoladamente a intensidade da reação: + (*p*=0.002460) e ++ (*p*=0.000541), não se tendo relevância estatística na reação intensa (+++). Evidencia-se ainda a mesma relação contrastando carcinomas com atipias (*p*=0.00919), e se relevado a força de expressão, com valores significativos para o padrão ++ (*p*=0.0202). Em análise de razão de possibilidade, defrontando benignidade com malignidade e confrontando tireoidite e atipias com carcinomas, verificou-se resultados significantes em ambas as análises (OR=348.3333, IC=13.0475-9299.5450, *p*=0.0005 e OR=153.0000, IC=12.4288-1883.4542, *p*=0.0001 respectivamente).

Avaliação Histológica

Os espécimes (n=100) foram divididos em três grupos: tireoide saudável (10 casos), bócio nodular (25 casos) e carcinoma papilar de tireoide (65 casos). A análise dos laudos histopatológicos mostrou que a incidência de lesões tireoidianas foi maior no gênero feminino (88% do total de casos), como mostra a tabela 2. No grupo carcinoma observamos características de agressividade tumoral como: presença de cápsula em 09 casos (14%), infiltração linfática e/ou vascular em 12 casos (18%), metástase linfonodal em 10 casos (6,5%) e grau de estadiamento TNM, onde a maior parte dos tumores foram classificados como T3NxMx (13 casos). O grau de estadiamento só foi obtido em 41 dos 65 laudos, uma vez que esta informação esteve ausente em 24 deles (tabela 3).

Tabela 2: Distribuição do gênero por grupo.

Gênero	**Feminino**	**Masculino**
Tireoide saudável (n=10)	07	03
Bócio nodular (n=25)	20	05
Carcinoma Papilar (n=65)	61	04
Total (n=100)	**88**	**12**

Fonte: O autor (2019).

Tabela 3: Características dos tumores no grupo carcinoma.

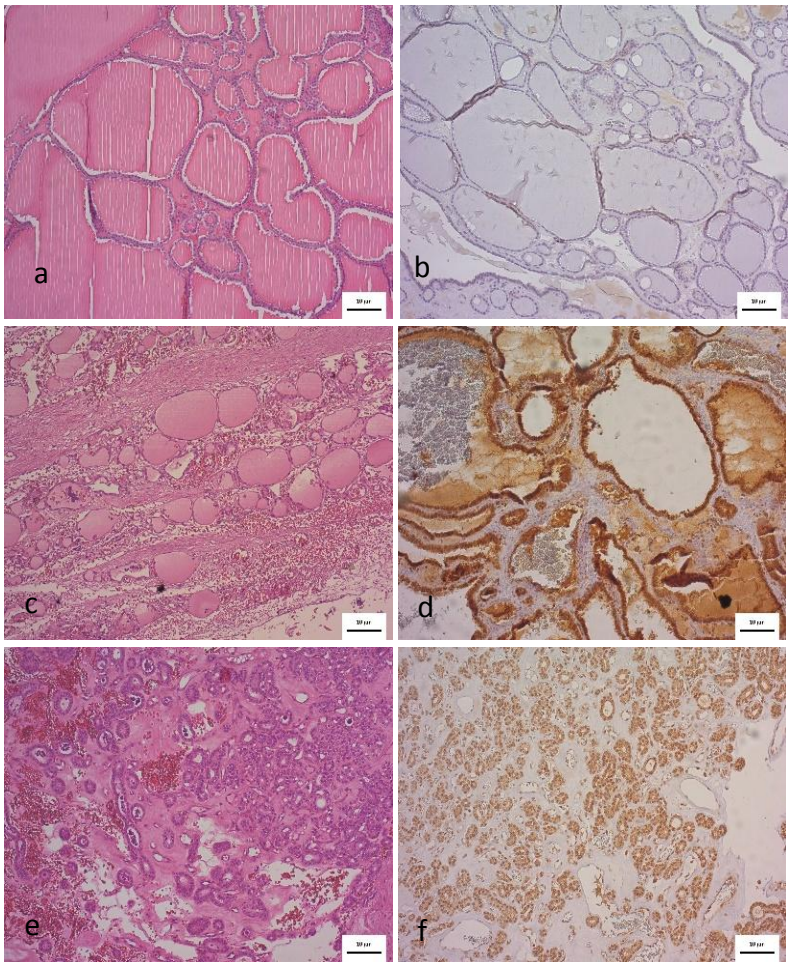
Característica	**Presença**	**Ausência**
Cápsula	09	56
Infiltração linfática ou vascular	12	53
Metástase linfonodal	10	55
TNM		
T1NxMx	04	
T1aNxMx	11	
T1bNxMx	03	
T2NxMx	07	
T3NxMx	13	
T3N1Mx	03	
Ausente	24	
Total	**65**	

Fonte: O autor (2019).

Avaliação Imunohistoquímica

A IHQ demonstrou que não houve reação de MMP-26 em nenhuma amostra do grupo de tecidos saudáveis de tireoide enquanto que nos grupos bócio e carcinoma houve expressão acentuada e de padrão difuso em todos os casos. Curiosamente, não houve diferença na intensidade e padrão de reatividade entre esses grupos quando utilizada diluição de anticorpo 1:100 (Figura 2). Contudo, quando analisadas as diluições 1:200, 1:300 e 1:500, as mesmas amostras revelaram resultados negativos. Apesar disso, as amostras de carcinoma endometrial usadas como controle mostraram reação positiva em todas as concentrações testadas. O mesmo foi observado em amostras de carcinoma prostático, onde se observou variações de reatividade entre lesões benignas e malignas de próstata (dados ainda não publicados).

Fig 2: Fotomicrografias da tireoide. Análise histológica (HE) e imunohistoquímica (MMP-26) nos grupos estudados. Tireoide saudável demonstrando arquitetura tecidual padrão da glândula (a) e ausência de positividade na IHQ (b). Tecido com bócio nodular (c) e intensa expressão de MMP-26 (d). Tecido com carcinoma papilifero de tireoide (e) e marcada imunopositividade de MMP-26 na IHQ (f).



Fonte: O autor (2019).

DISCUSSÃO

Entre as amostras citológicas obtidas por PAAF, foram prevalentes os casos de bócio entre as lesões benignas e os carcinomas papilíferos entre as malignas. Este subtipo possui bom prognóstico e é o mais frequente dentre os carcinomas diferenciados, o que foi confirmado em nossa pesquisa, com percentual superior ao da literatura (50-80%) (MENG et al., 2014; INCA, 2018). Já os de pouca ou nenhuma diferenciação são mais raros e agressivos. Preston-Martin et al. (2013) avaliaram 2.725 casos em diferentes áreas geográficas e identificou 2% de medular e 1% de anaplásico. Concordante com as estatísticas, encontramos 01 caso de CT anaplásico e nenhum de medular. Também encontramos considerável número de amostras insatisfatórias, corroborando a revisão de Lee et al. (2018) que revelou altas taxas de inadequação em outros estudos, sendo esta uma grande desvantagem da PAAF.

A ICQ é uma técnica vantajosa, pois permite a avaliação pré-cirúrgica dos nódulos, reaproveitamento das lâminas utilizadas na análise citológica, elevando a eficácia da PAAF (RATOUR et al., 2013; ABEDI-ARKENANI, 2014). Além disso, pode auxiliar no acompanhamento de nódulos Bethesda I e III que necessitam repunção periódica e no diagnóstico diferencial entre adenoma e carcinoma folicular (CIBAS; ALI, 2009; ROTTUNTIKARN et al., 2017). Nossos resultados mostraram que a ICQ para MMP-9 e TIMP-2 possibilitou a distinção entre nódulos benignos e malignos da tireoide. Meng et al. (2012) e Marecko et al. (2014) encontraram resultados similares através de IHQ e associaram a elevação dessas enzimas a um maior comprometimento clínico, invasão extratireoidiana e metástases. Aratake et al. (2010) e Koo et al. (2011) compararam as duas metodologias e obtiveram o mesmo perfil de coloração em CTP por ambas as técnicas.

Em nossa pesquisa MMP-9 mostrou-se superexpressa em 100% dos casos de carcinoma papilar da tireoide (CPT). De acordo com Yu et al. (2016), o gene MMP-9 é diferencialmente expresso em CT, sendo uma proteína chave desta patologia. Sua superexpressão também foi observada por Stankovic et al. (2010) em câncer de mama, onde altos níveis séricos foram associados a estágios TNM avançados e metástases; e por Pouyanfa et al. (2016) em câncer de próstata, onde a alta expressão gênica remeteu a maiores pontuações no score de Gleason. Intensa positividade IHQ de MMP-9 demonstrou relação com mau prognóstico em câncer de pulmão (PENG et al., 2012), enquanto que a regulação negativa foi compatível com melhor taxa de sobrevida em pacientes com câncer colorretal (BENDARDAF et al., 2010).

Ao degradar a MEC, MMP-9 ativa e eleva a biodisponibilidade do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que estimula a formação de novos vasos e migração de células endoteliais; do fator de crescimento transformador beta (TGF-β), que promove crescimento tumoral e facilita metástases através de danos a MEC; e do fator de crescimento básico de fibroblastos (FGF), que regula proliferação celular e cuja ativação dos receptores resulta em cascatas intracelulares, como a do fator de transcrição kappa B (NF-κB) (JABLONSKA et al., 2016; GUAN et al., 2018). Chiu et al. (2015) demonstraram que a inibição de NF-kB resultou na redução de MMP-9 e, consequentemente, da motilidade e invasão de células de câncer de próstata. Por outro lado, Li et al. (2011) mostrou que sua ativação elevou os níveis de MMP-9 em células de carcinoma hepatocelular.

