

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CLÍNICA CIRÚRGICA

LUCIANE ROSTIROLA CAVAZZOLA

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO mRNA DAS ENZIMAS TIMIDINA FOSFORILASE
E URIDINA FOSFORILASE 1 E 2 E DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO PDEF E
ETV4 EM TUMORES DE PRÓSTATA E DE RIM**

PORTO ALEGRE

2014

LUCIANE ROSTIROLA CAVAZZOLA

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO mRNA DAS ENZIMAS TIMIDINA FOSFORILASE
E URIDINA FOSFORILASE 1 E 2 E DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO PDEF E
ETV4 EM TUMORES DE PRÓSTATA E DE RIM**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Dr. Gustavo Franco Carvalhal

Co-orientador: Dr. Diógenes Santiago Santos

Porto Alegre

2014

DADOS DE CATALOGAÇÃO

C377a Cavazzola, Luciane Rostirola

Análise da expressão do mRNA das enzimas timidina fosforilase e uridina fosforilase 1 e 2 e dos fatores de transcrição PDEF e ETV4 em tumores de próstata e de rim/ Luciane Rostirola Cavazzola. Porto Alegre: PUCRS, 2014.

174 f.: il.; tab. Inclui artigo de periódico.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Franco Carvalhal.

Co-orientador: Prof. Dr. Diógenes Santiago Santos.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Clínica Cirúrgica.

1. CÂNCER DE PRÓSTATA. 2. CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIAS. 3. RT-PCR EM TEMPO REAL. 4. TIMIDINA FOSTORILASE. 5. URIDINA FOSFORILASE 1. 6. URIDINA FOSFORILASE 2. 7. FATOR DE TRANSIÇÃO ETs, PDEF, ETV4. 8. ESTUDO OBSERVACIONAL TRANSVERSAL, COMPARATIVO EM BASE DE DADOS DE COORTE HISTÓRICA. I. Carvalhal, Gustavo Franco. II. Santos, Diógenes Santiago. III. Título.

CDD 616.9946
NLM WM 173.7

LUCIANE ROSTIROLA CAVAZZOLA

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO mRNA DAS ENZIMAS TIMIDINA FOSFORILASE
E URIDINA FOSFORILASE 1 E 2 E DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO PDEF E
ETV4 EM TUMORES DE PRÓSTATA E DE RIM**

Dissertação apresentada como requisito para a
obtenção do grau de Mestre pelo Programa de
Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde
da Faculdade de Medicina da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Aprovada em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Porto Alegre

2014

Dedico aos meus pais,
Lygia Otília Silva Rostirola e Antônio de Pádua Jaquet Rostirola,
que sempre me incentivaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os integrantes do laboratório do CP-BMF pela ajuda que me foi dada sempre que requisitados, pelo profissionalismo e conhecimento que perpetua naquele Centro de Pesquisa. Em especial, agradeço meu Co-orientador Dr. Diógenes Santiago Santos que me recebeu tão bem em seu Laboratório e que proporcionou a realização deste estudo.

Aos meus familiares Lucca Rostirola Cavazzola e Silvio Adriano Cavazzola, meu muito obrigado por tudo.

Meus eternos agradecimentos a uma pessoa apaixonante e que é um exemplo de ser humano, meu Orientador Dr. Gustavo Carvalhal. Pelas horas de aprendizado e disponibilidade, muito obrigada !

RESUMO

O câncer de próstata é o mais importante tumor urológico e o segundo mais frequente no homem. As taxas de incidência e de mortalidade desta doença multifatorial são muito variadas e leva em conta fatores comportamentais e pré-disposição genética. Os principais fatores predisponentes são idade avançada, raça e história familiar. Dentre os vários subtipos histológicos, o adenocarcinoma acinar é o mais frequente. A classificação deste tumor, a partir da ultra-sonografia transretal com biópsia por agulha, é feita pelos graus de escore de Gleason e pela Classificação TNM que fornece o estadiamento do tumor. O carcinoma de próstata, além de ter grande propensão em formar metástases, é regulado por várias vias moleculares de sinalização por meio de genes, proteínas, enzimas, receptores e fatores de transcrição.

O carcinoma de células renais é o terceiro mais comum tumor urológico. A grande variação na taxa de incidência se correlaciona com a área geográfica. Os fatores de risco podem ser vários como tabagismo, doenças genéticas e alterações gênicas. A grande maioria dos casos ocorre em adultos no parênquima renal e, além de compreender cinco subtipos histológicos, o de células claras e esporádico é o mais frequente. A diferenciação histológica é feita pelo grau de Fuhrman e o estadiamento pela Classificação TNM. Como as manifestações clínicas são variadas, a maioria dos pacientes são diagnosticados incidentalmente e por ultra-sonografia.

As enzimas timidina fosforilase e uridina fosforilase 1 e 2, bem como os fatores de transcrição PDEF e ETV4, são relatados como componentes das vias que levam à tumorigênese e/ou a metastização.

O objetivo deste trabalho é analisar estas enzimas e fatores de transcrição, correlacionando-as com variáveis clínicas e patológicas nos tumores de próstata e de rim, bem como nos tecidos adjacentes a estes tumores, pela técnica de RT-PCR em tempo real.

No câncer de próstata, a média geométrica da expressão relativa dos fatores de transcrição PDEF e ETV4 entre os tecidos benignos e tumorais, apresentaram correlação significativa com uma maior expressão relativa no tumor quando comparado ao seu benigno. Estes fatores também apresentaram uma correlação significativa entre eles no tecido tumoral e no tecido benigno. As médias geométricas

da expressão relativa das enzimas timidina fosforilase e uridina fosforilase 1 se correlacionaram fortemente e significativamente entre os tecidos benignos e tumorais da próstata. A média geométrica da expressão relativa da timidina fosforilase também se correlacionou de forma moderada e significativa com a do ETV4, entre os tecidos benignos. A média geométrica da expressão relativa da uridina fosforilase nos tumores T3 foi significativamente menor do que nos tumores T1 e T2 da próstata.

No carcinoma de rim a Classificação TNM se correlacionou fortemente e significativamente com a expressão relativa da enzima timidina fosforilase, e se correlacionou de forma negativa, muito forte e significativamente com a enzima uridina fosforilase. A expressão relativa do fator de transcrição ETV4 se correlacionou de forma negativa, forte e significativamente com a Classificação TNM, e se correlacionou de forma forte e significativamente com a expressão relativa de uridina fosforilase nos tecidos tumorais de rim.

Palavras-chave: câncer de próstata, carcinoma de células renais, RT-PCR em tempo real, timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, uridina fosforilase 2, fator de transcrição ETs, PDEF, ETV4, expressão relativa

ABSTRACT

Prostate cancer is the most important urological tumor and the second most common in men. The incidence and mortality of this multifactorial disease are varied and take into account behavioral factors and genetic predisposition. The main predisposing factors are age, race and family history. Among the various histological subtypes, the acinar adenocarcinoma is the most common. The classification of this tumor, from transrectal ultrasonography and biopsy needle, is made for degrees of Gleason score and TNM classification that provides for tumor staging. The prostatic carcinoma has a propensity to metastasize and is regulated by various molecular signaling pathways through genes, proteins, enzymes, receptors and transcription factors.

The RCC is the third most common urological tumor. The wide variation in incidence correlates with the geographical area. Risk factors can be various as smoking, genetic diseases and genetic alterations. The vast majority of cases occur in adults and in the renal parenchyma, and comprise five histological subtypes, the clear and sporadic cells being the most common. The histological differentiation is made by Fuhrman grade and staging by TNM classification. As the clinical manifestations are varied, most patients are diagnosed incidentally and by ultrasonography.

The enzymes thymidine phosphorylase and uridine phosphorylase 1 and 2 as well as the transcription factors PDEF and ETV4 are reported as components of pathways leading to tumorigenesis and / or metastasis.

The objective of this work is to analyze these enzymes and transcription factors and their correlation with clinical and pathological variables in prostate and kidney cancers as well as in benign tissue, by RT-PCR in real time.

In prostate cancer, the geometric mean of the relative expression of transcription factors PDEF and ETV were greater in the tumor than in the benign tissues. These factors also had a significant correlation between them in tumor tissue and benign tissue. The geometric mean of relative expression of the enzyme thymidine phosphorylase and uridine phosphorylase 1 strongly and significantly correlated between them in benign and in malignant prostate samples. The geometric mean of relative expression of thymidine phosphorylase also correlated moderately and significantly with the ETV4 in benign tissues. The geometric mean of relative

expression of uridine phosphorylase in tumor T3 was significantly lower than in T1 and T2 prostate tumors.

Kidney carcinoma TNM Classification strongly and significantly correlated with the relative expression of the enzyme thymidine phosphorylase and negatively correlated very strong and significantly with the enzyme uridine phosphorylase. The relative expression of the transcription factor ETV4 correlated negatively and significantly stronger with the TNM classification, and correlated with strength and significance with the relative expression of uridine phosphorylase in tumor tissues of the kidney.

Key words: prostate cancer, renal cell carcinoma, RT- PCR real time, thymidine phosphorylase, uridine phosphorylase 1, uridine phosphorylase 2, transcription factor ETs, PDEF, ETV4, relative expression

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Características e evolução das lesões pré-cancerosas da próstata que são os principais precursores do carcinoma de próstata (CaP).....	31
Quadro 2 – Graus do escore de Gleason.....	32
Figura 1 – Descrição dos graus do escore de Gleason.....	33
Quadro 3 – Classificação Tumor, Nódulo, Metástases (TNM) de câncer de próstata.....	34
Figura 2 – Mecanismo molecular do receptor de androgênio (RA) e do receptor de estrogênio (RE) no câncer de próstata (CaP).....	37
Figura 3 – Mecanismo molecular do fator de crescimento de transformação beta (TGF- β).....	38
Figura 4 – Mecanismo molecular do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1).....	39
Quadro 4 – Genes implicados no carcinoma de próstata (CaP) hereditário, esporádico e nas possíveis fusões já relatadas.....	41
Figura 5 – Imagens de tumor de próstata de um paciente por ultra-sonografia trans-retal (USTR) com biópsia por agulha: (A) com Doppler e (B) sem Doppler.....	43
Figura 6 – Indicações e preparo do paciente para realização de biópsia de próstata por agulha por ultra-sonografia trans-retal (USTR).....	44
Quadro 5 – Classificação clínica do carcinoma de células renais (CCR).....	49
Quadro 6 – Graduação histológica segundo Fuhrman.....	50
Figura 7 – Via do gene da Síndrome Von Hippel-Lindau (VHL).....	53

Figura 8 – Via do MET no carcinoma renal papilar hereditário (HPRC) do tipo 1.....	54
Figura 9 – Via do gene da Síndrome Birt-Hogg-Dube (BHD).....	55
Figura 10 – Via do gene fumarato hidratase na leiomiomatose de carcinoma de células renais hereditário (LHCCR).....	56
Figura 11 – Via dos genes da esclerose tuberosa (TSC) 1 e 2 na esclerose tuberosa.....	57
Figura 12 – Imagem de tumor de rim por ultras-sonografia (US).....	58
Figura 13 – Imagem de tumor de rim por ultra-sonografia (US).....	59
Quadro 7 – Nomenclatura e abreviação das bases dos ácidos nucleicos.....	60
Figura 14 – Síntese de DNA, a partir de 4 ribonucleotídeos difosfatos pela síntese <i>de novo</i>	61
Figura 15 – Conversão de timidina à timina e 2- α -D-desoxirribose-1-fosfato, pela enzima timidina fosforilase (TP).....	62
Figura 16 – Exemplo da atividade desoxirribosil transferase da enzima timidina fosforilase (TP), através da conversão reversível de timidina à timina e 2'-desoxiuridina.....	63
Figura 17 – Mecanismo de formação de 2-D-desoxirribose (d-Drib) e suas possíveis atuações.....	64
Figura 18 – Enzima timidina fosforilase (TP) com o substrato uracila ligado ao sítio superior, e o substrato fosfato ligado ao sítio menor.....	65
Figura 19 – Enzima timidina fosforilase (TP) com o substrato uracila ligado ao sítio superior, e o substrato deoxirribose fosfato ligado ao sítio menor.....	66
Figura 20 – Mecanismo de ação da enzima timidina fosforilase (TP) com os substratos timidina e fosfato.....	67

Figura 21 – Descrição da descoberta de timidina fosforilase (TP) e seus análogos: fator de crescimento de células endoteliais derivado de plaquetas (PD-ECGF) e gliostatina.....	68
Figura 22 – Esquema das diversas atuações da enzima timidina fosforilase (TP)...	22
Figura 23 – Correlação dos níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com densidade microvascular.....	71
Figura 24 – Correlação dos níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com estágio do tumor.....	72
Figura 25 – Correlação dos níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com grau tumoral.....	73
Figura 26 – Correlação entre os níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com prognóstico.....	74
Figura 27 – Fosforilação de uridina à uracila e ribose-1-fosfato através da enzima uridina fosforilase.....	75
Figura 28 – Correlação da uridina fosforilase e uridina com diversos fatores em que elas estão envolvidas e que já foram descritos na literatura.....	77
Figura 29 – Fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF) com seus domínios pontiagudos (PD) em azul e seu domínio de ligação ao DNA dos ETs em vermelho.....	80
Figura 30 – Atuação do fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF).....	81
Figura 31 – Conexão entre fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF), antígeno específico prostático (PSA) e o receptor de androgênio (RA).....	83
Figura 32 – Relação do fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF) com E-caderina e metástases.....	84
Figura 33 – Relação do fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF) com as metaloproteinases (MMP) e metástases.....	85

Figura 34 – Fator de transcrição ETV4 com seus domínios acídicos em azul e seu domínio de ligação ao ácido desoxirribonucleico (DNA) dos ETs em vermelho.....	87
Figura 35 – Ativação dos fatores de transcrição ETV4 via gene HER2/Neu.....	89
Figura 36 – Interação do gene induzível regulado por andrógeno com o ETV4.....	90
Figura 37 – Via de sinalização GDNF-Ret com os fatores de transcrição ETV4 e ETV5, necessários para o desenvolvimento dos rins.....	93
Quadro 8 – Passos básicos do procedimento de PCR.....	94
Figura 38 – Freezer -80°C onde as amostras permaneceram armazenadas.....	98
Figura 39 – Equipamentos utilizados no isolamento e purificação do mRNA: (A) pipetas, (B) botijão de nitrogênio líquido, (C) gral e pistilo.....	99
Figura 40 – Microcentrífuga utilizada para isolamento e purificação do mRNA.....	100
Figura 41 – Espectrofotômetro utilizado para a realização da densidade ótica (DO).....	101
Figura 42 – Termociclador utilizado na transcrição reversa para formar o ácido desoxirribonucleico complementar (cDNA).....	102
Gráfico 1 – Correlação da média geométrica da expressão relativa do PDEF nos pacientes com adenocarcinoma de próstata com a média geométrica da expressão relativa do PDEF nos pacientes com hiperplasia prostática benigna.....	110
Gráfico 2 – Correlação da expressão relativa da média geométrica do ETV4 nos pacientes com adenocarcinoma de próstata com a expressão relativa da média geométrica do ETV4 nos pacientes com hiperplasia prostática benigna.....	112
Gráfico 3 – Correlação da expressão relativa do fator de transcrição PDEF e a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 nos tecidos benignos de próstata.....	114

Gráfico 4 – Correlação da expressão relativa do fator de transcrição PDEF e a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 nos tecidos de adenocarcinoma de próstata.....	115
Gráfico 5 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de timidina fosforilase nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor.....	118
Gráfico 6 – Correlação entre a expressão relativa da enzima timidina fosforilase e a Classificação TNM.....	119
Gráfico 7 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de uridina fosforilase 1 nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor.....	120
Gráfico 8 – Correlação negativa entre a expressão relativa da enzima uridina fosforilase 1 e a Classificação TNM.....	121
Gráfico 9 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de PDEF nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor.....	122
Gráfico 10 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de ETV4 nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor.....	124
Gráfico 11 – Correlação entre a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 e a Classificação TNM.....	125

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 em amostras de tecido prostático benigno e maligno.....106
- Tabela 2** – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 com as médias geométricas do PSA pré-operatório em amostras de tecido prostático benigno.....106
- Tabela 3** – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 com as médias geométricas do PSA pré-operatório em amostras de tecido prostático maligno.....107
- Tabela 4** – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 em amostras de tecido renal benigno e maligno.....116

LISTA DE SIGLAS

ACSL3: acil-coenzima A sintetase membro a família de cadeia longa 3

ADT: deprivação de androgênio

Akt: oncogene viral timoma murino v-Akt

Alks: gene alcano hidroxilase

AMACR: racemase a-metil coenzima A

AMPC: monofosfato de adenosina cíclico

AMPK: proteína quinase ativada por 5' adenosine monofosfato

AS: vigilância ativa

ASAP: proliferações atípicas de pequenos ácinos

ATFB1: Fibrilação atrial familiar 1

Bcl-2: gene do linfoma de células B2

BHD: Síndrome Birt-Hogg-Dubé

BMPs: proteínas morfogênicas do osso

β -catenina: beta-catenina

CANT1: gene da nucleotidase 1 cálcio-ativada

c-ErbB2 (Her-2 neu): receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano

c-kit (CD117): receptor de tirosina quinase

c-MET: proto-oncogene do receptor do fator de crescimento dos hepatócitos

c-MYC: oncogene homólogo à mielocitomatose viral aviária

CAPB: cocoamidopropil betaína

CbKN1B: ciclina dependente de inibidores de quinase 1B

CDKN2A: inibidor quinase ciclina-dependente 2A

Cdk2: quinase dependente de ciclina 2

C15orf21: gene da proteína 2 de carcinoma de próstata (D-PCA-2)

CHEK2: símbolo oficial para o gene humano CHK2 checkpoint homólogo

Ciclina D: ciclina do tipo dependente

Classificação TNM: tumor, nódulo e metástases

Co-Smad: Smad comum

COX-2: Ciclo-oxigenase-2

Cul2: gene culina 2

CYD3A4: citidina 3 fosfato A4

CYP17: citocromo P450 17A1 ou de esteróides 17-alfa-mono-oxigenase , ou 17 α -hydroxylase/17, 20 lyase/17, 20 desmolase

DDX5: proteína 5 *dead box*

DNA: ácido desoxirribonucléico

dNTPs: desoxirribonucleotídeos trifosfatos

DRC: doença renal crônica

DHT: di-hidrotestoterona

E: estrogênio

E-caderina: caderina epitelial

ECM: matriz extracelular da célula

ELAC2: gene LAC ribonuclease Z 2

EMT: transição epitelial-mesenquimal

ERG : gene relacionado aos ETS

EGFR: receptor do fator de crescimento epitelial

ERM: moléculas relacionadas aos ETS

ER81: eritroblasto de transformação específica E-vinte e seis (ETV1)

EST14: 2 éxons de ncRNA próstata específico que mapeia no cromossomo 14

ETs: eritroblasto de transformação específica E-vinte e seis

ETV1: eritroblasto de transformação específica E-vinte e seis variante 1

ETV4: eritroblasto de transformação específica E-vinte e seis variante 4

ETV5: eritroblasto de transformação específica E-vinte e seis variante 5

EUA/US/USA: Estados Unidos da América do Norte

EWS: gene do Sarcoma de Ewing

E1A: proteína de ligação ao potenciador do vírus E1A

E3:17 beta-estradiol

FAK: quinase de adesão focal

FLCN: foliculina

FNIP1: foliculina que interage com a proteína 1

FNIP2: foliculina que interage com a proteína 2

Fosfolipase C: fosfolipase de clivagem

FOXP1: proteína P1 *forkhead*

GDNF: factor neurotrófico derivado de células gliais

GLUT 1: transportador de glicose 1

GSK3 β : glicogênio quinase-sintase 3 beta

GSTP1: gene da glutationa-S-transferase pi

GTP: guanosina trifosfato

G1: fase de crescimento (ciclo celular)

HER/NEU: receptor de tirosina-quinase da proteína erbB-2

HERV-K: retrovírus endógeno humano tipo K

HERV-K20: retrovírus endógeno humano tipo K20

HGF: fator de crescimento dos hepatócitos

HGPIN: neoplasia intraepitelial prostática de alto grau

HIF: factor induzível de hipóxia

HIF 1: factor induzível de hipoxia tipo 1

HIF 2: factor induzível de hipoxia tipo 2

HNF-4 α : fator nuclear hepático-4 alfa

HNRPA2B1: ribonucleoproteína heterogênea nuclear A2B1

HPCX: gene do câncer de próstata hereditário ligado ao X

HPC1: gene do câncer de próstata hereditário 1

HPC2: gene do câncer de próstata hereditário 2

HPC20: gene do câncer de próstata hereditário 20

HSD3B: 3- β -hidroxiesteróide desidrogenase/ Δ -5-4 isomerase

HPRCC: carcinoma de células renais papilar hereditário

HUVECS: células endoteliais da veia umbilical humana

I-Smad: Smads inibitórios

IARC: *International Agency for Research on Cancer*

IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1

IGFBP: fator de crescimento semelhante à insulina ligado a proteínas

IHQ: imunohistoquímica

IL-8: interleucina 8

INC: Instituto Nacional do Câncer

KLF6: gene do factor 6 ligado à Krueppel

KLK2: peptidase 2 relacionada à calicreína

LASP1: gene que codifica a proteína LIM e a protein 1SH3

LHCCR: leiomiomatose de carcinoma de células renais hereditário

m-TOR: mecanístico alvo da rapamicina

MAPK: proteína quinase mitógena-ativada

MAPKAPK: proteína quinase ativada por MAP quinase

Maspin: inibidor da protease serina mamária

MET/c-Met: proto-oncogene receptor do fator de crescimento dos hepatócitos

MEK: proteína quinase mitógena ativada

MM: mesênquima matanéfico

MMPs: metaloproteinases da matriz

MMP1: metaloproteinase da matriz 1 (colagenase intersticial)

MMP2: metaloproteinase da matriz 2 (gelatinase A)

MMP3: metaloproteinase da matriz 3 (estromelina-1)

MMP7: metaloproteinase da matriz 7 (matrilina)

MMP9: metaloproteinases da matriz 9 (gelatina)

MMP13: metaloproteinases da matriz 13 (colagenase)

MNGIE: encefalopatia neurogastrointestinal mitocondrial

MSR1: *gene macrophage scavenger Receptor 1*

MX11: membro das famílias das proteínas X11

Myc: oncogene viral homólogo à mielocitomatose aviária

Na⁺: íon sódio

NBR1: vizinho de uma proteína do gene BRCA1

ND: domínio negativo

NDRG1: *N-Myc Downstream Regulated 1*

NKX3: gene homeobox do receptor de traquiquina 3

NKX3.1: gene homeobox 1 do receptor de traquiquina 3

PCAP: locus genético de predisposição ao câncer de próstata

PCR: Reação em Cadeia da Polimerase

PD: domínio pontiagudo

PD-ECGF: fator de crescimento de células endoteliais derivado de plaquetas

PDEF: fator ETs derivado da próstata

PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas

PEA3: ativador do potenciador do polyomavirus 3

PECAM-1: molécula de adesão celular endotelial plaquetária 1

PG: prostaglandina

PIA: atrofia inflamatória proliferativa

PIM1: oncogene pim 1

PIN: neoplasia intraepitelial prostática

PI3K: fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-quinase

PKA: proteína quinase A

PPP1: fosfoproteína fosfatase 1

PPP2: fosfoproteína fosfatase 2

PR: prostatectomia radical

PSA: antígeno específico da próstata

PSCA: gene que codifica o antígeno da stem cell prostática

PTEN: fosfatase e homólogo de angiotensina

pVHL: proteína supressora do tumor VHL

quinase C: quinase convencional

R-Smads: receptor associado a Smads

RA: receptor de androgênio

Raf: gene do fibrosarcoma rapidamente acelerado

Ras: gene do vírus causador do sarcoma em ratos

RE: receptor de estrogênio

Ret: gene reorganizador durante a transfecção

Rb: Retinoblastoma

RD: domínio de repressão

RNA: ácido ribonucléico

RNASEL: Ribonuclease L (2',5'-oligoadenilato dependente de sintetase)

RT-PCR: transcrição reversa da reação em cadeia da polimerase

RTK: receptor de tirosina quinase

RTU: ressecção transuretral da próstata

S: fase de síntese (ciclo celular)

SEER: *Surveillance Epidemiology and End Results*

SLC45A3: proteína associada ao câncer de próstata/protein/membro 3 da família 45 do soluto carreador

Slug: proteína do dedo de zinco

Smads: mães contra decapentaplégicos*

SPDEF: fator de transcrição ETs contendo um domínio pontiagudo SAM

SPSS: *Statistical Package for Social Sciences*

SQSTM1: sequestosome 1

SRC: coativador do receptor de esteróide

SRDSA2: gene da 5 alpha-redutase tipe 1

STAT S: sinal de transdutor e ativador da transcrição

T: testosterona

TAD: domínio ativador da transcrição

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TCS1: proteína da esclerose tuberosa (harmatina)

TCS2: proteína da esclerose tuberosa (tuberina)

TGF- β : fator de transformação do crescimento beta

TGF- β I: fator de transformação do crescimento beta tipo 1

TGF- β II: fator de transformação do crescimento beta tipo 2

TP: timidina fosforilase

TR: toque retal

TMPRSS2: serina 2 da protease transmembrana

T β RI: receptor do fator de transformação do crescimento beta tipo 1

T β RII: receptor do fator de transformação do crescimento beta tipo 2

UB: botão uretérico

UP: uridina fosforilase

UP1: uridina fosforilase 1

UP2: uridina fosforilase 2

UPA: uroquinase ativadora de plasminogênio

UPAR: receptor de uroquinase ativadora de plasminogênio

US: ultra-sonografia

USSG: *Union States Surgeon General*

USTR: ultra-sonografia transretal

VASP: fosfoproteína estimulada por vasodilatador

VCAM-1: molécula de adesão celular vascular 1

VDR: receptor de vitamin-D

VEGF: fator de crescimento endotelial vascular

VHL: Síndrome de Von Hippel-Lindau

WT: ducto de Wolffian

◦ O termo "Mães contra" foi adicionado como uma abordagem humorística visto que mães muitas vezes formam organizações contra várias questões por exemplo, [Mothers Against Drunk Driving](#) (MADD).

LISTA DE ABREVIATURAS

CaP: câncer de próstata

CCR: carcinoma de células renais

LISTA DE SÍMBOLOS

β : beta

α : alfa

\uparrow : aumenta

\downarrow : diminuir

\sim : em torno

\leq : menor ou igual

®: marca registrada

μ : micro

$=$: igual

$+$: mais

$-$: menos

SUMÁRIO:

1	REFERENCIAL TEÓRICO.....	30
1.1	CÂNCER DE PRÓSTATA.....	30
1.2	CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIIS.....	46
1.3	BIOSSÍNTESE DE NUCLEOTÍDEOS.....	60
1.3.1	ENZIMA TIMIDINA FOSFORILASE.....	61
1.3.2	ENZIMAS URIDINA FOSFORILASE 1 E 2.....	74
1.4	FATORES DE TRANSCRIÇÃO.....	78
1.4.1	PDEF.....	79
1.4.2	ETV4.....	86
1.5	RT-PCR EM TEMPO REAL (<i>REAL TIME</i>).....	93
2	OBJETIVOS.....	96
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	97
3.1	POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	97
3.1.1	GRUPO DO CÂNCER DE PRÓSTATA.....	97
3.1.2	GRUPO DO CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIIS.....	97
3.2	COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS DE TECIDOS.....	97
3.3	ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DO mRNA.....	98
3.4	DENSIDADE ÓTICA.....	100
3.5	TRANSCRIÇÃO REVERSA.....	102
3.6	PCR EM TEMPO REAL.....	103
3.7	SISTEMA DE ESTADIAMENTO E CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	103
3.8	REVISÃO DE PRONTUÁRIOS.....	103
3.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	104
4	RESULTADOS.....	105
4.1	GRUPO DO CÂNCER DE PRÓSTATA.....	105
4.2	GRUPO DO CÂNCER DE RIM.....	116
5	DISCUSSÃO.....	126

6	CONCLUSÃO.....	131
	REFERÊNCIAS.....	133

1 REFERENCIAL TEÓRICO:

1.1 CÂNCER DE PRÓSTATA:

O câncer de próstata (CaP) é o segundo tumor mais frequente no homem (somente menos comum que os tumores de pele) e representa 14-29% de todos os novos casos de câncer no sexo masculino. Apresenta taxas de incidência e de mortalidade muito variáveis, devido a vários fatores comprovados ou ainda em estudo, que podem se correlacionar com este tumor. O CaP é mais comum na América do Norte, noroeste da Europa, Austrália e nas Ilhas do Caribe; e menos comum na Ásia, África, América Central e América do Sul (1-3).