A elevação de MMP-26 tem sido implicada na patogênese e agressividade de várias neoplasias de origem epitelial, porém, ainda não havia relatos sobre sua expressão em tireoide. Nós não identificamos diferenças específicas de expressão entre lesões benignas e câncer de tireoide por IHQ, no entanto, outros estudos mostraram imunoreatividade diferenciada de MMP-26 em câncer de próstata (CHENG et al., 2017), pulmão (LI et al., 2009), reto (HU et al., 2014), pâncreas (BISTER et al., 2007), ovário (RIPLEY et al., 2006), endométrio (NISHI et al., 2013) e esôfago (YAMAMOTO et al., 2004). O promotor do gene MMP-26 possui elementos responsivos ao estrogênio que estimulam sua transcrição em neoplasias reguladas por hormônios como mama e ovário (GUO et al., 2018). A tireoide também sofre influência estrogênica, fato associado aos altos índices de CT em mulheres (LIU; SU; XIAO, 2017). Rajoria et al. (2012) mostrou que os tireócitos são responsivos ao estrogênio e sua ação pode modular a proliferação celular e metástases em CT. Esses resultados sugerem que análises de expressão gênica poderiam revelar relação entre MMP-26 e câncer de tireoide.

Outro fator que favorece a agressividade tumoral mediada por MMP-26 é sua capacidade de ativar a pró-MMP-9. Já foi demonstrado que essas MMPs são co-localizadas em tumores de mama e próstata (ZHAO et al., 2004; ZHAO et al., 2003). Além disso, o silenciamento gênico de MMP-26 resultou em redução da invasão e dos níveis de MMP-9 em células de carcinoma pulmonar (ZHANG et al., 2011). Além disso, a ação de MMP-26 na angiogênese foi avaliada por Deng et al. (2010) em glioma e por Yang et al. (2012) em mama, onde células transfectadas com MMP-26 ativo tiveram aumento na quantidade e densidade de novos vasos, provavelmente pela ativação de MMP-9. Maiores investigações podem associar a ativação de MMP-9 em CT via MMP-26.

Os TIMPs inibem a atividade das MMPs, por isso, inicialmente, pensava-se que atuavam apenas impedindo a progressão do câncer. Wajner et al. (2014) observaram que TIMP-2 elevado em CT medular conduziu a melhor prognóstico e menor avanço tumoral, enquanto sua redução foi nítida nos casos mais invasivos e metastáticos. Entretanto, nossos resultados mostraram TIMP-2 elevado em 81% dos nódulos malignos. Marecko et al. (2012) encontrou resultados semelhantes e a elevação foi associada ao tamanho do tumor e invasão extratireoidiana. Forte reatividade de TIMP-2 também foi associada a recorrência e prognóstico adverso em câncer de mama (CID et al., 2018) e colorretal (GROBLEWSKA et al., 2014). Lawicki et al. (2015) relataram que a análise dos níveis plasmáticos de TIMP-2 demonstrou alta especificidade (95%), sensibilidade (61%) e valor preditivo positivo (96%), semelhantes ao antígeno de câncer 15-3 (CA15-3) para câncer de mama.

Também foi reportado por Wang et al. (2017) que TIMP-2 é um dos principais genes envolvidos nos mecanismos e prognóstico desfavorável do câncer gástrico, sendo um marcador chave na progressão desta neoplasia. O aumento paradoxal de TIMP-2 em nosso estudo pode ser justificado pela sua multifuncionalidade, sua participação em atividades não proteolíticas e na ativação de MMP-2. Além de possuir ação anti-apoptótica que tornam as células cancerígenas mais resistentes e induzir ativação da via MAPK/ERK resultando em proliferação celular e ativação de MMPs favorecendo a expansão tumoral (CID et al., 2018).

CONCLUSÕES

Nossos resultados mostraram que a ICQ de MMP-9 e TIMP-2 foi útil para diferenciar casos benignos e malignos da tireoide, podendo aumentar a avaliação preditiva, a precisão dos laudos citológicos e reduzir cirurgias para confirmação histológica. Embora o potencial de MMP-26 como biomarcador já venha sendo estudado em diferentes tumores, nós demonstramos sua falta de especificidade na distinção entre câncer e lesões benignas de tireoide. Até onde sabemos, nosso estudo é o primeiro a examinar a expressão de MMP-26 em tireoide, o que limitou a comparação dos resultados com os de outros autores neste tecido. Além disso, detectamos a expressão por IHQ. Análises de expressão gênica podem apoiar a relevância da MMP-26 em CT.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

ABEDI-ARDEKANI, B.; VIELH, P. Is Liquid-Based Cytology the Magic Bullet for erforming Molecular Techniques? **Acta Cytol.** v. 58, n. 6, p. 574–581, 2014.

AHOKAS, K. et al. Matrix Metalloproteinases 21 and 26 Are Differentially Expressed in Esophageal Squamous Cell Cancer. **Tumor Biol.** v. 27, p. 133–141, 2006.

ARATAKE, Y. et al. Emmprin (CD147) expression and differentiation of papillary thyroid carcinoma: implications for immunocytochemistry in FNA cytology. **Cytopathology.** v. 21, n. 2, p. 103-110, 2010.

BARBUS, E. et al. Quality of life in thyroid cancer patients: A Literature Review. **Clujul Medical.** v. 90, n. 2, p. 147-153, 2017.

BENDARDAF, R. et al. MMP-9 (gelatinase B) expression is associated with disease-free survival and disease-specific survival in colorectal cancer patients. **Cancer Invest**. v. 28, n. 1, p. 38-43, 2010.

BISTER, V. et al. Increased expression of matrix metalloproteinases-21 and -26 and TIMP-4 in pancreatic adenocarcinoma. **Modern Pathol.** v. 20, p. 1128–1140, 2007.

CHENG, M. et al. MMP26: A Potential Biomarker for Prostate Cancer. **J Huazhong Univ Sci Technol**. v. 37, n. 6, p. 891-894, 2017.

CHIU, C. T. et al. Hibiscus sabdariffa Leaf Extract Inhibits Human Prostate Cancer Cell Invasion via Down-Regulation of Akt/NF-κB/MMP-9 Pathway. **Nutrients.** v. 7, n. 7, p. 5065–5087, 2015.

CIBAS, E. S.; ALI, S. Z. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. **Am J Clin Pathol**. v. 132, p. 658–665, 2009.

CID, S. et al. Prognostic Influence of Tumor Stroma on Breast Cancer Subtypes. **Clin Breast Cancer.** v. 18, n. 1, p. 123-133, 2018.

DENG, Y. et al. Expression of matrix metalloproteinase-26 promotes human glioma U251 cell invasion in vitro and in vivo. **Oncol Rep.** v. 23, p. 69-78, 2010.

GALLIERA, E. et al. Matrix metalloproteinases as biomarkers of disease: updates and new insights. **Clin Chem Lab Med.** v. 53, n. 3, p. 349-55, 2015.

GUAN, H. et al. INAVA promotes aggressiveness of papillary thyroid cancer by upregulating MMP9 expression. **Cell Biosci.** v. 5, p. 8-26, 2018.

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

GROBLEWSKA, M. et al. Serum levels and tissue expression of matrix metalloproteinase 2 and tissue inhibitor of metalloproteinases 2 in colorectal cancer patients. **Tumour Biol.** v. 35, n. 4, p. 793-802, 2014.

HADLER-OLSEN, E. et al. Matrix metalloproteinases in cancer: their value as diagnostic and prognostic markers and therapeutic targets. **Tumor Biol.** v. 34, n. 4, p. 2041-2051, 2013.

HALON, A. et al. Enhanced immunoreactivity of TIMP-2 in the stromal compartment of tumor as a marker of favorable prognosis in ovarian cancer patients. **J Histochem Cytochem.** v. 60, n. 7, p. 491-501, 2012.

HONKAVUORI, M. et al. MMP-26 expression associates with CA 125 and clinical course in endometrial carcinoma. **Gynecol Oncol**. v. 104, n. 1, p. 217-221, 2007.

HU, Q. et al. Matrilysin-2 expression in colorectal cancer is associated with overall survival of patients. **Tumor Biol.** v. 35, p. 3569–3574, 2014.

HUANG, L. et al. AEG-1 associates with metastasis in papillary thyroid cancer through upregulation of MMP2/9. **Inter J Onco.** v. 51, p. 812-822, 2017.

INCA. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018**. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/sintese-de-resultados-comentarios.asp>. Acesso em: 20 dez. 2018.

JABLONSKA, T. A. et al. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. **J Enzyme Inhib Med Chem.** v. 31, p. 177-183, 2016.

JIA, W. et al. TIPE2 acts as a biomarker for tumor aggressiveness and suppresses cell invasiveness in papillary thyroid cancer (PTC). **Cell Biosci.** v, 8, n. 49, 2018.

KHAMIS, Z.I. et al. The Anti-inflammatory Role of Endometase/Matrilysin-2 in Human Prostate Cancer Cells. **J Cancer.** v. 4, n. 4, p. 296-303, 2013.

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

KOO, J. S. et al. Cytologic characteristics and β-catenin immunocytochemistry on smear slide of cribriform-morular variant of papillary thyroid carcinoma. **Acta Cytol.**, v. 55, n. 1, p. 13-18, 2011.

LAWICKI, S. et al. Plasma levels and diagnostic utility of VEGF, MMP-2 and TIMP-2 in the diagnostics of breast cancer patients. **Biomarkers.** v. 22, n. 2, p. 157-164, 2017.

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

LEE, Y. J. et al. Factors that Influence Sample Adequacy in Liquid-Based Cytology after Ultrasonography-Guided Fine-Needle Aspiration of Thyroid Nodules. **Acta cytol.** v. 62, n. 4, p. 253-258, 2018.

LI, L. et al. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase (MMP)-26 protein in non-small cell lung cancer. **Ai Zheng.** v. 28, n. 1, p. 60-3, 2009.

LI, J. et al. Interleukin 17A promotes hepatocellular carcinoma metastasis via NF-kB induced matrix MMP 2 and 9 expression. **Plos One.** v. 6, n. 7, 2011.

LI, S. et al. Maturation of Growth Differentiation Factor 15 in Human Placental Trophoblast Cells Depends on the Interaction With Matrix Metalloproteinase-26. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 99, p. 2277–2287, 2014.

LIU, H.; LIN, F. Application of Immunohistochemistry in Thyroid Pathology. **Arch Pathol Lab Med.** v. 139, 2015.

LIU, S.; SU, L.; XIAO, H. Review of factors related to the thyroid cancer epidemic. **Int J Endocrinol.** v. 5308635, 2017.

LUO, D. et al. Activation of the ROCK1/MMP-9 pathway is associated with the invasion and poor prognosis in papillary thyroid carcinoma. **Int J Oncol.** v. 51, p. 1209-1218, 2017.

MARECKO, I. et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and its tissue inhibitor-2 in fetal and neoplastic thyroid tissue and their significance as diagnostic and prognostic markers in papillary carcinoma. **Cancer Biomark.**, v. 11, n. 1, p. 49-58, 2012.

MARECKO, I. et al. Enhanced activation of matrix metalloproteinase-9 correlates with the degree of papillary thyroid carcinoma infiltration. **Croat Med J.** v. 55, n. 2, p. 128-137, 2014.

MENG, X. et al. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 9 (MMP9) papillary thyroid carcinomas. **Afr. J. Pharm. Pharmacol.** v. 6, n. 44, p. 3075-3079, 2012.

MENG, X. Y. et al. Immunohistochemical levels of COX-2, MMP-9 and VEGF in papillary thyroid carcinoma and their clinicopathological correlations. **J Int Med Res**. v. 42, n. 3, p. 619–627, 2014.

NACHIAPPAN, A. C. et al. The thyroid: review of imaging features and biopsy techniques with radiologic-pathologic correlation. **Radiographics.** v. 34, n. 2, p. 276-93, 2014.

NISHI, H. et al. Estrogen and estrogen receptor induce matrix metalloproteinase-26 expression in endometrial carcinoma cells. **Oncol Rep.** v. 30, p. 751-756, 2013.

PENG, W. J. et al. Prognostic value of matrix metalloproteinase 9 expression in patients with non-small cell lung cancer. **Clin Chim Acta**. v. 11, n. 413, p. 1121-1126, 2012.

POUYANFAR, N. et al. Expression Levels of MMP9 and PIWIL2 in Prostate Cancer: a Case-Control Study. **Clin Lab.** v. 62, n. 4, p. 651-657, 2016.

PRESTON-MARTIN, S. et al. Thyroid cancer pooled analysis from 14 case-control studies: what have we learned? **Cancer Causes Control.** v. 14, p. 787-789, 2003.

RATOUR, J. et al. Diagnosis of follicular lesions of undetermined significance in fine-needle aspirations of thyroid nodules. **J Thyroid Res.** v. 2013: 250347, 2013.

RAJORIA, S. et al. Estrogen activity as a preventive and therapeutic target in thyroid cancer. **Biomed pharmacother.** v. 66, n. 2, p. 151-158, 2012.

RIPLEY, D. et al. Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinase-3 and -4 in normal ovary and ovarian carcinoma. **Int J Gynecol Cancer.** v. 16, p. 1794–1800, 2006.

ROTTUNTIKARN, W. et al. Cytomorphology and immunocytochemistry of columnar cell variant of papillary thyroid carcinoma. **Cytopathology**. v. 28, n. 4, p. 338-341, 2017.

SCHEVEIGERT, D. et al. Significance of MMP-9 expression and MMP-9 polymorphism in prostate cancer. **Tumori.** v. 99, n. 4, p. 523-529, 2013.

STANKOVIC, S. et al. Activity of MMP-2 and MMP-9 in sera of breast cancer patients. **Pathol Res Pract.** v. 15, n. 206(4), p. 241-247, 2010.

SVAGZDYS, S. et al. Matrix metalloproteinase-9 is a prognostic marker to predict survival of patients who underwent surgery due to rectal carcinoma. **Tohoku J Exp Med.** v. 223, n. 1, p. 67-73, 2011.

WAJNER, S. M. et al. Reduced tissue inhibitor of metalloproteinase‐ 2 expression is associated with advanced medullary thyroid carcinoma. **Oncol Lett.** v.7, n. 3, p. 731-737, 2014.

WANG, W. et al. TIMP2 is a Poor Prognostic Factor and Predicts Metastatic Biological Behavior in Gastric Cancer. **Sci Rep.** v. 25, n. 8(1), 2018.

YADAV, L. et al. Matrix Metalloproteinases and Cancer - Roles in Threat and Therapy. **Asian Pac J Cancer Prev.** v. 15, n. 3, p. 1085-1091, 2014.

YAMAMOTO, H. et al. Association of matrilysin-2 (MMP-26) expression with tumor progression and activation of MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma. **Carcinogenesis.** v. 25, n. 12, p. 2353-2360, 2004.

YANG, H. et al. Roles of matrix metalloproteinase‐ 26 in the growth, invasion and angiogenesis of breast cancer. **Oncol Lett**. v. 4, p. 832-836, 2012.

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

ZHANG, Y. et al. Non-small cell lung cancer invasion and metastasis promoted by MMP-26. **Mol Med Rep**. v. 4, p. 1201-1209, 2011.

ZHAO, Y. G. et al. Activation of Pro-gelatinase B by Endometase/Matrilysin-2 Promotes Invasion of Human Prostate Cancer Cells. **J Biol Chem.** v. 278, n. 17, p. 15056–15064, 2003.

ZHAO, Y. G. et al. Endometase/Matrilysin-2 in Human Breast Ductal Carcinoma in Situ and Its Inhibition by Tissue Inhibitors of Metalloproteinases-2 and -4: A Putative Role in the Initiation of Breast Cancer Invasion. **Canc Res**. v. 64, p. 590-598, 2004.

ZHAO, D. et al. Activation of FGF receptor signaling promotes invasion of non-small-cell lung câncer. **Tumor Biol.** v. 36, n. 5, p. 3637-42, 2015.

4.3 O PAPEL DA METALOPROTEINASE 26 NO CÂNCER: UMA REVISÃO

Ingrid Tavares de Lima[1], Jacinto da Costa Silva Neto[2].
1 Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, 2 Depto de Histologia e Embriologia (UFPE).

RESUMO

A metaloproteinase-26 (MMP-26), também conhecida como endometase ou matrilisina-2, é o menor membro da família MMP. Sua expressão ocorre principalmente em células cancerígenas de origem epitelial e apresenta padrão restrito em tecidos humanos saudáveis, sendo constitutiva no útero e placenta. Sua associação com tumores malignos é bem documentada tanto in vitro quanto in vivo. Em geral, os níveis estão anormalmente elevados em lesões mais agressivas e metastáticas. Possui ação proteolítica sobre a matriz extracelular com ampla especificidade de substratos, favorecendo a disseminação das células malignas e modulando o crescimento tumoral e angiogênese. Embora seja intracelular, atua de modo extracelular na ativação da pró-MMP-9, o que favorece a invasão celular e a neovascularização. Já foi demonstrado que MMP-26 e MMP-9 são co-localizadas em alguns tumores e que essa expressão concomitante promove pior prognóstico para os pacientes. Sua ação pode ser bloqueada pelo inibidor TIMP-4 com o qual apresenta-se co-expresso em alguns tipos de câncer. A sua atividade proteolítica leva a perda da integridade da membrana basal facilitando a conversão de carcinomas in situ para infiltrantes, se correlacionando com estágios tumorais mais avançados. Contudo, evidências recentes vêm demonstrando papéis benéficos e protetores de MMP-26 em alguns tipos de neoplasia, o que denota maior necessidade de explorar sua potencialidade.

PALAVRAS CHAVE: Metaloproteinase de Matriz 26. Endometase. Matrilisina 2. Câncer.

ABSTRACT

Metaloproteinase-26 (MMP-26), also known as endometase or matrilisin-2, is the smallest member of the MMP family. Its expression occurs mainly in cancer cells of epithelial origin and presents restricted pattern in healthy human tissues, being constitutive in the uterus and placenta. Its association with malignant tumors is well documented both in vitro and in vivo. In general, levels are abnormally high in more aggressive and metastatic lesions. It has proteolytic action on the extracellular matrix with broad substrate specificity, favoring the dissemination of malignant cells and modulating tumor growth and angiogenesis. Although it is intracellular, it acts extracellularly in the activation of pro-MMP-9, which favors cell invasion and neovascularization. It has been shown that MMP-26 and MMP-9 are co-localized in some tumors and that this concomitant expression promotes poor prognosis for patients. Its action can be blocked by the TIMP-4 inhibitor with which it is co-expressed in some types of cancer. Its proteolytic activity leads to loss of integrity of the basement membrane facilitating the conversion of carcinomas in situ to infiltrating ones, correlating with more advanced tumor stages. However, recent evidence has shown beneficial and protective roles for MMP-26 in some types of neoplasia, which indicates a greater need to explore its potential.

KEY WORDS: Matrix Metalloproteinase. Endometase. Matrilysin 2. Câncer.

INTRODUÇÃO

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são enzimas envolvidas na degradação e remodelamento da matriz extracelular (MEC), podendo atuar também na ativação de fatores de crescimento, apoptóticos e angiogênicos, moléculas de adesão, citocinas, quimiocinas e receptores, modulando assim, diferentes funções fisiológicas. No entanto, sua expressão exacerbada se relaciona com fenótipos mais agressivos em diversos tipos de câncer, onde podem mediar a invasão tumoral e metástase através da proteólise da MEC e de outras proteínas (GUTSCHALK et al., 2012; KHAMIS et al., 2013).

São conhecidos aproximadamente 30 membros da família MMP, classificados de acordo com sua estrutura e especificidade de substrato. A MMP-26, conhecida também como endometase, foi descoberta e caracterizada a partir de tumor endometrial (PARK et al., 2000) e placenta (URIA; LOPEZ OTIN, 2000). Sua expressão ocorre exclusivamente em tecidos humanos, em contraste com as demais MMPs que estão presentes também no genoma murino (MARCHENKO et al., 2001). Apresenta expressão restrita em tecidos saudáveis devido à baixa eficiência de transcrição basal do seu promotor (MARCHENKO et al., 2002). Contudo, é altamente expressa em células tumorais de origem epitelial. A maior parte das MMPs são expressas no estroma, enquanto MMP-26 tem expressão no epitélio, além de células tumorais e inflamatórias, como macrófagos e polimorfonucleares (ZHAO et al., 2015).