Dados estatísticos:

Nos Estados Unidos da América (EUA) de acordo com a Sociedade Americana de Câncer, um em cada sete homens serão diagnosticados com CaP em algum momento de sua vida; para 2014 a estimativa é que surjam 233.000 mil novos casos de CaP, sendo que cerca de 29.480 mil homens morrerão desta doença (4). Países da Europa central e setentrional apresentam maiores taxas de incidência do que países do Sul e do Leste europeu; desta forma, enquanto a Irlanda apresenta 183,1casos/100.000homens, a Ucrânia tem uma taxa de 27,7casos/100.000homens (2). No Brasil, o CaP é o câncer mais frequente no homem sem considerarmos os tumores de pele não melanoma; e o segundo câncer de maior incidência na população. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima que em 2014 a incidência do CaP seja de 68.800 mil casos em todo o Brasil, sendo a região Sul a mais afetada, com 91,24 casos a cada 100 mil habitantes, seguida pelas regiões Sudeste (88,06 casos por 100 mil); Centro-Oeste (62,55 casos por 100 mil); Nordeste (47,46 casos por 100 mil); e Norte (30,16 casos por 100 mil) (5).

Etiologia:

O câncer de próstata é uma doença multifatorial que engloba desde fatores de risco modificáveis ou comportamentais até fatores de risco não modificáveis que através de mecanismos biológicos e genéticos desencadeiam processos de alteração celular por meio de várias vias, levando à tumorigênese.

Histopatologia e classificação:

A próstata é uma glândula que apresenta na sua zona periférica um envoltório de duas superfícies: a posterior e a lateral, ambas convergindo para o ápice, região em que ocorre a maioria dos adenocarcinomas de próstata. Em homens jovens, a zona periférica compreende cerca de 80% do volume da glândula, enquanto que a zona de transição ocupa cerca de 15% da mesma; quando os homens ultrapassam a idade dos 50 anos, a zona de transição começa a aumentar, e o indivíduo passa a apresentar hiperplasia prostática benigna (6). A zona periférica é responsável por cerca de 70% dos casos de CaP seguida pela zona central que perfaz 5% da glândula e apresenta de 15 a 20% dos tumores (geralmente de alto grau de Gleason e com invasão de vesículas seminais e margem positiva de ressecção) e pela zona de transição que é responsável por cerca de 5-15% de todos CaP, geralmente sendo diagnosticados através de ressecção transuretral (1), (6-8).

As lesões pré-cancerosas da próstata, consideradas como principais precursoras do CaP são: atrofia inflamatória proliferativa (PIA), neoplasia intraepitelial prostática (PIN), neoplasia intraepitelial prostática de alto grau (HGPIIN), e proliferações atípicas de pequenos ácinos (ASAP) **Quadro 1**.

Quadro 1 – Características e evolução das lesões pré-cancerosas da próstata que são os principais precursores do carcinoma de próstata CaP

Precusores de CaP	Características	Evolução
PIA	Inflamação crônica, mais encontrada na zona periférica, atrofia focal glandular, baixa frequência de apoptose, alta proliferação de células epiteliais.	<p>transformação maligna → CaP HGPIIN → CaP</p>
PIN	Alterações genotípicas, presença de marcadores de carcinoma invasivo precoce, membrana basal intacta que evita invasão estromal, mais encontrada na zona periférica, expressão das mesmas proteínas e receptores de integrina da fase normal ou hiperplásica, sem altos níveis de PSA.	<p>senescência (doença latente) ↓ CaP</p>
HGPIIN	Neoplasia pré-invasiva, apresenta células atípicas dentro de ácinos ou dutos, geralmente com macronúcleos e aparência cribriforme, papilar ou lisa	<p>CaP</p>
ASAP	Focos de pequenas estruturas acinares formadas por células epiteliais atípicas.	<p>CaP</p>

Fonte: O autor, 2014; Felguedes et al, 2014 (3); Cazares et al, 2010 (6).

Já foram descritos vários subtipos histológicos de CaP. A maioria dos casos é de adenocarcinoma acinar que surgem a partir de células epiteliais prostáticas que expressam o receptor de androgênio (RA). Os mais raros são: adenocarcinoma ductal, de anel de sinete, espumoso, neuroendócrino, intraductal, e carcinoma mucinoso (1), (2), (6), (9-14).

Existem dois sistemas de classificação muito utilizados nos CaP: os graus do escore de Gleason que é uma classificação numérica padrão do CaP, e que classifica de 1 à 5 graus a partir do exame histopatológico dos fragmentos biopsiados, descritos no **Quadro 2** e na **Figura 1** (15), (16). E a Classificação Tumor, Nódulo, Metástases (TNM) que fornece o estadiamento em que se encontra o tumor, descrito no **Quadro 3** (17).

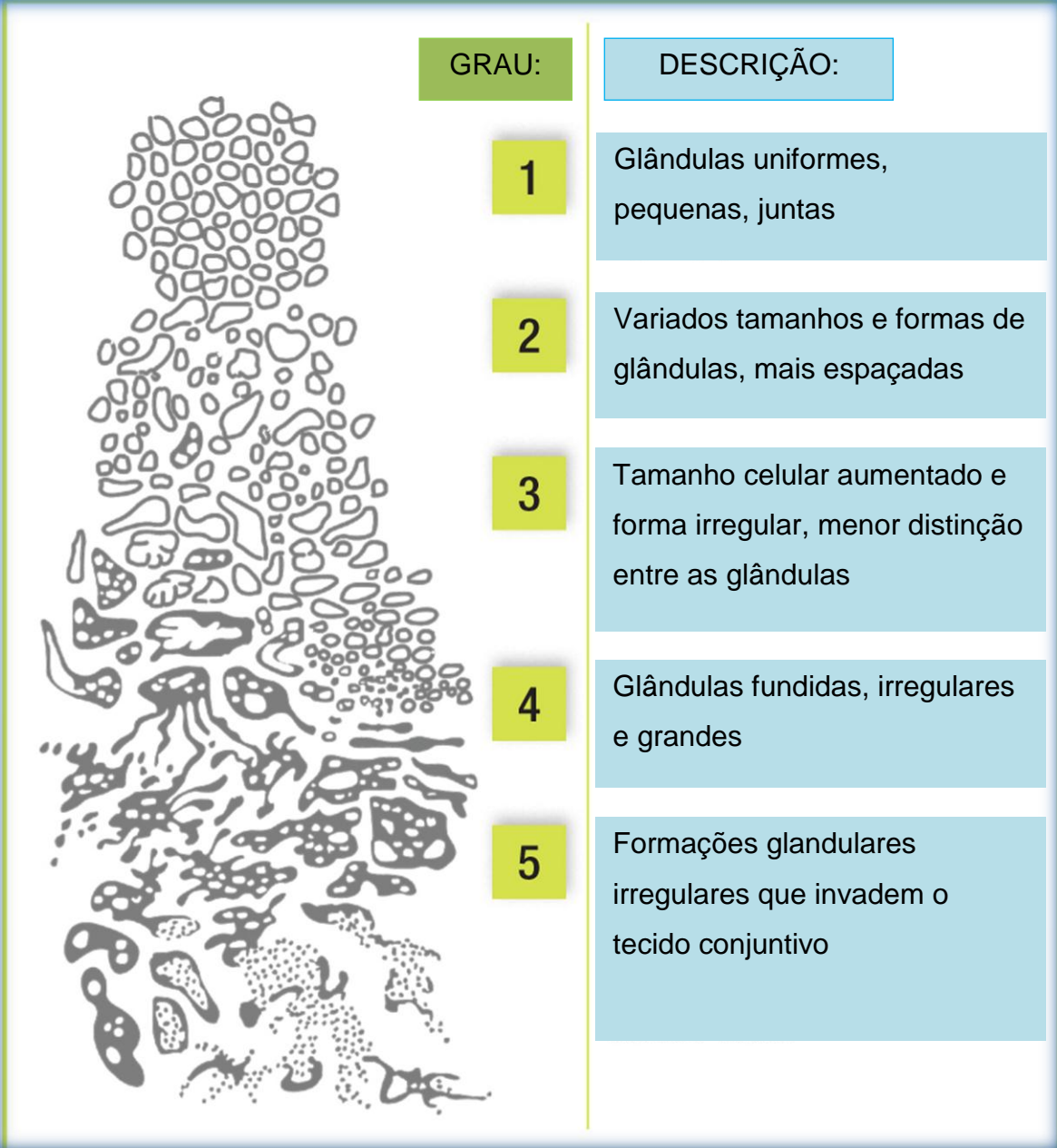
Quadro 2 – Graus do escore de Gleason

GRAU 1:
Glândulas circunscritas de forma compacta, mas separadas, uniformes, arredondadas ou ovaladas, ácinos de tamanho médio
GRAU 2:
Como no Grau 1, glândulas bastante circunscritas, mas na borda das glândulas tumorais pode haver infiltração mínima As glândulas são mais frouxamente organizadas e não tão uniformes como no grau de Gleason 1
GRAU 3:
Unidades glandulares discretas; glândulas tipicamente menores do que o observado nos graus de Gleason 1 ou 2 Infiltração entre ácinos de glândulas não-neoplásicas. Apresenta marcada variação em tamanho e formato glandular. Pode ocorrer padrão glandular cribriforme em glândulas tumorais.
GRAU 4:
Glândulas com microácinos fundidos; glândulas mal definidas com lúmens glandulares malformados; grandes glândulas cribriformes; glândulas cribriformes com uma borda irregular; padrão hipernefomatóide.
GRAU 5:
Essencialmente sem diferenciação glandular, composta por camadas de células que invadem o interstício; Comedocarcinoma com necrose central, rodeada por massas de aspecto papilar, cribriforme ou sólidos.

Fonte: Adaptado de Epstein et al, 2005 (15).

Figura 1 – Descrição dos graus do escore de Gleason

GRAU:	DESCRIÇÃO:
1	Glândulas uniformes, pequenas, juntas
2	Variados tamanhos e formas de glândulas, mais espaçadas
3	Tamanho celular aumentado e forma irregular, menor distinção entre as glândulas
4	Glândulas fundidas, irregulares e grandes
5	Formações glandulares irregulares que invadem o tecido conjuntivo



Quadro 3: Classificação Tumor, Nódulo, Metástase (TNM) de câncer de próstata

T: tumor primário
TX tumor primário não pode ser avaliado
T0 não há evidência de tumor primário
T1 tumor não diagnosticado clinicamente, não palpável ou visível por meio de exame de imagem T1a achado histológico de tumor incidental em 5 % ou menos do tecido ressecado T1b achado histológico de tumor incidental em mais de 5% de tecido ressecado T1c tumor identificado através de biópsia por agulha
T2 tumor confinado dentro da próstata ¹ T2a tumor envolve metade de um dos lobos ou menos T2b tumor envolve mais do que metade de um dos lobos, mas não ambos os lobos T2c tumor envolve os dois lobos
T3 tumor se estende através da cápsula prostática ² T3a extensão extracapsular (unilateral ou bilateral), incluindo envolvimento microscópico do colo da bexiga T3b tumor que invade vesícula(s) seminal(is)
T4 tumor está fixado ou invade outras estruturas adjacentes, que não as vesículas seminais como: colo vesical, esfíncter externo, reto, músculos elevadores, e/ou parede pélvica
N: linfonodos regionais ³
NX os linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0 ausência de metástase em linfonodo regional
N1 metástase em linfonodo regional
M: metástases à distância ⁴
M0 sem metástases à distância
M1 metástases à distância M1a linfonodo(s) não regional(is) M1b osso(s) M1c outra(s) localização(ões)
Observações: 1. Um tumor encontrado em um ou ambos os lobos por biópsia com agulha, mas não palpável ou visível por imagem é classificado como T1c. 2. Invasão do ápice prostático, ou da cápsula prostática (sem ultrapassá-la), não é classificado como T3, mas como T2. 3. Os linfonodos regionais são os nódulos da pelve verdadeira, os quais são essencialmente os nódulos abaixo da bifurcação das artérias ilíacas comuns. 4. Quando mais de uma localização de metástases está presente, deve ser usada a categoria mais avançada.

Fonte: Adaptado de Leslie et al, 2009 (17).

O CaP tem uma grande propensão a formar metástases em locais secundários como osso, pulmão e fígado. Através de vários mecanismos celulares e das enzimas de degradação, as células malignas tornam-se móveis e com capacidade de destruir a matriz extracelular, dando o início ao processo de metástase (1), (18), (19). Por exemplo, a glicoproteína transmembrana chamada de caderina epitelial (E-caderina) é um regulador chave na ligação célula-célula e crítica na transição epitelial-mesenquimal (EMT), a diminuição da síntese de E-caderinas permite a EMT e compromete as ligações célula-célula fazendo com que o CaP progrida e ocorram metástases. A β -catenina, quando apresenta uma disfunção na sua complexação com as caderinas leva a uma progressão do CaP e metástases. O gene Ras e outras proteínas de ligação a guanosina trifosfato (GTP), bem como as integrinas, as selectinas, a molécula de adesão celular endotelial plaquetária-1 (PECAM-1), a molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e outras promovem a motilidade celular, facilitando o crescimento local dos tumores sólidos e a liberação de células malignas na circulação; subsequentemente, as células malignas se ligam a superfícies endoteliais em sítios secundários, ocorrendo a migração transendotelial e o estabelecimento de metástases (1), (18), (19).