O gene da MMP-26 está localizado no cromossomo 11 e codifica um polipéptideo de 261 aminoácidos, sendo a menor MMP conhecida. Compartilha características estruturais básicas da família MMP, como a presença de um peptídeo sinal relacionado a sua secreção, um domínio propeptídeo envolvido na latência e um domínio catalítico, responsável por sua atividade. No entanto, não possui o domínio hemopexina que regula a especificidade enzimática (WANG et al., 2014; CHENG et al., 2017). Essa estrutura mínima se assemelha a da matrilisina-1 (MMP-7), motivo pelo qual MMP-26 é chamada também de matrilisina-2. Além disso, outras semelhanças são observadas entre as duas enzimas, como a sequência proteica e o mapeamento exon/intron. No entanto, a especificidade do substrato, regulação da transcrição gênica, localização celular e papel no câncer, provavelmente são distintos. (MARCHENKO et al., 2001; LI et al., 2004).

MMP-26 apresenta ampla especificidade de substratos, sendo capaz de hidrolisar colágeno tipo IV, fibronectina, vitronectina, fibrinogênio, caseína, alfa 1-antitripsina e alfa 2-macroglobulina (HU et al., 2014; LI et al., 2014; YADAV et al., 2014). Enquanto a maioria das MMPs são ancoradas na membrana ou secretadas no meio extracelular, MMP-26 é acumulada intracelularmente. Uma possível explicação é a substituição da sequência PRCGXXDCys, responsável pela latência das MMPs através da inibição catalítica do íon zinco, pela sequência PH81CGVPD que possibilita ativação autolítica, o que contribui para sua ampla variedade de funções. Apesar disso, pequenas quantidades são secretadas, onde atua extracelularmente, como na ativação da pró-MMP-9 (GUTSCHALK et al., 2012; LI et al., 2014).

Sua ação pode ser bloqueada pelos inibidores teciduais de metaloproteinase (TIMP-1, -2, -3 e -4), porém TIMP-4 exibem maior potência inibitória in vitro (RIPLEY et al., 2006; LEE et al., 2006). Além disso, MMP-26 e TIMP-4 foram co-localizadas em tecidos malignos de mama (ZHAO et al., 2004), próstata (LEE et al., 2006) e pâncreas (BISTER et al., 2007), o que sugere também uma regulação in vivo. Esses estudos mostraram maior expressão de MMP-26 e TIMP-4 em lesões pré-invasivas com redução nos casos mais invasivos. Uma hipótese é que TIMP-4 estaria atuando de modo compensatório para inibir a influência proinvasiva de MMP-26, porém, se a inibição for ineficaz, ocorre o rompimento da membrana basal e liberação das células cancerígenas, que se tornam menos dependentes da MMP-26, resultando na redução da sua expressão juntamente com seu inibidor (ZHAO et al., 2004; LEE et al., 2006).

Há muitas evidências de que MMP-26 é um potencial marcador para diversos tumores de origem epitelial, onde seus níveis elevados se associam a um maior potencial invasivo e metastático. Um dos fatores que favorecem a agressividade tumoral mediada por MMP-26 é sua capacidade de ativar a pró-MMP-9, envolvida em processos de invasão celular e angiogênese. Já foi demonstrado que essas MMPs são co-localizadas em tumores de mama e próstata (ZHAO et al., 2004; ZHAO et al., 2003). O estudo de Yamamoto et al. (2004) com câncer de esôfago também demonstrou que pacientes que apresentaram expressão concomitante tiveram pior prognóstico. Esse mecanismo favoreceu a invasão e metástase em câncer colorretal (HU et al., 2014), pulmonar (ZHANG et al., 2011), esofágico (AHOKAS et al., 2006), prostático (ZHAO et al., 2003) e mamário (ZHAO et al., 2004). Além disso, foi observado que células de glioma (DENG et al., 2010) e de câncer de mama (YANG et al., 2012) transfectadas com MMP-26 ativo tiveram aumento na quantidade e densidade de novos

vasos, sendo capazes de formar uma rede vascular, provavelmente pela ativação de MMP-9, favorecendo a disseminação das células e a nutrição de novos focos tumorais.

Diversos trabalhos têm mostrado que a expressão de MMP-26 varia conforme a progressão tumoral e o grau de diferenciação histológica. Os níveis mostram-se baixos no epitélio saudável, elevados no hiperplásico e neoplásico in situ, e diminuem à medida que o câncer progride para estágios mais avançados (WANG et al., 2014; KHAMIS et al., 2016). Elevação de MMP-26 em carcinomas in situ ou em áreas pré invasivas com declínio gradativo nos tumores mais invasivos foram observados por Lee et al. (2006) em câncer de próstata, Nishi et al. (2013) em endométrio, Zhao et al. (2004) e Strongin et al. (2006) em mama, Gutschalk et al. (2012) e Bister et al. (2004) em câncer colorretal e Ahokas et al. (2006) em carcinomas cutâneos de células escamosas.

Esses dados sugerem o envolvimento de MMP-26 em eventos iniciais do desenvolvimento tumoral, onde sua atividade proteolítica leva a perda da integridade da membrana basal facilitando a invasão celular e a conversão de carcinomas in situ para infiltrantes. Por outro lado, o aumento da intensidade de MMP-26 na IHQ foi correlacionado com estágios III e IV de carcinomas de ovário (RIPLEY et al., 2006), com a profundidade da invasão miometrial em tumores do tipo endometrióide (TUNUGUNTLA et al., 2003), avanço no estágio TNM, metástases linfonodais e recorrência em câncer de esôfago (YAMAMOTO et al., 2004) e de pâncreas (BISTER et al., 2007), bem como, no câncer colorretal onde sua expressão foi mais intensa em tumores T3 e T4, linfonodos positivos, estágios TNM mais avançados e pobre sobrevida global de pacientes (HU et al., 2014).

MMP-26 no câncer de próstata (CaP)

Riddick et al. (2006) analisaram a expressão de várias MMPs em carcinoma prostático e destacou MMP-26 como potencial biomarcador por apresentar a maior imunoreatividade, além de forte correlação com o escore de Gleason. Além disso, os níveis séricos de MMP-26 foram comparados com o antígeno prostático específico (PSA), sendo significativamente maiores no grupo CaP do que no grupo HBP e controle (CHENG et al., 2017). No ensaio de Lee et al. (2006), MMP-26 promoveu a invasão de células tumorais de próstata através da ativação de MMP-9, enquanto que no de Zhao et al. (2003) sua inibição resultou em diminuição da invasão das células malignas in vitro além de uma redução significativa nos níveis de MMP-9.

Por outro lado, evidências recentes sugeriram um efeito benéfico e protetor de MMP-26 em câncer de próstata. Khamis et al. (2013) observaram que a modulação dos níveis de MMP-26 afetou a expressão de genes inflamatórios. O silenciamento gênico de MMP-26 em células de CaP resultou em regulação negativa do receptor B da interleucina-10 (IL10RB), importante via anti-inflamatória, sugerindo que a deficiência de MMP-26 pode promover inflamação via inibição da sinalização mediada por IL10RB. Posteriormente, Khamis et al. (2016) forneceram mais evidências de seu papel protetor, ao verificar que a suprarregulação da MMP-26 estava relacionada positivamente com células tumorais em apoptose. A expressão da proteína pró apoptótica Bax foi detectada em padrão semelhante ao da MMP-26, sugerindo que MMP-26 pode ser benéfica ao inibir o avanço tumoral através da apoptose via Bax.

MMP-26 no câncer de mama

Linhagem de células de mama transfectadas com plasmídeos de MMP-26 demonstraram aumento significativo na capacidade de disseminação e invasão celular, que foi marcadamente reduzida na presença de anticorpo anti-MMP-26 (YANG et al., 2012). De modo semelhante, Leepark et al. (2007) demonstraram que esse potencial invasivo é dependente de cálcio. As células cancerosas respondem a estímulos hormonais via mecanismos reguladores de cálcio e a ligação dos íons as proteínas pode conferir maior estabilidade contra desnaturação e modular ligação ao substrato através de mudanças conformacionais no sítio ativo, sugerindo que as células invasivas seriam mais resistentes e agressivas.

Papéis protetores de MMP-26 para câncer de mama foram observados por Lee et al. (2011), através do silenciamento de MMP-26 com RNAsi que resultou na regulação negativa do BRMS1 (Transcriptional Repressor and Anoikis Regulator), um importante supressor de metástase para câncer de mama humano. Savinov et al. (2006) também sugeriu um papel benéfico para MMP-26, uma vez que sua expressão elevada foi associada a prognóstico favorável e maior sobrevida de pacientes com câncer de mama devido à proteólise do receptor de estrogênio β (ERβ).

MMP-26 no câncer de fígado

Altos níveis de MMP-26 em metástases de carcinoma hepatocelular (CHC) revelaram forte correlação com os níveis de receptor do fator de crescimento de fibroblastos fosforilado 2 (FGFR2). A fosforilação de FGFR2 induzida por FGF1 nas células estudadas

resultou na ativação significativa de MMP-26 e consequentemente no aumento da invasividade do câncer, enquanto que a inibição da fosforilação pela via quinase Jun-terminal (JNK), reduziu a expressão de MMP26, sugerindo que a ativação da via do FGFR no CHC pode promover metástase pela indução de MMP26 (WANG et al., 2014). O CHC também foi estudado por Yu et al. (2015), onde as células marcadas com sondas de MMP-26 conseguiram formar esferas tumorais in vitro e também capacidade de desenvolver metástases in vivo, após transplante das células marcadas em camundongos.

MMP-26 no câncer de pulmão

O estudo de Li et al. (2009) revelou 60% de expressão de MMP-26 em câncer de pulmão de células não pequenas, sendo significativamente correlacionada com estágio tumoral e metástase linfonodal, sugerindo seu uso como marcador no monitoramento da progressão e prognóstico do carcinoma pulmonar. Zhang et al. (2011) demonstraram que o silenciamento do gene da MMP-26 (RNAi) em células tumorais do pulmão retardou significativamente a invasividade nos ensaios in vitro. Zhao et al. (2015) também mostrou expressão significativamente maior no tecido maligno que no saudável adjacente, relacionando-se fortemente com o receptor do fator de crescimento de fibroblastos fosforilado 1 (FGFR1). A fosforilação de FGFR1 levou a ativação de MMP-26, resultando em aumento na invasividade do câncer, enquanto que a inibição da fosforilação pela via JNK aboliu a MMP-26, sugerindo que a ativação desta via promove metástase através da MMP-26.