Vias de sinalização:

Várias vias de sinalizações moleculares são essenciais para o funcionamento das células normais e tumorais da próstata. Alguns exemplos de vias importantes na gênese e regulação das funções das células tumorais da próstata são: via receptor de androgênio (RA), via receptor de estrogênio (RE), via fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), via fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e de fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-quinase/oncogene viral timoma murinho v-Akt (PI3K/Akt), dentre várias outras vias ainda em estudo (1), (18), (19).

O RA encontra-se no citoplasma quando está ligado somente a algumas proteínas; quando se liga à testosterona (T) ou à di-hidrotestosterona (DHT) é translocado para o núcleo, onde se liga a elementos regulados por androgênios nas regiões promotoras dos genes alvo, aumentando a sobrevivência e proliferação celular, promovendo a diferenciação, apoptose e secreção destas células, e aumentando a expressão do antígeno específico da próstata (PSA). A maioria dos CaP são hormônio-dependentes; bloqueando-se a via RA induz-se uma regressão inicial do

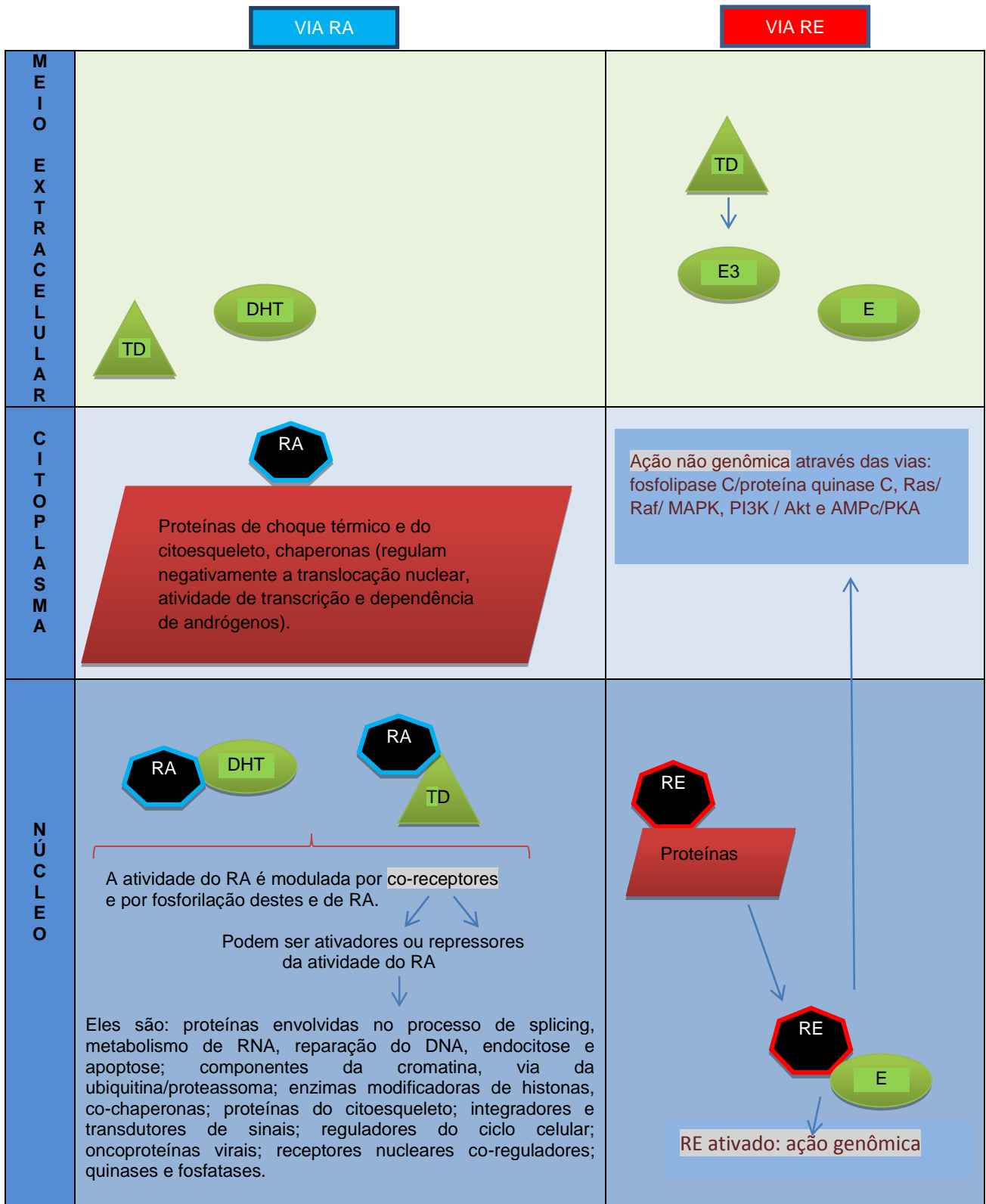
tumor, **Figura 2**. Há também aqueles CaP que apresentam perda da expressão de RA e não são hormônio-dependentes (1), (18) (19).

Os RE são fatores de transcrição nucleares que se encontram no núcleo, complexados com proteínas. Quando os REs são ativados, ligam-se na região promotora de genes alvo e apresentam uma ação genômica, ou podem por outras vias apresentar uma ação não genômica também. À medida que os homens vão envelhecendo, a testosterona se converte em 17β -estradiol (E_3) e os androgênios vão se decompondo, o que faz com que aumentem as concentrações de estrogênio (E), **Figura 2** (1), (18), (19).

O fator de transformação do crescimento beta ($TGF-\beta$) pertence à superfamília do $TGF-\beta$ de citocinas, junto com as ativinas e proteínas morfogênicas do osso (BMPs) que estão envolvidas na proliferação celular, diferenciação, apoptose, aderência, quimiotaxia, organogênese, angiogênese, e tem sido implicado na regulação do CaP através de efeitos inibidores de crescimento nas fases iniciais de CaP e promotores da malignidade nas fases anteriores; a interrupção da sinalização de $TGF-\beta$ é relatada como um fenômeno promotor de metástases. O fator de transformação do crescimento beta tipo 1 ($TGF-\beta_1$) além de ser o mais expresso dos $TGF-\beta$ na próstata, age como supressor de tumor na glândula normal. Nas células do CaP promove o crescimento do tumor, a angiogênese, a imunossupressão, a remodelação da matriz extracelular e a formação de metástases, apresentando uma superexpressão e aumentando a oncogênese devido a retirada de andrógenos; também a sua atividade de transcrição da sinalização é subregulada ou inibida pelo RA (1), (18), (19). A **Figura 3** demonstra o mecanismo molecular de $TGF-\beta$ através da complexação de seus receptores, levando à transcrição de DNA.

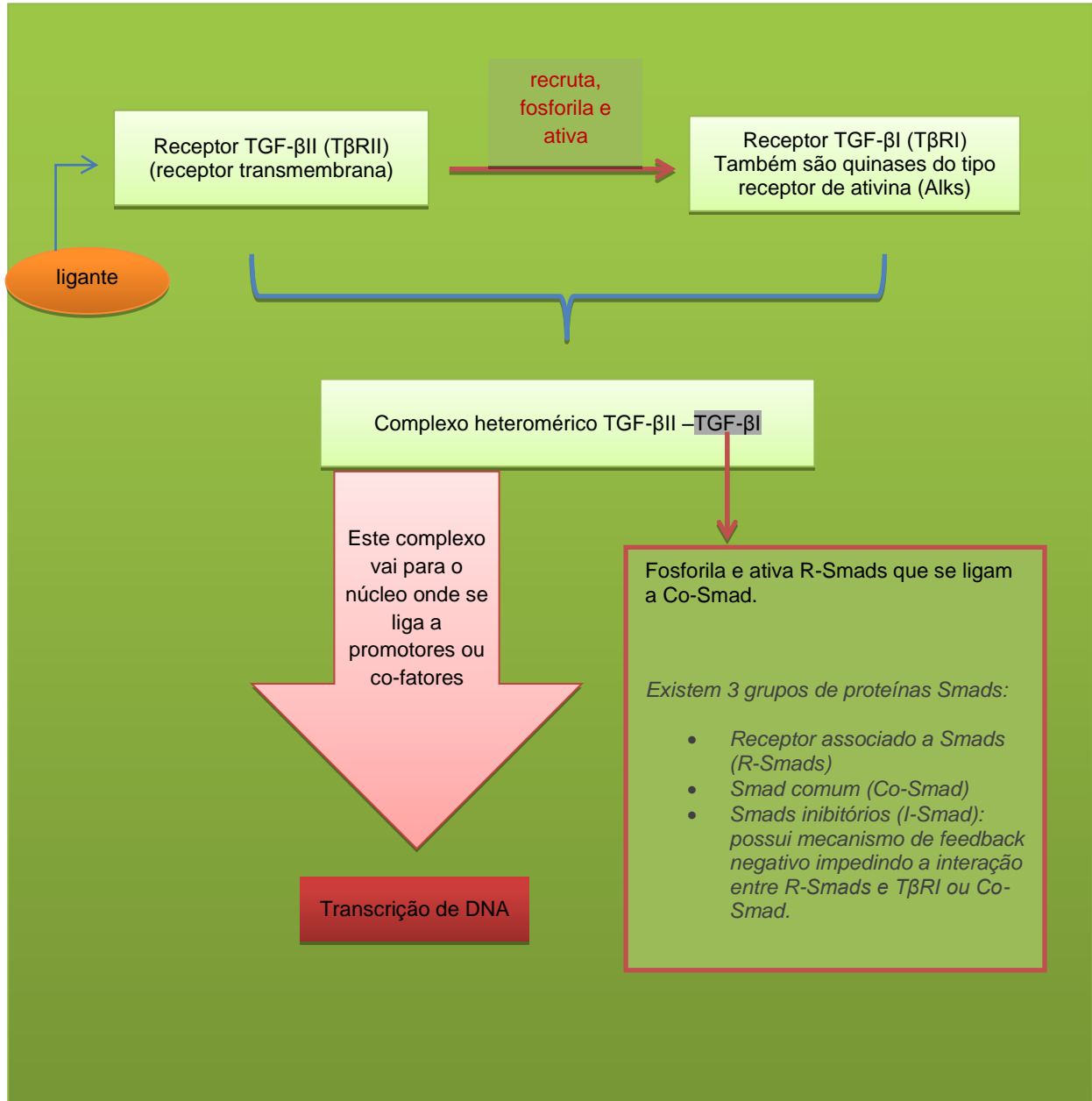
O fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) é produzido nas células estromais da próstata em resposta a estimulação de andrógenos e esta via de sinalização é responsável pela proliferação de células CaP. Altos níveis plasmáticos de IGF-1 correlacionam-se com a progressão do CaP e a **Figura 4** demonstra como o IGF-1 é regulado (1), (18), (19).

Figura 2 – Mecanismo molecular do receptor de androgênio (RA) e do receptor de estrogênio (RE) no carcinoma de próstata (CaP)



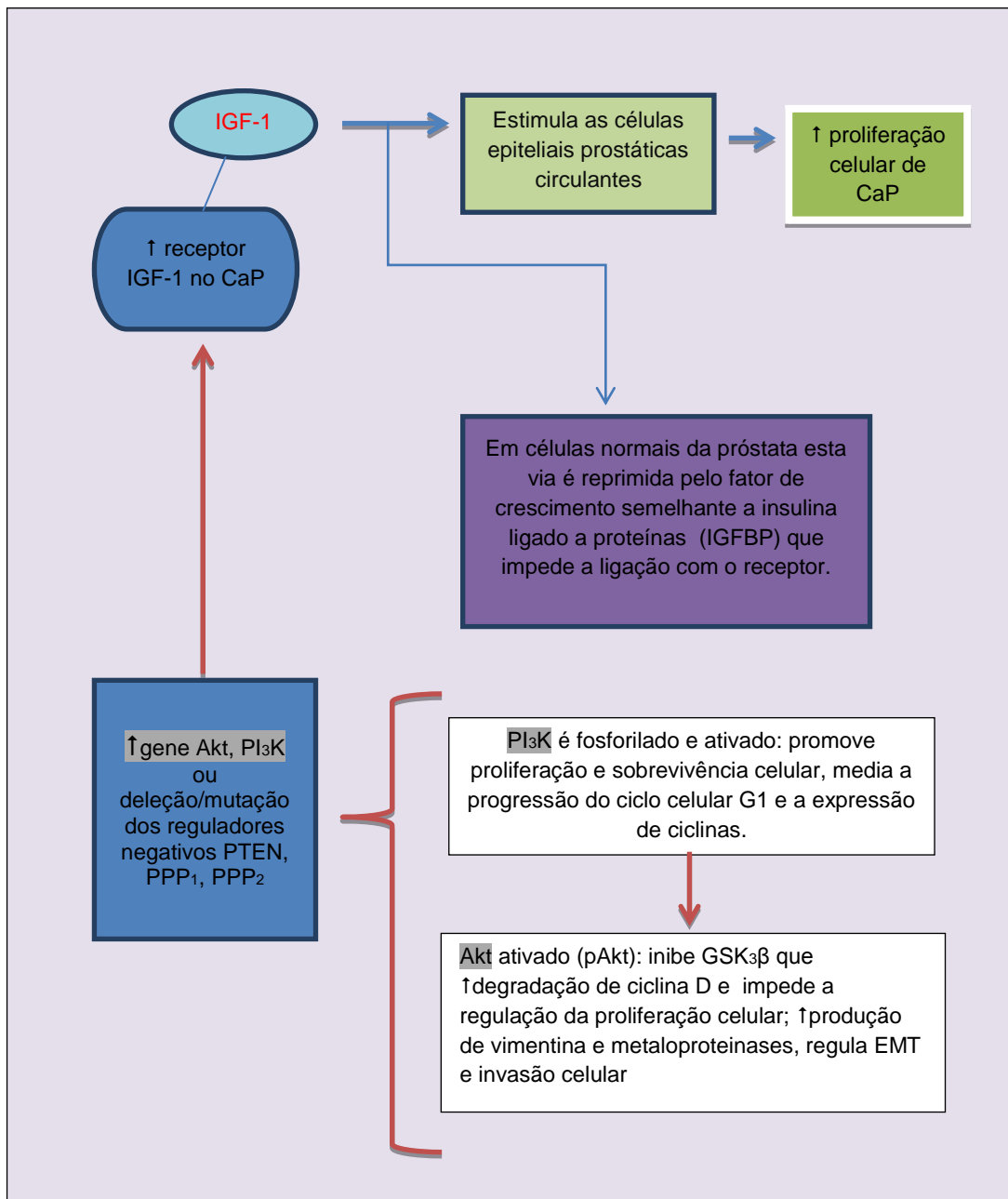
Fonte: O autor, 2014; Felgueiras et al, 2014 (1); Da Silva et al, 2013 (18); Frank & Miranti, 2013 (19).

Figura 3 – Mecanismo molecular de fator de crescimento de transformação beta (TGF- β)



Fonte: O autor, 2014; Felgueiras et al, 2014 (1); da Silva et al, 2013 (18); Frank & Miranti, 2013 (19).

Figura 4 – Mecanismo molecular de fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1)



Fonte: O autor, 2014; Felgueiras et al, 2014 (1); da Silva et al, 2013 (18); Frank & Miranti, 2013 (19).

Fatores de risco e fatores epidemiológicos:

Os principais fatores predisponentes no homem para o desenvolvimento do CaP são: idade avançada, raça e história familiar. Outros fatores associados incluem:

inflamação, estresse oxidativo e dano ao DNA, encurtamento dos telômeros e a atividade da telomerase, alterações genômicas e genéticas, modificações epigenéticas e muitos outros que ainda estão em estudo (2).

Em homens com até 40 anos de idade o risco de desenvolver CaP é raro, em torno de 1 para cada 10 mil homens; entre 40 e 50 anos, é de 1 para cada 38 homens; e entre 60 e 69 anos, é de 1 em 14 homens; 6 de cada 10 pacientes com CaP têm acima de 65 anos (5), (20).

Homens com um único parente de 1º grau (pai, irmão ou filho) com história de CaP, são duas vezes mais propensos a desenvolver a doença; aqueles com dois ou mais parentes têm uma probabilidade cerca de quatro vezes maior de serem diagnosticados. Isto sugere a presença de fatores genéticos e/ou hereditários nestas famílias (21).

Em relação à raça/ etnia, homens Afro-americanos são 56% mais propensos a desenvolver CaP e têm cerca de 2,5 vezes mais probabilidade de morrer da doença, em comparação aos brancos (4), (6).

A predisposição genética implica no CaP por apresentar vários genes tanto no CaP hereditário de herança mendeliana, como também no CaP esporádico onde ocorre a maioria dos casos, e inclui padrões moleculares que envolvem a inicialização, o desenvolvimento e a propagação da doença; o **Quadro 4** exemplifica vários genes já descritos na literatura com associação ao CaP (22). As alterações genéticas são múltiplas, mas as mais comuns no CaP são: superexpressão da proteína do oncogene vial homólogo à mielocitomatose aviária (Myc), perda do gene supressor de tumor da proteína fosfatase e homóloga da angiotensina (PTEN), e fusão de genes dos fatores de transcrição (18).

Além disso, há vários outros fatores que interferem ou pode interferir no risco do desenvolvimento do CaP e que a comunidade científica ainda não conseguiu comprovar estatisticamente ou não houve um consenso nos trabalhos publicados, como: a obesidade; o diabetes tipo 2; falta de atividade física; doenças sexualmente transmissíveis como sífilis e gonorréia; o fumo e ingestão de carne e produtos lácteos. Por outro lado, há relatos de fatores protetores do CaP como a ingestão de tomate e licopeno, vegetais crucíferos, produtos de soja, peixe e uso de medicamentos anti-inflamatórios não-esteroidais (2).

Quadro 4 – Genes implicados no carcinoma de próstata (CaP) hereditário, esporádico e nas possíveis fusões já relatadas

CÂNCER DE PRÓSTATA HEREDITÁRIO:		
G E N E S E N V O L V I D O S	HPC1 ou RNASEL (1q24-25): <i>é uma ribonuclease que degrada RNA celular e viral, e pode produzir apoptose em infecções virais.</i>	
	PCAP (1q42.2-43)	
	HPCX: <i>ligado ao cromossomo X(q27-28)</i>	
	CAPB: <i>localizado no 1p36, relacionado com CaP familiar de alto risco.</i>	
	HPC20: (20q13)	
	HPC2/ELAC2: 17p	
	Locus 16q23	
	HSD3B	
	MSR1: <i>responsável pela absorção celular de moléculas e produtos da parede celular bacteriana, codifica um receptor que atua nos macrófagos.</i>	
	NBR1: <i>caracterizada por instabilidade cromossômica, ↑ o risco de câncer linfático, e codifica a proteína nibrina que está envolvida no processo e reparação de DNA de dupla cadeia.</i>	
CHEK2: <i>está envolvida na regulação do p53 na via de sinalização de danos do DNA.</i>		
CÂNCER DE PRÓSTATA ESPORÁDICO:		
G E N E S E N V O L V I D O S	<ul style="list-style-type: none"> Genes supressores de tumor: são aqueles que inibem o crescimento tumoral, porém podem sofrer perda de função através de mutações, deleções, mudanças epigenéticas, metilação do promotor e modificação dos produtos de proteínas, levando ao desenvolvimento de CaP. 	
	p53: <i>proíbe a entrada do ciclo celular na fase S e promove a apoptose de células que estão desorganizadas ou com DNA danificado. No CaP está relacionado com metástases ósseas, doença andrógeno-independente, alto grau histológico, progressão clínica da doença, reduzida sobrevivência.</i>	
	PTEN: <i>supressor tumoral, há relatos que sua mutação encontra-se em 5-27% dos CaP localizado, e em 30-60% dos CaP metastático, também há relatos de não existir relação entre ele e o CaP.</i>	
	CbKN1B (p27): <i>em CaP há perda do gene em 23% de tumores localizados, em 30% das metástases com linfonodos regionais e em 47% em metástases à distância.</i>	
	MX11: <i>regulador negativo do proto-oncogene c-Myc</i>	
	NKX3.1: <i>reprime a expressão do gene do PSA e quanto mais avançado o CaP, mais ausente o gene.</i>	
	Gene do Retinoblastoma (Rb): <i>tem papel na fase G1 do ciclo celular, na regulação da apoptose das células prostáticas e em tumores de próstata.</i>	
	GSTP1: <i>previne danos oxidativos e eletrolíticos ao DNA; mostrou-se inativado no CaP</i>	
	KLf6: <i>observado em CaP de alto grau.</i>	
	CDKN2A (p16): <i>observado sua ausência em CaP metastático.</i>	
	ATFB1	
	Anexins	
	<ul style="list-style-type: none"> Oncogenes: c-MYC, c-ErbB2 (Her-2 neu), Bcl-2, PSCA, ERG e ETV1, Hepsin, PIM1, AMACR (A-Methyl Coenzime A racemase), AR (androgen receptor), CYP17, SRDSA2, CYD3A4, VDR (Vitamin-D receptor), fatores de crescimento, c-kit/tyrosine kinase receptor, STAT S. 	
	FUSÕES	TMPRSS2 com ERG/ETV1/ETV4/ETV5; SLC45A3 com ERG/ETV1/ETV5; ACSL3, HERV-K, HERV-K17, FOXP1, EST14, cromossomo 14(q13.3-14q21.1), C15orf21 e HNRPA2B1 com ETV1; KLK2, CANT1, DDX5 com ETV4.

Fonte: O autor, 2014; Mazaris et al, 2013 (22); Clark et al, 2009 (23); Smith et al, 1996 (24); Cancel-Tassin et al, 2001 (25); Berthon et al, 1998 (26); Xu et al, 1998 (27); Gibbs et al, 1999 (28); Rebbeck et al, 2000 (29); Suarez et al, 2000 (30); Chang et al, 2002 (31); Xu et al, 2002 (32); Dejager et al, 1993 (33); Demuth et al, 2004 (34); Cybulski et al, 2004 (35); Dong et al, 2003 (36); Cybulsk et al, 2004 (37);

Knudson et al, 1984 (38); Jones et al, 1999; (39); Navone et al, 1999 (40); Voeller et al, 1994 (41); Grignon et al, 1997 (42) ; Rogler et al, 2011 (43); Feilotter et al 1998 (44); Suzuki et al, 1998 (45); Wang et al, 1998 (46); Sun et al, 1999 (47); Haiman et al, 2006 (48); Xie et al, 2011 (49); Cote et al, 1998 (50); De Marzo et al, 1998 (51); Cheville et al, 1998 (52); Guo et al, 1997 (53); Kibel et al, 2000 (54); Bubendorf et al, 1999 (55); Van Den Berg et al, 1995 (56); Chen et al, 2002 (57); Bowen et al, 2000 (58); Ittmann et al, 1996 (59); Phillips et al, 1994 (60); Cooney et al, 1996 (61); Li et al, 1998 (62); Bowen et al, 2000 (63); Nelson et al, 2001 (64); Lee et al, 1994 (65); Millar et al, 1999 (66); Narla et al, 2001 (67); Chen et al, 2003 (68); Jarrard et al, 1997 (69); Yasuda et al, 1994 (70); Liu et al, 2003 (71); Xin et al, 2003 (72); Nupponen et al, 1998 (73); Sato et al, 1999 (74); Sanchez et al, 2002 (75); Signoretti et al, 2000 (76); Lara et al, 2002 (77); Calvo, et al, 2003 (78); Catz et al, 2003 (79); Tomlins et al, 2005 (80); Hermans et al, 2008 (81); Iljin et al, 2006 (82); Tomlins et al, 2006 (83); Hermans et al, 2008 (84); Helgeson et al, 2008 (85).

Diagnóstico:

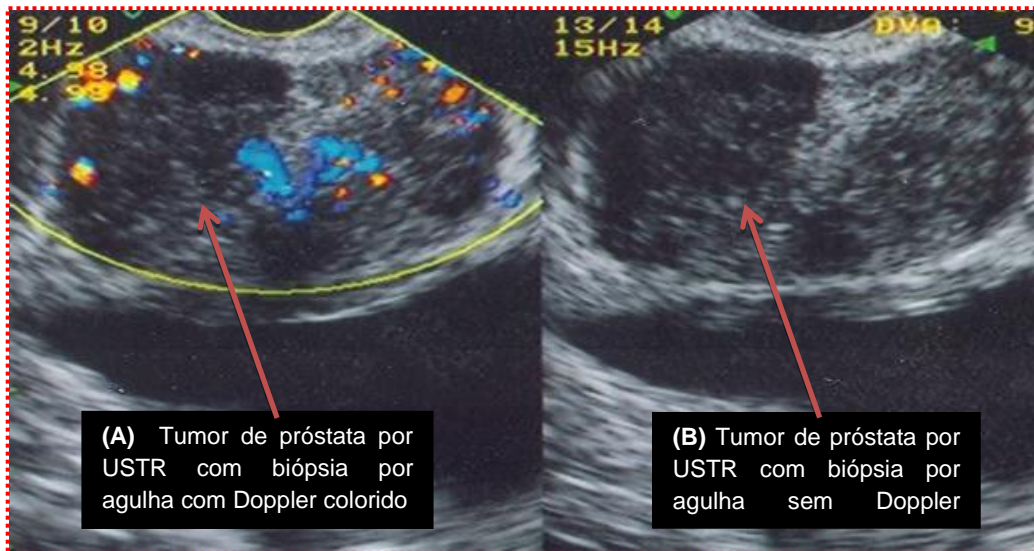
É preconizado que todos os indivíduos do sexo masculino a partir dos quarenta anos de vida devam fazer a triagem para CaP. Esses exames incluem: exame de toque retal (TR), medições do PSA tanto total como livre; e num segundo momento havendo suspeitas, a ultra-sonografia transretal (USTR) com biópsia por agulha (3).

O TR é um exame realizado pelo urologista e pode detectar tumores pequenos mesmo com PSA normal, mas apresenta sensibilidade e especificidade baixas e dependentes do estágio do tumor (3).

O PSA é uma análise bioquímica feita no soro sanguíneo para rastreamento, detecção precoce e prognóstico do CaP, e mesmo na ausência de valores elevados o câncer pode estar presente (86). Possui boa e baixa especificidade, levando a um alto número de falsos positivos (3).

A USTR é um procedimento invasivo feito a partir da zona periférica onde 75-80% dos CaP são encontrados. É retirada no mínimo uma amostra de cada região do ápice, do meio e da base, e do lado direito e esquerdo (6, 87). Como são várias amostras, podem ser encontrados tumor independentes e com graus diferentes (6, 88) . Apresenta 100% de especificidade e praticamente sem falsos positivos, mas baixa especificidade com 30% de falsos negativos, **Figuras 5 e 6 (3), (6), (89).**

Figura 5 – Imagens de tumor de próstata de um paciente por ultra-sonografia transretal (USTR) com biópsia por agulha: **(A)** com Doppler e **(B)** sem Doppler



Fonte: Dr. Silvio Adriano Cavazzola, Serviço de Ultra-sonografia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS)

Figura 6 – Indicações e preparo do paciente para realização de biópsia de próstata por agulha por ultra-sonografia transretal (USTR)


Indicações de biópsia por USTR:

- PSA \geq 4 ng/ml ou
 40 – 49 > 2.5 ng/ml
 após 70 ou + > 6.5 ng/ml
 PSA com aumento > 0,75 em um ano
- Toque retal positivo
- Re-biópsia
- Paciente com alta suspeita clínica
- PIN em biópsia prévia


Preparo para a biópsia:

- Limpeza do reto (Fleet enema)
- Antibioticoterapia
- Anestesia local


→



Pistola de biópsia



Aparelho de ultra-sonografia



Fonte: Dr. Silvio Adriano Cavazzola, Serviço de Ultra-sonografia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS)

Após a biópsia é realizado o anátomo-patológico com as devidas classificações, e a técnica de imunohistoquímica (IHQ) que também utiliza tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina, quando necessária analisa antígenos e identifica neoplasias pré-invasivas e pequenas lesões cancerígenas (6).