MMP-26 no câncer de esôfago e pâncreas

O estudo de Yamamoto et al. (2004) mostrou que a expressão de mRNA da MMP-26 foi indetectável ou fracamente detectado em tecidos não tumorais, mas superexpresso em 46% dos tecidos malignos de esôfago, sendo significativamente correlacionada com profundidade de invasão, metástase linfonodal, avanço no estágio TNM e recorrência. Os pacientes com MMP-26 positiva tiveram períodos de sobrevida global e livre de doença mais curtos. Além disso, aqueles que expressaram concomitantemente MMP-26 e MMP-9 tiveram pior prognóstico. A regulaçao de RNAm de MMP-26 por citocinas foi estudada em linhas celulares de carcinoma pancreático por Bister et al. (2007). MMP-26 foi significativamente mais frequentemente expressa em tumores com nódulos linfáticos metastáticos e nenhum dos pacientes negativos para metástase linfonodal demonstrou imunopositividade para MMP-26. 52% dos adenocarcinomas examinados mostraram

imunorreatividade para MMP-26, que também foi frequentemente co-localizada com laminina-5, um indicador de invasividade de células tumorais pancreáticas.

MMP-26 no câncer de ovário e endométrio

A imunomarcação de MMP-26 em tecidos com carcinoma ovariano exibiu maior intensidade de coloração em comparação com áreas não tumorais adjacentes, aumentando conforme o estágio do tumor, demonstrando seu papel na agressividade e progressão tumoral (RIPLEY et al., 2006). O mesmo foi percebido em amostras de carcinomas endometriais onde a maior intensidade de MMP-26 foi associada a tumores grau III e a profundidade da invasão miometrial (TUNUGUNTLA et al., 2003). Nishi et al. (2013) observaram que o estrogênio promoveu atividade do promotor e aumento da expressão de MMP-26 em células de carcinoma endometrial via ERE (elemento responsivo ao estrogênio), sendo, contudo mais intensa em tecidos com hiperplasia. Pilka et al. (2004) também observaram quantificações máximas de estrogênio em tecidos hiperplásicos com redução progressiva nas amostras malignas. Esse padrão de expressão sugere uma co-variação com o receptor de estrogênio a (ER-a), que também é expresso abundantemente na hiperplasia endometrial e diminui gradualmente em tumores malignos, sugerindo que a regulação negativa de MMP-26 em tumores invasivos seria um efeito secundário à downregulation de Er-a.

MMP-26 no câncer colorretal

Bister et al. (2004) mostrou a imunorreatividade de MMP-26 no intestino normal e em enterócitos migrantes na doença inflamatória intestinal (colite ulcerativa e doença de Chron). Nos carcinomas do cólon, a coloração MMP-26 marcou as ilhotas de câncer, sendo ausente na maioria das áreas desdiferenciadas. O estudo de Hu et al. (2014) revelou que o nível de expressão de MMP-26 aumentou significativamente no câncer colorretal em comparação com amostras normais adjacentes e foi associada à invasão, metástase linfonodal e à distância, estágio TNM e baixa sobrevida global dos pacientes. Sugerindo que MMP-26 é um marcador prognóstico independente para pacientes com câncer colorretal.

MMP-26 em outros tipos de câncer

Vem sendo demonstrado que a expressão elevada de MMP-26 se relaciona com maior agressividade dos carcinomas de células escamosas (CECs). Barros et al. (2011) e Kuinaven et al. (2009) identificaram associação direta entre escores morfológicos de malignidade e imunorreatividade em CEC de lábios e língua. Entretanto, segundo De Amorim et al. (2010),

MMP-26 não seria um indicador útil do potencial metastático dos CECs da língua, uma vez que não se observou diferenças entre os grupos com e sem metástases.

Por outro lado, Suomela et al. (2009) encontraram associação entre a expressão positiva de MMP-26 e metástases linfonodais em carcinoma de células de Merkel, um tumor cutâneo agressivo que geralmente apresenta desfecho desfavorável. O estudo de Ahokas et al. (2006) mostrou que MMP-26 foi detectada em lesões cutâneas pré-malignas e de graus I e II, porém foi ausente em tumores grau III invasivos, sugerindo sua relevância na tumorigênese cutânea precoce. A expressão IHQ de MMP-26 mostrou-se um preditor efetivo da sobrevida global de pacientes com glioma astrocítico, apontado como um novo indicador de diagnóstico e um fator independente para avaliar o prognóstico dos pacientes (GUO et al., 2018). Deng et al. (2010) também perceberam maior taxa de espalhamento e distancia de migração, bem como maior capacidade de invasão local in vivo e angiogênese em células de glioma transfectadas com MMP-26. Altos níveis de MMP-26 com aumento de invasividade também foram percebidas em condrosarcoma, enquanto sua inibição reverteu esses efeitos (XU et al., 2015).

Feng et al. (2013), por sua vez, examinaram a expressão IHQ da MMP-26 em pacientes com linfoma difuso de células B e perceberam seu envolvimento na patogênese e invasividade celular, além de expressão sinérgica com MMP-9. Enquanto que, Souza Freitas et al. (2009) avaliaram a atuação de MMP-26 em ameloblastomas e tumores odontogênicos adenomatóides, observando diferenças na expressão de células estromais mas não epiteliais, sugerindo que seu papel nos tumores estudados não se relaciona com agressividade, uma vez que vários estudos mostraram que o padrão de expressão de MMP-26 é prioritariamente nas células epiteliais e não no estroma (TUNUGUNTLA et al., 2003; PILKA et al., 2004).

Vias de ativação da MMP-26

Alguns estudos têm revelado que MMP-26 é alvo da via Wingless (Wnt), envolvida na regulação da morfologia, proliferação e ciclo celular. Esta via é regulada pela ß–catenina, que transmite o sinal Wnt ao núcleo, e pelo fator de transcrição 4 da célula T (Tcf-4), que ao se associar a ß–catenina forma um complexo estável capaz de induzir a transcrição de vários genes associados à invasão (GRUBER et al., 2012; YAMAMOTO et al., 2004). Marchenko et al. (2004) demonstraram que ß-catenina e Tcf-4 aumentaram a atividade transcricional de MMP-26 em células de carcinoma de rim e mama. Corroborando essas informações, Xu et al. (2015) mostraram que a inibição da via Wnt em células de

condrosarcoma reduziu a invasividade, possivelmente através do aumento da fosforilação da β-catenina, uma vez que foi detectada associação entre os níveis de MMP-26 e da ß-catenina fosforilada. Além disso, Wu et al. (2017) relataram em sua pesquisa que a indução com TGF-β supraregulou a expressão de MMP-26 através da via de sinalização Wnt/β-catenina em câncer de mama.

O promotor MMP-26 também possui sítios de ligação para o elemento responsivo ao estrogênio (ERE) que estimula sua transcrição gênica em carcinomas regulados por hormônios como mama e ovário (GUO et al., 2018). Nishi et al. (2013) comprovou que o estrogênio induziu aumento da expressão de MMP-26 via ERE em câncer endometrial, assim como Bister et al. (2007) em câncer pancreático. Além disso, Strongin et al. (2006) mostrou que a ativação autolítica de MMP-26 no citoplasma celular induziu a proteólise do receptor de estrogênio β (ERβ). Essa associação estrogênica explica a relação de MMP-26 com o ciclo menstrual, onde sua expressão no endométrio chega ao máximo na fase inicial, diminuindo para níveis não detectáveis nas fases tardias (MARCHENKO et al., 2002; LI et al., 2004).

A ativação de MMP-26 também pode ser induzida e regulada por fatores de transcrição como o fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) e o fator de crescimento de fibroblastos (FGF). Gutschalk et al. (2012) observaram que células de câncer colorretal transfectadas com plasmídeo GM-CSF demonstraram aumento da atividade proteolítica e da expressão de MMP-26 associadas à perda da integridade da membrana basal e invasão celular, enquanto o tratamento com inibidores de GM-CSF reverteu este efeito. Por outro lado, Chen et al. (2017) detectou aumento do mRNA e do nível proteico de MMP-26 em carcinoma pulmonar através da estimulação com FGF, sendo o contrário observado quando utilizado silenciador gênico (siFGF). A fosforilação dos receptores de FGF também leva a ativação de MMP-26, resultando em aumento de invasividade e metástases em câncer de pulmão (ZHAO et al., 2015) e de fígado (WANG et al., 2014).

A regulação da expressão de MMP26 também está associada as vias MAPK (JNK, ERK e P38), que podem regular numerosos fatores associados à progressão e mau prognóstico em câncer. A ativação de MMP-26 e de ERK/P38 foi induzida por FGF, entretanto, sua inibição inativou ERK e P38, mas não MMP-26 (CHEN et al., 2017). De maneira semelhante, Wang et al. (2017) observaram que o estimulo de células de carcinoma hepático com FGF promoveu a atividade de ERK1/2 e consequentemente o aumento dos

níveis proteicos de NF-κB e MMP-26, contudo, a inibição especifica de ERK nestas células resultou em inativação do NF-κB, mas não da MMP26.

CONCLUSÃO

Embora o potencial de MMP-26 como biomarcador já venha sendo amplamente estudado em diferentes tipos de tumores epiteliais, como no caso dos adenocarcinomas de próstata e mama, ainda existe muito a ser investigado sobre sua associação com o câncer, sobretudo nos aspectos protetores ou benéficos, cujos estudos ainda são escassos. O entendimento dos mecanismos de ativação e inibição, bem como, das vias onde esta enzima está envolvida pode auxiliar no avanço diagnóstico, prognóstico e terapêutico para o câncer.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o suporte da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

REFERÊNCIAS

AHOKAS, K. et al. Matrix Metalloproteinases 21 and 26 Are Differentially Expressed in Esophageal Squamous Cell Cancer. **Tumor Biol.** v. 27, p. 133–141, 2006.