Como o epitélio prostático normal está organizado em uma camada dupla de células basais e luminais e de raras células neuroendócrinas; cada camada contém marcadores específicos e quando as células tornam-se tumorais, a expressão destes marcadores altera-se de forma específica também, podendo até apresentar outros marcadores característicos do tumor (18). Assim a urina, o sangue e as secreções prostáticas são vias mais fáceis de serem utilizadas na expressão de biomarcadores tumorais (6).

Tratamento:

Existem várias opções de tratamento para o CaP clinicamente localizado: vigilância ativa (AS), cirurgia (prostatectomia radical), radioterapia e braquiterapia; e as taxas de sucesso para estes tratamentos usados sozinhos ou em combinação é de até 95% na doença localizada (90), (91). Em tumores localmente avançados o tratamento pode ser curativo ou paliativo; e quando a doença já é metastática, cerca de 70-80% dos pacientes respondem inicialmente a terapia de deprivação de androgênio (ADT), porém num estágio posterior este tumor torna-se hormônio-refratário, mais agressivo, de mau prognóstico e sem tratamento curativo possível até o momento (22), (92).

A ADT é uma estratégia de tratamento por castração médica ou cirúrgica, que impede o CaP através do bloqueio dos níveis de testosterona na circulação. No entanto, sua eficácia é temporária, uma vez que o tumor via de regra progride para uma resistência à castração (86), (93).

Dentre as novas terapias de tratamento estão a terapia gênica, viral e as vacinas. No caso das doenças mais avançadas, a terapia gênica pode ser utilizada, ela compreende a introdução de material geneticamente modificado de volta ao corpo do paciente, sendo geralmente este material o ácido desoxirribonucléico (DNA); também nestes casos a terapia viral ou de vírus oncolítico é utilizada, uma vez que o vírus inserido entre as células de CaP replica e mata seletivamente somente as células tumorais, porque são incapazes de se replicarem em células normais (90), (94-96).

1.1 CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIAS:

O carcinoma de células renais (CCR) é a terceira neoplasia maligna urológica mais comum e acomete de 2 a 3% de todos os cânceres no mundo (97-99). Globalmente, a taxa de incidência varia em torno de dez vezes entre populações e áreas geográficas além de estar aumentando, como em torno de 1,7% em homens e 2,2% em mulheres, ao ano (97), (100-103). As maiores taxas são achadas na América do Norte, Europa e Austrália; e as menores na Ásia (100).

Dados estatísticos:

Nos EUA em 2010, o câncer de rim como condição maligna foi o sétimo colocado em homens e o oitavo nas mulheres, e em relação ao total dos cânceres, foi o quarto em homens e o terceiro em mulheres; neste mesmo ano, mais de treze mil mortes ocorreram por esta patologia, tornando-se a décima neoplasia maligna mais comum em morte nos homens americanos (100), (104). A taxa de incidência nos EUA é um pouco maior entre negros do que brancos, e entre homens do que mulheres. Costumam aparecer entre a sexta e sétima década de vida (100). Um dado interessante é que nos EUA o aumento das taxas se deve ao aumento da incidência de CCR localizado, porque os de propagação regional permaneceram inalterados; de acordo com dezessete registros do Banco de Dados do Surveillance Epidemiology and End Results (SEER), entre 1988 e 2006, as taxas de mortalidade por CCR localizado aumentaram 3,16%, enquanto que as taxas de CCR com extensão regional e distante diminuíram 0,46% e 0,53%, respectivamente (100), (105).

Na Europa Central e Oriental as taxas de incidência anual de câncer de rim apresentaram um aumento de 2%, já em alguns países como Suécia, Dinamarca e do Norte da Europa, com exceção do Reino Unido, houve diminuição ou estabilização das taxas (100), (106), (107).

No Brasil estima-se que tumores do parênquima renal tenham uma incidência de 7 a 10 casos/100.000 habitantes/ano (5).

Etiologia:

A etiologia na maioria das vezes não se conhece. Cerca de 2 à 4% deles é de origem hereditária, e através de avaliações genéticas pode-se identificar portadores

de alto risco, como os indivíduos em estágio avançado da doença renal crônica (DRC) e também aqueles em diálise a longo prazo (108).

Histopatologia e classificação:

O câncer de rim nos adultos consiste de tumores malignos derivados do parênquima renal que correspondem a 2-3 % de todas as neoplasias malignas ou do sistema excretor/pelve renal, sendo que este último compreende menos que 10 % dos casos de carcinomas renais (109).

O CCR compreende cinco subtipos histológicos diferentes, de acordo com suas características morfológicas e citogenéticas: o de células claras (compreendendo de 75 a 90% dos casos), o papilar (10 – 15%), o cromóforo (5 – 10%), o carcinoma de ducto coletor (1%) e os subtipos não classificados por serem menos comuns, como os sarcomatóides (1%), neoplasias de células de transição e nefroblastoma ou Tumor de Wilms, que é um tumor da infância e compreende cerca de 1,1% dos casos (98), (109-112). Os oncocitomas, que são benignos, compreendem cerca de 3 a 7% dos casos, e tem-se sugerido excluí-los da classificação como CCR (108).

O CCR de células claras pode ser esporádico (mais que 96%) ou familiar (menos que 4%) (108), (113). No esporádico, a média de idade é de 61 anos e, geralmente, se apresenta como um tumor solitário com vários centímetros de diâmetro. A alteração mais comum é a deleção ou inativação do gene supressor da síndrome de Von Hippel Lindau ou VHL, o qual é responsável por pelo menos 50% dos CCR de células claras esporádicos quando o gene sofre mutações somáticas, enquanto que nas metilações é responsável por cerca de 10 – 20% (100), (108), (114-116) No CCR familiar, quase todos os tumores surgem a partir de uma mutação herdada no gene supressor de tumor VHL; os pacientes apresentam cistos nos rins, e em média com 37 anos pode aparecer CCR bilateral múltiplo (108), (114), (117).

O CCR papilar, de acordo com a morfologia, pode ser dividido em: tipo 1 que é menos comum, de menor grau e estágio e com maior sobrevida; e o tipo 2 que é mais frequente e de grau nuclear maior (108), (118-121).

Um mesmo rim pode apresentar diferentes tumores com diferentes tipos de células, e as análises morfológicas e de imunohistoquímica, bem como as análises genéticas e moleculares são utilizadas para a classificação desses tumores, embora de 3 à 5% deles não sejam classificados. Os CCR originam-se de uma variedade de células especializadas localizadas ao longo de todo néfron. As células claras e papilares

surgem do epitélio do túbulo proximal; o cromóforo, o do ducto coletor e o oncocitoma surgem do néfron distal, a partir do epitélio do túbulo coletor (108).

A presença de metástases em pacientes com CCR está associada a uma mortalidade de 90%. (122), (123). A metastatização é um mecanismo que apresenta várias etapas: primeiro as células do tumor invadem a matriz extracelular da célula (ECM) para acessar o fluxo sanguíneo, após isso extravasa para locais distantes onde é formado tumores secundários (122).

O CCR apresenta um prognóstico muito variável: tumores renais pequenos podem nunca precisarem ser removidos, enquanto os de alto grau, além de serem removidos, podem apresentar recidiva de até 50% (112).

O sistema de estadiamento do CCR e a Classificação TNM definem a extensão local do tumor primário (T), o envolvimento dos linfonodos regionais (N) e se há presença de metástases à distância (M), especificado no **Quadro 5** (108).

A diferenciação histológica (Grau histológico de Fuhrman) descrita **Quadro 6**, varia de I à IV e é importante porque quanto maior o grau, mais agressivo é o tumor (112). Ela se correlaciona com o tipo histológico de células claras, e menos frequentemente com os tumores papilares (o papilar é diferenciado em tipo 1 e tipo 2). Os tumores cromóforos são geralmente de baixo grau, e os oncocitomas não são classificados por Fuhrman (108).

Quadro 5: Classificação Clínica do carcinoma de células renais (CCR)

T – Tumor Primário
<p>TX Tumor primário não pode ser avaliado</p> <p>T0 Não há evidência de tumor primário</p> <p>T1 Tumor com 7 cm ou menos em sua maior dimensão, limitado ao rim</p> <p> T1a Tumor com 4 cm ou menos</p> <p> T1b Tumor com mais de 4 cm até 7 cm</p> <p>T2 Tumor com mais de 7 cm em sua maior dimensão, limitado ao rim</p> <p>T3 Tumor que se estende às grandes veias ou que invade diretamente a suprarrenal ou os tecidos perirrenais, porém aquém da Fáschia de Gerota.</p> <p> T3a Tumor que invade diretamente a suprarrenal ou os tecidos perirrenais¹, porém aquém da Fáschia de Gerota.</p> <p> T3b Extensão macroscópica do tumor à(s) veia(s)² renal(is) ou à veia cava, ou à sua parede, abaixo do diafragma.</p> <p> T3c Extensão macroscópica do tumor à veia cava, ou à sua parede, acima do diafragma.</p> <p>T4 Tumor que invade diretamente além da fáschia de Gerota (inclusive extensão contígua à suprarrenal ipsilateral).</p>
N – Linfonodos Regionais
<p>NX Os linfonodos regionais não podem ser avaliados</p> <p>N0 Ausência de metástases em linfonodo regional</p> <p>N1 Metástase em um único linfonodo regional</p> <p>N2 Metástase em mais de um linfonodo regional</p>
M – Metástase à Distância
<p>MX A presença de metástase à distância não pode ser avaliada.</p> <p>M0 Ausência de metástase à distância</p> <p>M1 Metástase à distância</p>
<p>Notas: 1- Inclui a gordura da cavidade renal (peripélvica)</p> <p> 2-Inclui ramificação segmentar (músculo-contido)</p>

Fonte: Adaptado de Ljungberg, et al, 2009 (124).

Quadro 6: Graduação histológica segundo Fuhrman

GRAU	CARACTERÍSTICAS
I	Núcleo arredondado e uniforme, com cerca de 10µm de diâmetro e nucléolo ausente/pequeno
II	Núcleo levemente irregular, com diâmetro de 15µm e nucléolo visível, mas pequeno
III	Núcleo moderadamente irregular, com diâmetro de 20µm e nucléolo grande
IV	Núcleo acentuadamente irregular/ pleomórfico e formas multilobulares, com cromatina agrupada e diâmetro maior que 20µm.

Fonte: . www.sbu.com.br (112).

Fatores de risco/epidemiológicos e vias de sinalização:

De acordo com o International Agency for Research on Cancer (IARC) e o Union States Surgeon General (USSG) existem evidências suficientes que define o tabagismo como uma causa de CCR (100), (109), (125), (129). Os cigarros apresentam vários compostos cancerígenos como: hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, aminas aromáticas, aminas heterocíclicas e N-nitrosaminas, sendo que todos eles podem iniciar ou promover o desenvolvimento de tumor em animais (100). Comparado a indivíduos que nunca fumaram, um homem e uma mulher fumantes apresentam um risco aumentado de desenvolver câncer de rim em 50 e 20%, respectivamente (109), (126). Acredita-se que o mecanismo seria através da hipóxia do tecido devido à exposição ao monóxido de carbono e condições relacionadas ao tabagismo como a doença pulmonar obstrutiva crônica (109), (127). O sobrepeso e a obesidade também são fatores de risco bem estabelecidos para CCR, eles provocam um aumento da circunferência abdominal e levam a alterações metabólicas e a vários distúrbios endócrinos importantes. O excesso de peso representa mais de 40% dos casos de câncer de células renais nos EUA e mais de 30% na Europa (100), (109), (128), (129). Os mecanismos ainda não são bem

conhecidos, mas acredita-se que a elevação dos hormônios sexuais esteróides podem afetar a proliferação das células renais e o crescimento através dos efeitos endócrinos diretos na regulação dos receptores e na disponibilidade dos fatores de crescimento semelhantes à insulina, além de hipóxia tecidual crônica, resistência à insulina, hiperinsulinemia compensatória, alterações endócrinas e produção de adipocinas, resposta inflamatória induzida pela obesidade, peroxidação lipídica, estresse, hipertensão, e arterionefroesclerose (100), (109), (110), (130-134).

A hipertensão, uma importante doença crônica que afeta entre 20 e 40% da população no mundo, já mostrou evidências de causar tumores renais, provavelmente, por induzir hipóxia renal crônica e peroxidação lipídica com formação de espécies reativas de oxigênio (109), (127), (135).

A ingestão de carne e dos produtos liberados durante o preparo deste alimento, como aminas heterocíclicas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, carnes curadas com nitritos e nitratos, pode levar a um processo de carcinogênese renal (100), (136), (137).

Várias situações estudadas ainda não foram confirmadas, como: infecção crônica por hepatite C; uso de analgésicos, como fenacetina e paracetamol; contraceptivos orais; terapia hormonal; histerectomia; diabetes; ingestão de alimentos como chás, cafés, gorduras, bebidas (100).

Um aumento do risco de câncer renal também tem sido associado com mulheres que já tiveram filhos, e o risco chega a ser de 40 à 90% em relação a mulheres nulíparas; aquelas com múltiplos partos tem maior risco. Isso pode estar relacionado à hipertensão induzida pela gravidez e ao estresse renal (109), (138-142).

Este tumor não é considerado uma doença ocupacional, mas alguns agentes industriais estão sendo correlacionados como: amianto, gasolina, produtos do petróleo, benzeno, solventes clorados, corantes, cádmio, chumbo e outros (109). Em altas doses, estas substâncias podem levar a um dano epitelial no túbulo renal proximal e também pode haver uma transição do nucleotídeo C para T no códon 81 do gene VHL (110), (143).

Doenças genéticas também estão associadas com o CCR como: a Síndrome de Von Hippel-Lindau (VHL), específica de CCR de células claras localizado no cromossomo 3p; o carcinoma papilar renal hereditário (HPRC); Síndrome Birt-Hogg-Dube (BHD), além do CCR leiomiomatose hereditário, translocação do cromossomo 3 e esclerose tuberosa 1 (TCS1) e 2 (TCS2) (100), (108), (144), (145).

A síndrome de VHL é multi-sistêmica e de herança dominante, podendo incluir tumores em vários órgãos além dos rins (100), (146). Os portadores de VHL tem um risco de apresentar mais de 600 tumores renais e 1.100 cistos por rim, que só depois de atingirem 3cm são removidos por cirurgia por nefrectomia parcial e cerca de 35-45% dos acometidos morrem de CCR metastático (147-149). O VHL é inativado por várias vias e isso aumenta a expressão de fatores angiogênicos como o fator de crescimento endotelial vascular que promove o crescimento e a promoção do tumor (150). O gene do VHL codifica uma proteína, a proteína supressora do tumor VHL (pVHL), que está envolvida na ubiquitinação e degradação do fator de transcrição induzível de hipóxia (HIF) que tem um papel central na regulação da expressão gênica da via de sensor do oxigênio; assim na inativação de VHL e ausência de pVHL, ocorre uma ativação da via hipóxia através do HIF tipo 1 (HIF 1) e tipo 2 (HIF 2) que induz a expressão de vários genes que estão envolvidos na resposta à hipóxia, na regulação da angiogênese, crescimento celular ou sobrevivência celular e outras vias de sinalização envolvendo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), **Figura 7** (100), (108), (116), (151), (152).

O HPRCC apresenta uma herança autossômica dominante com tumores multifocais e bilaterais, que pode ser causado por uma mutação na linha germinativa do proto-oncogene receptor de tirosina quinase (MET) no cromossomo 7q (CCR papilar tipo 1), ou perda das funções na mutação do gene fumarato hidratase (CCR papilar tipo 2), ou trissomias dos cromossomos 7, 16, 17 e perda do cromossomo Y, **Figura 8** (100), (108), (153).

A síndrome BHD é hereditária, caracterizada pela perda da função deste gene que ocasiona desenvolvimento de lesões benignas cutâneas (fibrofoliomas), cistos no pulmão e tumores renais como CCR de células claras, oncocíticos e oncocitomas, **Figura 9** (100), (114), (116), (147), (150), (154).

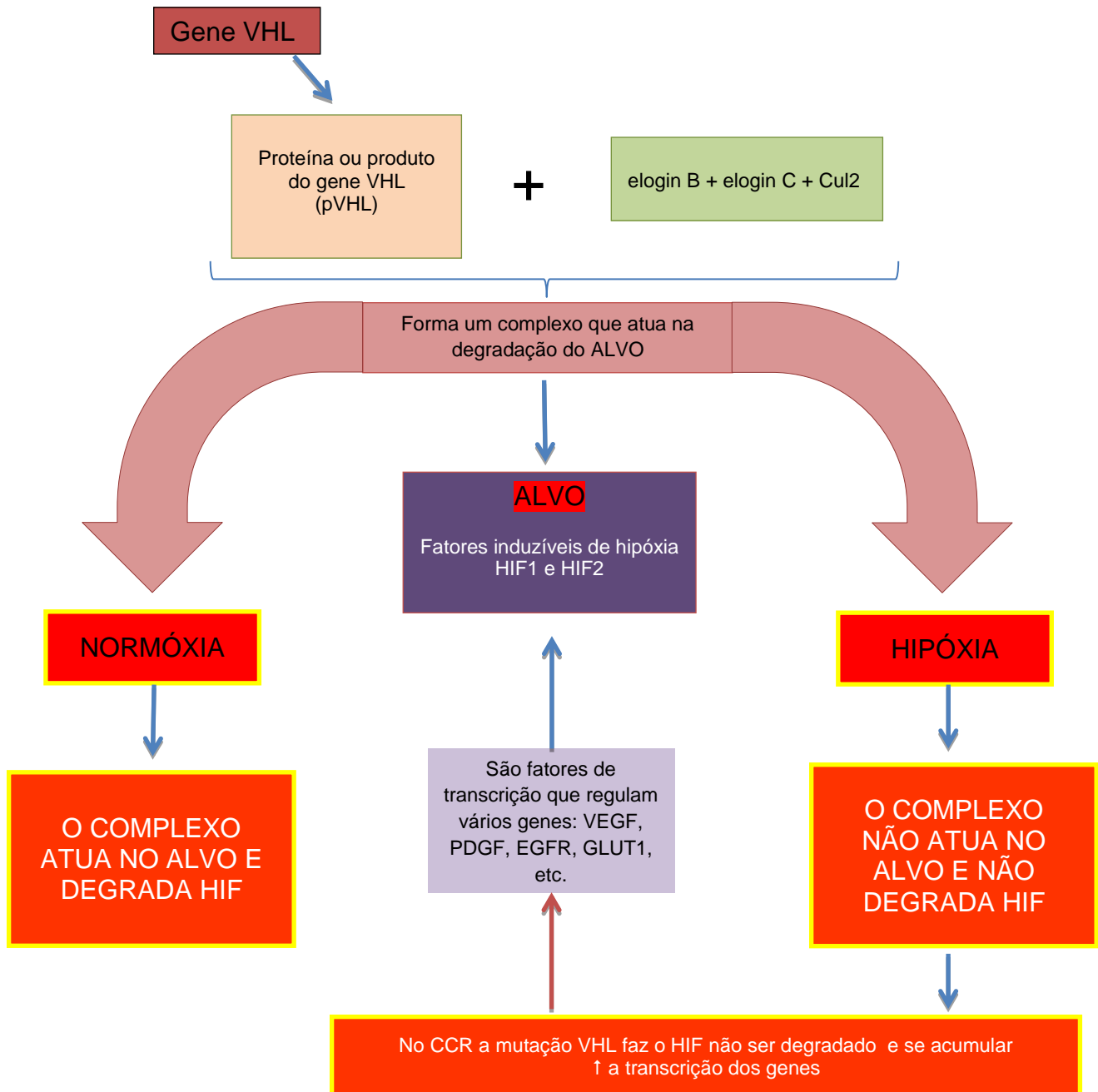
A leiomiomatose de CCR hereditário (LHCCR) é uma doença em que os indivíduos têm risco de desenvolver leiomiomas uterinos e cutâneos e tumores de rim do tipo agressivo, **Figura 10** (147), (155).

A esclerose tuberosa é uma doença dominante que pode apresentar problemas a nível neurológico, pulmonar, dermatológico e angioliomas renais, **Figura 11** (147), (156).

Estudos também identificaram uma redução nos riscos de CCR com o aumento da atividade física que reduz o peso corporal e a pressão arterial, melhora a

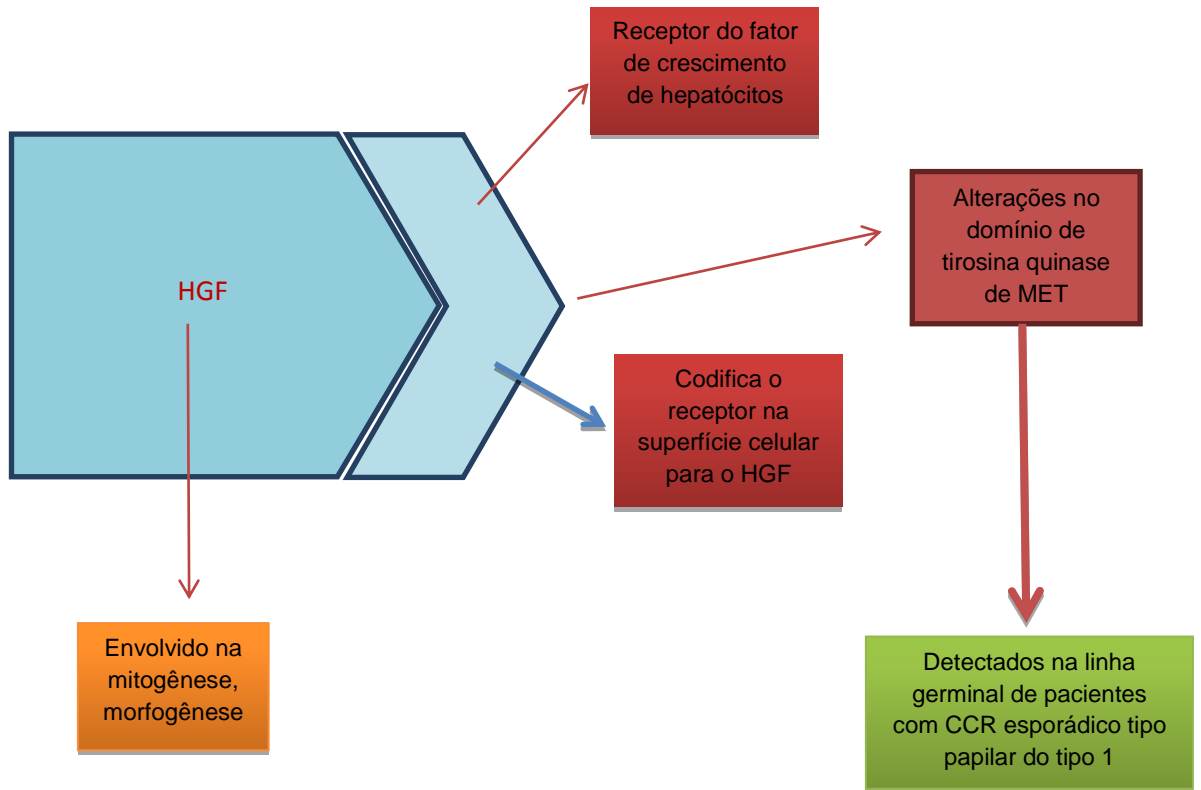
sensibilidade à insulina e reduz a inflamação crônica e o estresse oxidativo (109), (157-162).

Figura 7 – Via do gene da Síndrome Von Hippel-Lindau (VHL)



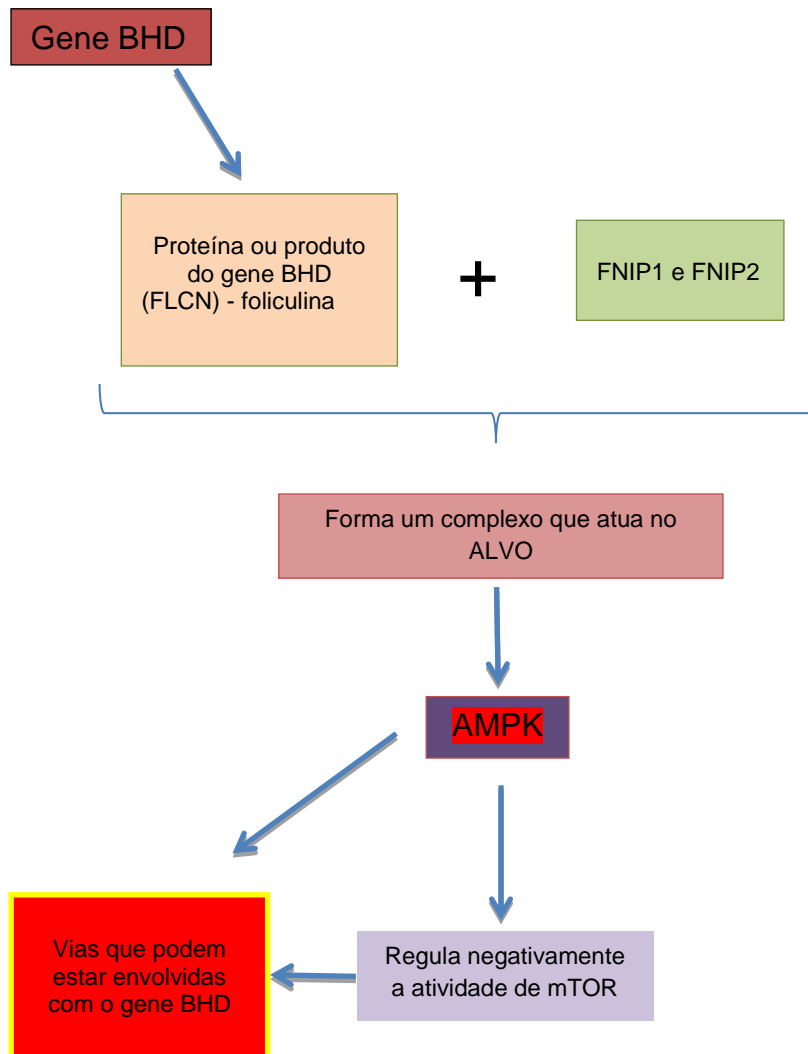
Fonte: O autor, 2014; Linehan et al, 2010 (147), Jaakkola et al, 2001 (163), Kamura et al, 1999 (164), Maxwell et al, 1999 (165), Ohh et al, 2000 (166), Ohh et al, 1999 (167), Stebbins et al, 1999 (168).

Figura 8 – Via do MET no carcinoma renal papilar hereditário (HPRC)



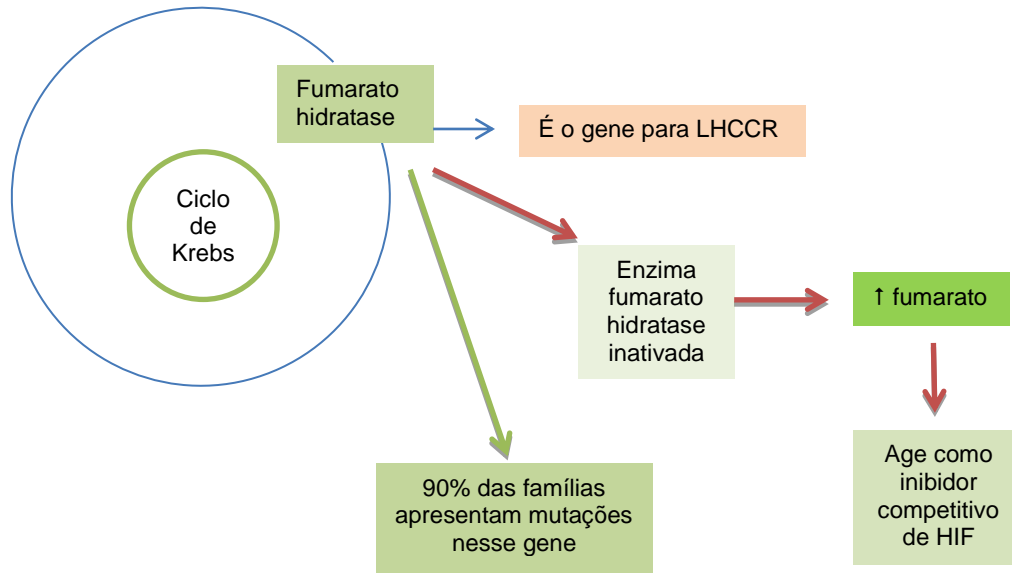
Fonte: O autor, 2014; Linehan et al, 2010 (169), Peruzzi et al, 2006 (170), Schmidt et al, 1997 (171), Schmidt et al, 1999 (172).