BARROS, S.S. et al. Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases in squamous cell carcinoma of the tongue and lower lip. **Arch Oral Biol.** v. 56, n. 8, p. 752-60, 2011.

BISTER, V. et al. Differential expression of three matrix metalloproteinases, MMP-19, MMP-26, and MMP-28, in normal and inflamed intestine and colon cancer. **Dig Dis Sci.** v. 49, n. 4, p. 653-61, 2004.

BISTER, V. et al. Increased expression of matrix metalloproteinases-21 and -26 and TIMP-4 in pancreatic adenocarcinoma. **Modern Pathol.** v. 20, p. 1128–1140, 2007.

CHEN, T. et al. Fibroblast growth factor 18 promotes proliferation and migration of H460 cells via the ERK and p38 signaling pathways. **Oncol Rep.** v. 12, p. 1235-1242, 2017.

CHENG, T. et al. MMP26: A Potential Biomarker for Prostate Cancer. **J Huazhong Univ Sci Technol.** v. 37, n. 6, p. 891-894, 2017.

DE AMORIM, R. F. et al. Matrilysins may not predict the metastatic potential in squamous cell carcinoma of the tongue. **Acta Odontol Scand.** v. 68, n. 4, p. 228-31, 2010.

DENG, Y. et al. Expression of matrix metalloproteinase-26 promotes human glioma U251 cell invasion in vitro and in vivo. **Oncol Rep.** v. 23, p. 69-78, 2010.

FENG, Y. H. et al. Expression and significance of MMP-26, TIMP-4 and MMP-9 in diffuse large B-cell lymphoma cells. **Zhongguo**. v. 21, n. 5, p. 1167-72, 2013.

GRUBER, H. et al. Matrix metalloproteinase-26, a novel MMP, is constitutively expressed in the human intervertebral disc in vivo and in vitro. **Exp Mol Pathol.** v. 92, p. 59–63, 2012.

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

GUTSCHALK, C. M. et al. GM-CSF enhances tumor invasion by elevated MMP-2, -9, and -26 expression. **Cancer Med**. v. 2, n. 2, p. 117–129, 2013.

HU, Q. et al. Matrilysin-2 expression in colorectal cancer is associated with overall survival of patients. **Tumor Biol.** v. 35, p. 3569–3574, 2014.

KHAMIS, Z.I. et al. The Anti-inflammatory Role of Endometase/Matrilysin-2 in Human Prostate Cancer Cells. **J Cancer.** v. 4, n. 4, p. 296-303, 2013.

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

KUINAVEN, T. et al. Metalloproteinase- 26 is present more frequently in squamous cell carcinomas of immunosuppressed compared with immunocompetent patients. **J Cutan Pathol**. v. 36, p. 929-936, 2009.

LEE, S. et al. Coordinated peak expression of MMP-26 and TIMP-4 in preinvasive human prostate tumor. **Cell Res.** v. 16, p. 750-758, 2006.

LEE, S. et al. Calcium regulates structure and enzymatic activity of human endometase/matrilysin-2 and its role in promoting human breast cancer cell invasion. **Biochem J.** v. 403, n. 1, p. 31-42, 2007.

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

LI, W. et al. Matrix metalloproteinase-26 is associated with estrogen-dependent malignancies and targets alpha1-antitrypsin serpin. **Cancer Res**. v. 64, n. 23, p. 8657-65, 2004.

LI, L. et al. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase (MMP)-26 protein in non-small cell lung cancer. **Ai Zheng.** v. 28, n. 1, p. 60-3, 2009.

LI, S. et al. Maturation of Growth Differentiation Factor 15 in Human Placental Trophoblast Cells Depends on the Interaction With Matrix Metalloproteinase-26. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 99, p. 2277–2287, 2014.

MARCHENKO, G. N. et al. Characterization of matrix metalloproteinase-26, a novel metalloproteinase widely expressed in cancer cells of epithelial origin. **Biochem J.** v. 356, p. 705-718, 2001.

MARCHENKO, G. N. et al. Promoter characterization of the novel human matrix metalloproteinase-26 gene: regulation by the T-cell factor-4 implies specific expression of the gene in cancer cells of epithelial origin. **Biochem J.** v. 363, p. 253-62, 2002.

MARCHENKO, N. D. et al. Beta-catenin regulates the gene of MMP-26, a novel metalloproteinase expressed both in carcinomas and normal epithelial cells. **Int J Biochem Cell Biol**. v. 36, n. 5, p. 942-56, 2004.

NISHI, H. et al. Estrogen and estrogen receptor induce matrix metalloproteinase-26 expression in endometrial carcinoma cells. **Oncol Rep**. v. 30, p. 751-756, 2013.

PARK, H. I. et al. Identification and Characterization of Human Endometase (Matrix Metalloproteinase-26) from Endometrial Tumor. **J Biol Chem.** v. 275, n. 27, p. 20540–20544, 2000.

PILKA, R. et al. Matrix metalloproteinase-26 expression is high in endometrial hyperplasia and decreases with loss of histological differentiation in endometrial cancer. **Gynecol Oncol**. v. 94, n. 3, p. 661-70, 2004.

RIDDICK, A. et al. Identification of degradome components associated with prostate cancer progression by expression analysis of human prostatic tissues. **Brit J Cancer**. v. 92, p. 2171 – 2180, 2005.

RIPLEY, D. et al. Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinase-3 and -4 in normal ovary and ovarian carcinoma. **Int J Gynecol Cancer.** v. 16, p. 1794–1800, 2006.

SAVINOV, A. Y. et al. Matrix Metalloproteinase 26 Proteolysis of the NH2-Terminal Domain of the Estrogen Receptor B Correlates with the Survival of Breast Cancer Patients. **Cancer Res.** v. 66, n. 5, p. 2716-24, 2006.

SOUZA FREITAS, V. et al. Immunohistochemical expression of matrilysins (MMP-7 and MMP-26) in ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumors. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v. 108, n. 3, p. 417-24, 2009.

STRONGIN, A. Y. Mislocalization and unconventional functions of cellular MMPs in câncer. **Cancer Met Ver.** v. 25, p. 87–98, 2006.

SUOMELA, S. et al. Expression of MMP-10, MMP-21, MMP-26, and MMP-28 in Merkel cell carcinoma. **Virchows Arch.** v. 4, p. 455, 2009.

TUNUGUNTLA, R. et al. Expression of metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinases TIMP-3 and -4 in benign endometrium and endometrial câncer. **Gynecol Oncol.** v. 89, p. 453–459, 2003.

URIA, J. A.; LOPEZ-OTIN, C. Matrilysin-2, a new matrix metalloproteinase expressed in human tumors and showing the minimal domain organization required for secretion, latency, and activity. **Cancer Res**. v. 60, n. 17, p. 45-51, 2000.

WANG, J. et al. Inhibition of fibroblast growth factor receptor signaling impairs metastasis of hepatocellular carcinoma. **Tumor Biol.** v. 35, p. 11005–11011, 2014.

WANG, S. et al. Expression and purification of an FGF9 fusion protein in E. coli, and the effects of the FGF9 subfamily on human hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration. **Appl Microbiol Biotechnol.** v. 101, n. 21, p. 7823-7835, 2017.

WU, Y. et al. A83-01 inhibits TGF-β-induced upregulation of Wnt3 and epithelial to mesenchymal transition in HER2-overexpressing breast cancer cells. **Breast Cancer Res Treat.** v. 163, n. 3, p. 449-460, 2017.

XU, X. et al. Regulation of chondrosarcoma invasion by MMP26. **Tumor Biol.** v. 36, p. 365–369, 2015.

YADAV, L. et al. Matrix Metalloproteinases and Cancer - Roles in Threat and Therapy. **Asian Pac J Cancer Prev.** v. 15, n. 3, p. 1085-1091, 2014.

YAMAMOTO, H. et al. Association of matrilysin-2 (MMP-26) expression with tumor progression and activation of MMP-9 in esophageal squamous cell carcinoma. **Carcinogenesis.** v. 25, n. 12, p. 2353-2360, 2004.

YANG, H. et al. Roles of matrix metalloproteinase‐ 26 in the growth, invasion and angiogenesis of breast cancer. **Oncol Lett**. v. 4, p. 832-836, 2012.

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

ZHANG, Y. et al. Non-small cell lung cancer invasion and metastasis promoted by MMP-26. **Mol Med Rep**. v. 4, p. 1201-1209, 2011.

ZHAO, Y. G. et al. Activation of Pro-gelatinase B by Endometase/Matrilysin-2 Promotes Invasion of Human Prostate Cancer Cells. **J Biol Chem.** v. 278, n. 17, p. 15056–15064, 2003.

ZHAO, Y. G. et al. Endometase/Matrilysin-2 in Human Breast Ductal Carcinoma in Situ and Its Inhibition by Tissue Inhibitors of Metalloproteinases-2 and -4: A Putative Role in the Initiation of Breast Cancer Invasion. **Canc Res**. v. 64, p. 590-598, 2004.

ZHAO, D. et al. Activation of FGF receptor signaling promotes invasion of non-small-cell lung câncer. **Tumor Biol.** v. 36, n. 5, p. 3637-42, 2015.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho possibilitou o conhecimento sobre a população mais acometida por nódulos da tireoide no estado de Pernambuco e traçar um perfil epidemiológico desses pacientes. Além disso, avaliamos por citologia, imunocitoquímica, histologia e imunohistoquímica o padrão de expressão de MMP-9, MMP-26 e TIMP-2 em lesões tireoidianas. Nossos resultados mostraram que a ICQ de MMP-9 e TIMP-2 foi útil para diferenciar casos benignos e malignos da tireoide, podendo aumentar a avaliação preditiva, a precisão dos laudos citológicos e reduzir cirurgias para confirmação histológica. Enquanto que MMP-26 demonstrou falta de especificidade na distinção entre câncer e demais condições benignas da tireoide. Embora seu potencial como biomarcador já venha sendo relatado em diferentes tipos de tumores epiteliais, ainda existe muito a ser investigado sobre sua associação com o câncer. O entendimento dos mecanismos de ativação e inibição, bem como, das vias onde as MMPs e TIMPs estão envolvidos pode auxiliar no diagnóstico, prognóstico e terapêutico para o câncer.

REFERÊNCIAS

ADAMI, H.; HUNTER, D.; TRICHOPOULOS, D. Thyroid Cancer. In: **Textbook of Cancer epidemiology.** Oxford, University Press, 2008. p. 127-154.

AHOKAS, K. et al. Matrix Metalloproteinases 21 and 26 Are Differentially Expressed in Esophageal Squamous Cell Cancer. **Tumor Biol.** v. 27, p. 133–141, 2006.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Thyroid Cancer.** Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/thyroid-cancer/about/what-is-thyroid-cancer.html >. Acesso em: 20 ago. 2017.

ARAÚJO, R. V. S. et al. Metaloproteinases: aspectos fisiopatológicos sistêmicos e sua importância na cicatrização. **R. Ci. md. biol.** 2010, Salvador, v.10, n.1, p.82-88.

BALDINI, E. et al. New perspectives in the diagnosis of thyroid follicular lesions. **Int J Surg.** v. 41, 2017.

BARBUS, E. et al. Quality of life in thyroid cancer patients: A Literature Review. **Clujul Medical.** v. 90, n. 2, p. 147-153, 2017.

CHENG, S.P. et al. Characterization of thyroid nodules using the proposed thyroid imaging reporting and data system (TI-RADS). **Head & Neck.** v. 35, n. 4, p. 541–547, 2013.

CHENG, M. et al. MMP26: A Potential Biomarker for Prostate Cancer. **J Huazhong Univ Sci Technol**. v. 37, n. 6, p. 891-894, 2017.

CHO MAR, K. et al. Expression of matrix metalloproteinases in benign and malignant follicular thyroid lesions. **Histopathology**. v. 48, n. 3, p. 286-94, 2006.

CIBAS, E. S.; ALI, S. Z. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. **Am J Clin Pathol**. v. 132, p. 658–665, 2009.

COQUIA, S. F.; CHU, L. C.; HAMPER, U. M. The Role of Sonography in Thyroid Cancer. **Radiol Clin North Am.** v. 52, n. 6, p. 1283–1294, 2014.

DUARTE, A. L. **Análise da contribuição da pesquisa das mutações nos genes BRAF, HRAS, NRAS, KRAS e PIK3CA em espécimes obtidos por PAAF para avaliação de nódulos tireoidianos.** 2012. Tese (Doutorado em ciências, área: oncologia) – Fundação Antônio Prudente, Universidade de São Paulo, São Paulo.

GUAN, H. et al. INAVA promotes aggressiveness of papillary thyroid cancer by upregulating MMP9 expression. **Cell Biosci.** v. 5, p. 8-26, 2018.

HORVATH, E. et al. An ultrasonogram reporting system for thyroid nodules stratifying cancer risk for clinical management. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 90, n. 5, p. 1748–1751, 2009.

HU, Q. et al. Matrilysin-2 expression in colorectal cancer is associated with overall survival of patients. **Tumor Biol.** v. 35, p. 3569–3574, 2014.

INCA. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2018**. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/sintese-de-resultados-comentarios.asp>. Acesso em: 20 dez. 2018.

KESSENBROCK, K.; PLACKS, V.; WERB, Z. Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. **Cell.** v. 141, n. 1, p. 52–67, 2010.

KWAK, J.Y. et al. Thyroid Imaging Reporting and Data System for US Features of Nodules: A Step in Establishing Better Stratification of Cancer Risk. **Radiology.** v. 260, n. 3, p. 892–899, 2011.

LIU, H.; LIN, F. Application of Immunohistochemistry in Thyroid Pathology. **Arch Pathol Lab Med.** v. 139, 2015.

LIU, S.; SU, L.; XIAO, H. Review of factors related to the thyroid cancer epidemic. **Int J Endocrinol.** v. 5308635, 2017.

MAIA, A. L. et al. Nódulos de Tireoide e Câncer Diferenciado de Tireoide: Consenso Brasileiro. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 51, p. 867-93, 2007.

MENG, X. et al. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase 9 (MMP9) papillary thyroid carcinomas. **Afr. J. Pharm. Pharmacol.** v. 6, n. 44, p. 3075-3079, 2012.

MENG, X. Y. et al. Immunohistochemical levels of COX-2, MMP-9 and VEGF in papillary thyroid carcinoma and their clinicopathological correlations. **J Int Med Res**. v. 42, n. 3, p. 619–627, 2014.

MOHD, A. A. et al. Role of Matrix Metalloproteinases in Cancer. In: **Advances in Protein Chemistry**. USA, OMICS Group eBooks, 2013. Disponível em: <www.esciencecentral.org/ebooks>. Acesso em: 17 nov. 2018.

NACHIAPPAN, A. C. et al. The thyroid: review of imaging features and biopsy techniques with radiologic-pathologic correlation. **Radiographics.** v. 34, n. 2, p. 276-93, 2014.

NISHI, H. et al. Estrogen and estrogen receptor induce matrix metalloproteinase-26 expression in endometrial carcinoma cells. **Oncol Rep.** v. 30, p. 751-756, 2013.

RODRIGUES, H.; PONTES, A.B.N.; ADAN, L.F. Doença nodular da tireoide: dificuldades e perspectivas no diagnóstico pré-operatório. **Rev. Bras. Med.** v. 72, p. 44-48, 2015.

ROSÁRIO, P. W. et al. Thyroid nodules and differentiated thyroid cancer: update on the Brazilian consensus. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 57, n. 4, 2013.

WAJNER, S. M. et al. Reduced tissue inhibitor of metalloproteinase- 2 expression is associated with advanced medullary thyroid carcinoma. **Oncol Lett.** v. 2, p. 731-737, 2014.

WHITE, B. A.; PORTERFIELD, S. P. **The thyroid gland.** In. Endocrine and reproductive physiology. USA, Elsevier, 2013; 129–146.

YADAV, L. et al. Matrix Metalloproteinases and Cancer - Roles in Threat and Therapy. **Asian Pac J Cancer Prev.** v. 15, n. 3, p. 1085-1091, 2014.

ZHANG, Y. et al. Non-small cell lung cancer invasion and metastasis promoted by MMP-26. **Mol Med Rep.** v. 4, p. 1201-1209, 2011.

ZHANG, C. Y. et al. Curcumin inhibits invasion and metastasis in K1 papillary thyroid cancer cells. **Food Chem.** v.139, n. 2013, p. 1021–1028, 2013.

ZHAO, Y. G. et al. Activation of Pro-gelatinase B by Endometase/Matrilysin-2 Promotes Invasion of Human Prostate Cancer Cells. **J Biol Chem.** v. 278, n. 17, p. 15056–15064, 2003.

ZHAO, Y. G. et al. Endometase/Matrilysin-2 in Human Breast Ductal Carcinoma in Situ and Its Inhibition by Tissue Inhibitors of Metalloproteinases-2 and -4: A Putative Role in the Initiation of Breast Cancer Invasion. **Canc Res.** v. 64, p. 590-598, 2004.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa "Expressão de metaloproteinases e Infecção pelo HPV como fatores prognósticos no desenvolvimento de neoplasias da tireoide" que está sob a responsabilidade da pesquisadora Ingrid Tavares de Lima (residente na Rua Estevão de Sá, 390 – Cidade universitária – Recife/PE, CEP: 50740-270, telefone: 081987230257, e-mail: ingridtavaresdelima@gmail.com e está sob a orientação do professor Dr. Mario Ribeiro de Melo-Júnior (e-mail: mariormj@gmail.com).

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

O objetivo dessa pesquisa é estudar fatores que podem contribuir para o desenvolvimento do câncer de tireoide, para isso vamos utilizar os resultados dos seus exames bem como parte das amostras coletadas para realizar os estudos laboratoriais. Sua participação nesta pesquisa consistirá em autorizar o uso das amostras coletadas durante seus exames de rotina e responder a um questionário sobre seu histórico de saúde e estilo de vida. Como as amostras utilizadas no projeto serão resgatadas após a realização dos seus exames, não há nenhum tipo de risco. Caso se sinta constrangida com alguma pergunta do questionário pode ficar a vontade para não responder, ressaltamos que este será aplicado de forma discreta e individual e as respostas são sigilosas. A sua colaboração é voluntária, ou seja, não é obrigatória. Os benefícios em cooperar com a pesquisa consistem em: exames complementares para o diagnóstico do vírus HPV e orientação do curso da doença caso confirmada (prognóstico do câncer), além de contribuir para o entendimento dos mecanismos do desenvolvimento do câncer e de novas formas de tratamento da doença.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (informações dos questionários e resultados dos seus exames) ficarão armazenados em pastas de arquivo e no computador pessoal, sob a responsabilidade dos pesquisadores Ingrid Tavares, Ana Karina Brizeno e Josélio Soares, no endereço Rua Estevão de Sá, 390, CEP: 50740-270, Cidade universitária, Recife-PE) pelo período mínimo de 4 anos.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepccs@ufpe.br.

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu,_____,

CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo: "Expressão de metaloproteinases e Infecção pelo HPV como fatores prognósticos no desenvolvimento de neoplasias da tireoide" como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade (ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento).

Recife, _____/_____/_____.

Assinatura do participante:

_____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar (2 testemunhas não ligadas a equipe).

Nome:_____

Assinatura:_____

Nome: _____

Assinatura: _____

APÊNDICE B- QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PACIENTES

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA

Questionário da Coleta

Registro Interno No. _____

Nº Prontuário:_____

Nº Pedido: _____

Data da coleta:_____/_____/20_____

Identificação e dados clínicos

Nome:_____Idade:_____

Data nascimento:____/____/___ Município de origem: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Cor da Pele: ( ) Branco ( ) Preto ( ) Pardo ( ) Amarelo ( ) Indígena

Escolaridade : ( ) Ensino fundamental incompleto ( ) Ensino fundamental completo

( ) Ensino médio incompleto ( ) Ensino médio completo

( ) Ensino superior incompleto ( ) Ensino superior completo

Sexo: ( ) Masculino ( ) Feminino

Tabagismo: ( ) Sim ( ) Não Quanto: _____

Etilismo : ( ) Sim ( ) Não Quanto: _____

Peso: _____Kg Altura: _____m

Histórico

- Histórico familiar de CA de tireoide: ( ) Não ( ) Sim- Tipo _____
- Grau de parentesco: _____
- Tratamento prévio cirúrgico da tireoide: ( ) Não ( ) Sim – Há quanto tempo? ____
- Tratamento com iodo radioativo: ( ) Não ( ) Sim – Há quanto tempo? _____
- Tratamento com medicamentos para tireoide: ( ) Não ( ) Sim - Qual ? _____
- Outras medicações não relacionadas a tireoide: _____
- Tratamento prévio radioterápico cervical: ( ) Não ( ) Sim

Exames de USG - Quantidade de nódulos: _____

NÓDULO 1: Composição: ( ) Sólido ( ) Cístico ( ) Misto

Se misto: ( ) Cístico-Sólido ( )Misto Pred Sólido ( ) Misto Pred Cístico

Tamanho: _____ x _____ x _____ cm

Outras características: _____

NÓDULO 2: Composição: ( ) Sólido ( ) Cístico ( ) Misto

Se misto: ( ) Cístico-Sólido ( )Misto Pred Sólido ( ) Misto Pred Cístico

Tamanho: _____ x _____ x _____ cm

Outras características: _____

Resultados:

NÓDULO 1 Citologia: _____

Imunocitoquímica: _____

NÓDULO 2 Citologia: _____

Imunocitoquímica: _____

Responsável pela punção: _____ Sala: _____

Responsável pelo preenchimento: _____

APÊNDICE C – SHORT COMMUNICATION

Short Communication

Experimental Pathology and Health Sciences
2015;7 (2): 53-54

PRELIMINAR CLINIC EPIDEMIOLOGY PROFILE OF THYROID NODULES IN BRAZILIAN (RECIFE, PE)

INGRID TAVARES FRAGOSO[1]; ANA KARINA BRIZENO FERREIRA LOPES[2]; CARLA TACILIA BEZERRA[3]; JÚLIA MARIA DANTAS FERREIRA[3]; MARIO RIBEIRO MELO-JUNIOR[1, 2, 3].

1. Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA/UFPE, Brazil; 2. Programa de Pós-graduação em Patologia, CCS/UFPE, Brazil; 3.Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Abstract

Thyroid cancer is the most common endocrine cancer and mainly affects women. Papillary is the most common type of thyroid cancer and accounts for more than 83% of all thyroid malignancies. This study used questionnaires to profile of patients with thyroid nodules and to assess the risk factors associated with carcinogenesis. In addition, data obtained from cytological (FNA) complemented the history of each patient. The data obtained showed that the majority of patients were female. The Body Mass Index of the patients was calculated and most studied is presented in the overweight subgroup. Some patientes had a family history of thyroid cancer and the major of patients residing in farms. A total of 115 nodes were studied, were benign lesions, lesions with atypia and diagnosis node of papillary carcinoma. Cancer is today, in Brazil, a public health problem, whose control and prevention should be prioritized.

Ativar o W
Acesse Config

APÊNDICE D - SHORT COMMUNICATION EM COLABORAÇÃO

IMUNOHISTOCHEMICAL OF CALPROTECTIN IN ANORECTAL TISSUES FROM PATIENTS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Ana Paula Fernandes da Silva[1]; Gabriela Ayres Fragoso Nascimento[2]; Luciano de Albuquerque Mello[3]; Ingrid Tavares de Lima[3]; Marcelo do Rego Maciel Souto Maior[1]; Mário Ribeiro de Melo Júnior[1,3]

1. Programa de Pós-graduação em Patologia, CCS/UFPE, Brazil; 2. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, CCB/UFPE, Brazil; 3. Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA/UFPE, Brazil.

ABSTRACT

High levels of calprotectin in patients with IBD are the result of the increase in neutrophil infiltration in the tunica intestinal mucosa and transmigration into the intestinal lumen. The present study evaluated, trough immunohistochemistry, the expression of calprotectin in anorectal tissue from patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. Thus, tissue slices from anorectal biopsy were submitted to imunostains for calprotectin antibody. Those results showed that, according to imunohistochemical parameters, the anorectal mucous from IBD patients exhibited diffuse tissue expression to calprotectin. The data suggest that those methods could be helpful to diagnosis and assist the therapeutic accompaniment of patients with IBD.

KEY WORDS: Calprotectin. Inflammatory bowel disease. Immunohistochemistry.

APÊNDICE E - ARTIGO REALIZADO EM COLABORAÇÃO

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DE NÓDULOS TIREOIDIANOS: CORRELAÇÃO DOS CRITÉRIOS BETHESDA E TIRADS

Ana Karina Brizeno Ferreira Lopes[1], Ingrid Tavares de Lima[1], José Walter Agustinho de Oliveira[1], Jacinto da Costa Silva Neto[2].

1 Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, 2 Depto de Histologia e Embriologia - Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

RESUMO

A principal forma de detecção dos nódulos tireoidianos é a ultrassonografia e a punção aspirativa (PAAF), entretanto, a realização da PAAF em todos os nódulos é inviável. Para selecionar critérios de indicação à punção, foi criado o sistema TIRADS que permite estimar o risco de malignidade dos nódulos e sugerir um manejo clínico. Nosso objetivo foi correlacionar os diagnósticos obtidos por PAAF com os critérios TIRADS. Foram avaliados 230 nódulos pelos sistemas Bethesda e TIRADS, obtendo como resultados 110 casos não diagnósticos, 90 benignos, 15 indeterminados e 12 malignos. Quanto aos achados ultrassonográficos foi evidenciado que nódulos com composição sólida, hipoecogenicidade, margens não circunscritas, eixo perpendicular e presença de microcalcificação tiveram associação com malignidade, podendo esses critérios ser utilizados para prever suspeição nos nódulos de tireoide. Nossos resultados revelaram que as lesões TIRADS 4 se correlacionaram significativamente com risco de malignidade e as TIRADS 2 e 3 tiveram pouca ou nenhuma chance de malignidade, concordando com a literatura e a estimativa proposta pelo sistema de classificação. Considerando a associação entre os achados ultrassonográficos, os nodulos TIRADS 4 devem ser submetidos a PAAF, enquanto que os TIRADS 2 e 3 não teriam indicação, o que reduz biópsias desnecessárias e evita complicações inerentes a intervenção, além de minimizar custos financeiros para o estabelecimento de saúde. Apesar de não ser utilizada na prática clínica, o presente estudo sugere que o sistema TIRADS possui aplicabilidade e pode ser uma ferramenta complementar a PAAF.

PALAVRAS CHAVE: Neoplasias da Tireoide. Nódulos da Tireoide. Ultrassonografia. TIRADS. Bethesda.

APÊNDICE F - ARTIGO REALIZADO EM COLABORAÇÃO

EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA ESPECÍFICA DE MMP-26 EM ADENOCARCINOMA PRÓSTATICO

Romildo Luciano da Silva[1], Ingrid Tavares de Lima[2], Jacinto da Costa Silva Neto[3].
1 Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE), 2 Programa de Pós-Graduação em Biologia aplicada a Saúde (LIKA-UFPE),
3 Departamento de Histologia e Embriologia (UFPE).

RESUMO

O carcinoma prostático (CaP) é um dos mais incidentes no mundo, portanto, a identificação de novos marcadores que permitam um diagnóstico precoce, preciso e que possa contribuir com o valor prognóstico do CaP se faz necessário. MMP-26, uma metaloproteinase de matriz recém descoberta, é expressa exacerbadamente em células cancerígenas de origem epitelial. Além disso, possui capacidade de ativar MMP-9, conhecida por promover invasão e angiogênese em diversos tumores humanos. Sua alta expressão já foi demonstrada em linhagens celulares de câncer de mama, pulmão, fígado, endométrio, ovário, esôfago e intestino. Diante disso, nosso objetivo foi analisar a expressão de MMP-26 em diferentes lesões da próstata e correlacionar com os fatores de risco conhecidos para CaP, a fim de saber se essa enzima pode ser usada como marcador prognóstico. Foram avaliadas 150 amostras histológicas de pacientes submetidos a prostatectomia no Hospital das Clínicas de Pernambuco, incluindo atrofia, neoplasia intraepitelial, hiperplasia benigna e adenocarcinoma prostático. A análise imunohistoquímica mostrou que MMP-26 está superexpressa em casos de adenocarcinoma de próstata. A reação foi negativa em 96% das amostras de atrofia e 94% das hiperplasias, enquanto que o grupo de neoplasia intraepitelial mostrou 88% de positividade com intensidade leve e no de adenocarcinoma 88% foram positivas, sendo 10 com intensidade leve, 28 moderada e 06 intensa. Esses resultados corroboram outros estudos que tem indicado MMP-26 como potencial marcador para carcinoma prostático, sugerindo seu uso como adjuvante da dosagem de PSA, para o diagnóstico diferencial entre câncer e hiperplasia, bem como, para estimar o prognóstico dos casos de adenocarcinomas.

PALAVRAS CHAVE: Metaloproteinase de Matriz 26. Endometase. Matrilisa-2. Imunohistoquímica. Câncer de próstata.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – CEP-CCS-UFPE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EXPRESSÃO DE METALOPROTEINASES E INFECÇÃO PELO HPV COMO FATORES PROGNÓSTICOS NO DESENVOLVIMENTO DE NEOPLASIAS DA

Pesquisador: Ingrid Tavares de Lima

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 47863515.0.0000.5208

Instituição Proponente: LABORATÓRIO DE IMUNOPATOLOGIA KEISO ASAMI

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.214.998

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

RECIFE, 04 de Setembro de 2015

Assinado por:
Gisele Cristina Sena da Silva Pinho
(Coordenador)