Figura 9 – Via do gene da Síndrome Birt-Hogg-Dube (BHD)



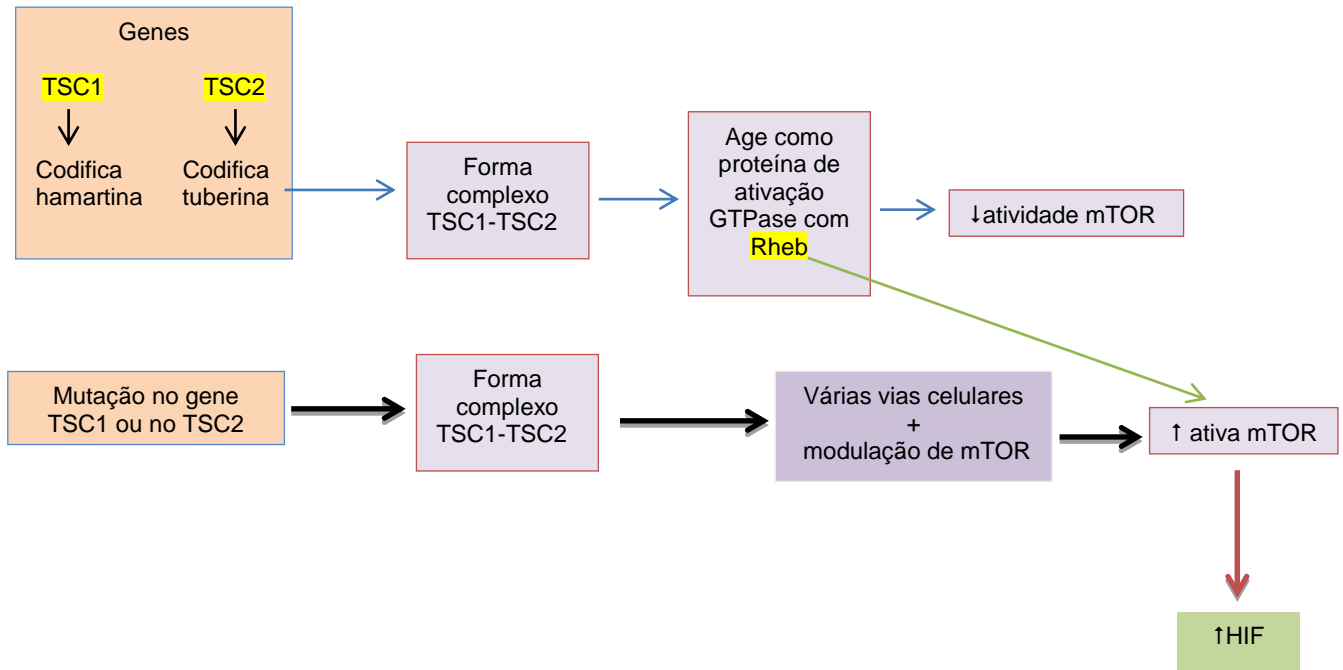
Fonte: O autor, 2014; Linehan et al, 2010 (147), Baba et al, 2006 (173), Hasumi et al, 2008 (174).

Figura 10 – Via do gene fumarato hidratase na leiomiomatose de carcinoma de células renais hereditário (LHCCR)



Fonte: O autor, 2014; Linehan et al, 2010 (147), Tomlinson et al, 2002 (175), Toro et al, 2003 (176), Wei et al, 2006 (177).

Figura 11 – Via dos genes da esclerose tuberosa (TSC) 1 e 2



Fonte: O autor, 2014; Crino et al, 2006 (156), Linehan et al, 2010 (169).

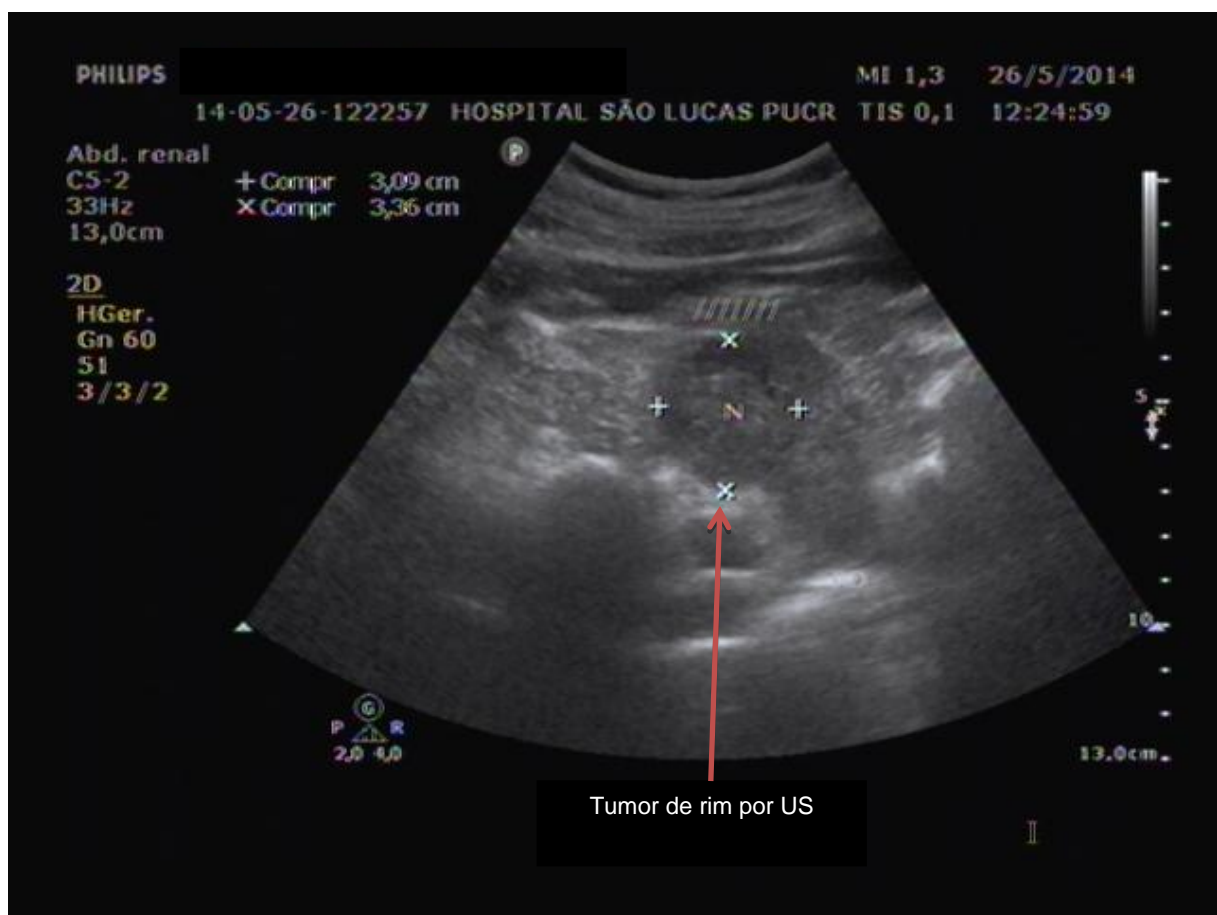
Diagnóstico:

Como as manifestações clínicas são variadas, apenas 10% dos pacientes apresentam a tríade clássica: hematuria, dor no flanco e massa abdominal palpável; e 40% ou mais não apresentam nenhum desses sintomas (108), (178). É estimado que mais de 60% dos CCR são detectados incidentalmente e um terço deles já apresentam doença localmente avançada ou metastática, e dos que estão no estágio precoce da doença (T1 – T2) e fazem ressecção cirúrgica, um terço tem recorrência (108). Pacientes com metástases (T4) tem uma média de sobrevida de 13 meses, e a taxa de sobrevida em cinco anos é de 10% (108), (179).

Ainda não se utiliza nenhum marcador tumoral para o diagnóstico do CCR. Somente quando começam a aparecer dados clínicos no paciente, como hematuria e dor

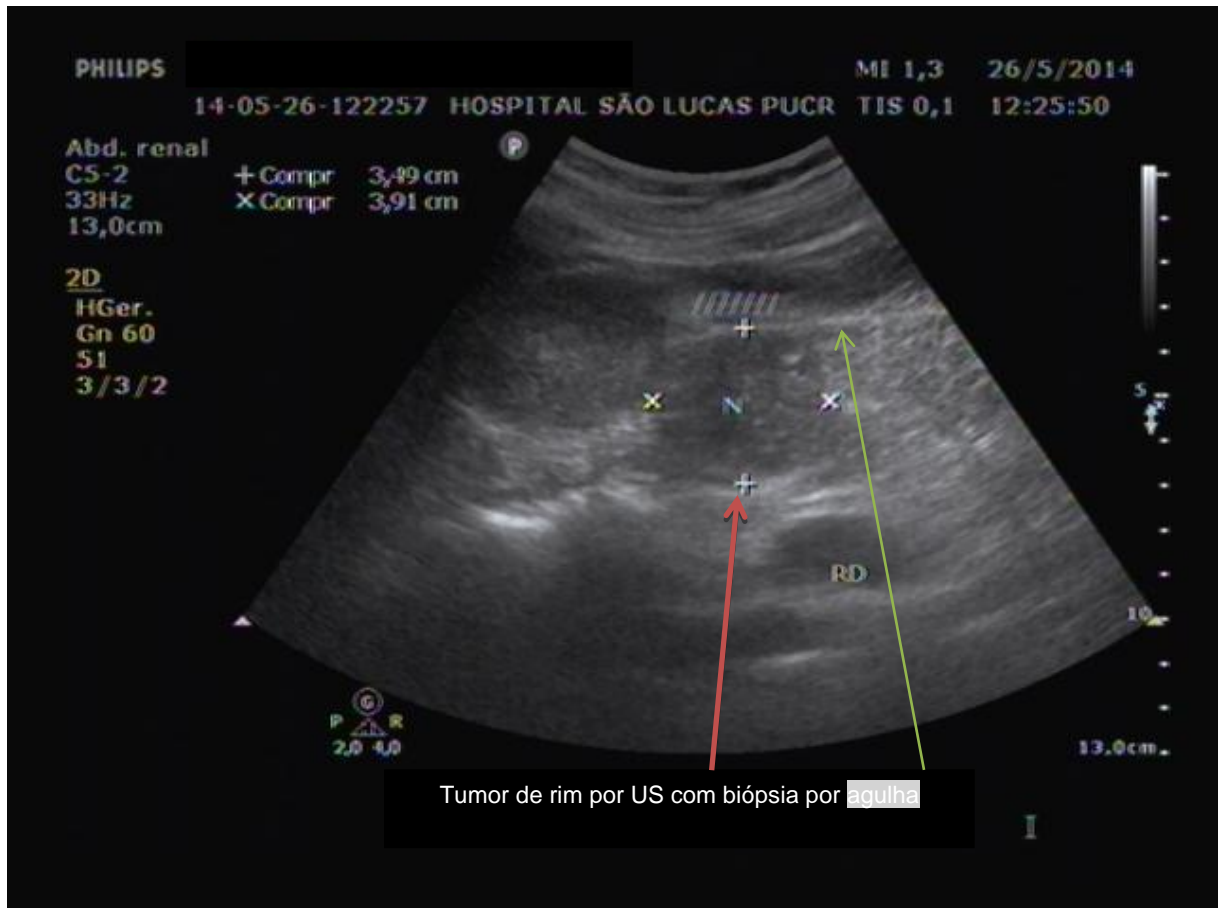
abdominal é que o paciente é investigado. A realização de exames como a Ultra-sonografia (US) na **Figura 12** e a biópsia renal na **Figura 13** com o anátomo-patológico, conferem um diagnóstico adequado, mas nem sempre a biópsia é realizada antes do tratamento. A tomografia computadorizada e a ressonância nuclear magnética fornecem dados adicionais que facilitam o planejamento terapêutico.

Figura 12 – Imagem de tumor de rim por Ultra-sonografia (US)



Fonte: Dr. Silvio Adriano Cavazzola, Serviço de Ultra-sonografia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS)

Figura 13 – Imagem de tumor de rim por Ultra-sonografia (US) com biópsia por agulha



Fonte: Dr. Silvio Adriano Cavazzola, Serviço de Ultra-sonografia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (HSL-PUCRS)

Tratamento:

Pacientes com tumores herdados ou esporádicos geralmente apresentam as mesmas condutas terapêuticas. A cirurgia ou tratamentos ablativos são as únicas formas de tratamento potencialmente curativo do câncer renal. A cirurgia ou a ablação são feitas como meio de evitar risco de desenvolvimento de metástases. Em tumores pequenos existe a alternativa de acompanhamento, visto que raramente há o surgimento de lesões metastáticas em lesões menores do que 3 cm de diâmetro. Para pacientes com LHCCR que desenvolvem cânceres renais papilares agressivos do tipo 2, a vigilância não é recomendada, e sim intervenção cirúrgica precoce (147).

Várias drogas são utilizadas nos tratamentos paliativos, tendo como alvo a atuação dos medicamentos em vários genes ou receptores ou domínios de receptores responsáveis pelo tumor de rim, inibindo sua ação e promovendo a inibição do tumor, porém raramente estes tratamentos prolongarão sobrevida ou fornecerão respostas completas ou cura.

1.3 BIOSÍNTESE DE NUCLEOTÍDEOS:

Um nucleosídeo é composto por uma base + açúcar, e um nucleotídeo é composto por uma base + açúcar + grupamento(s) fosfato(s). As bases podem ser do grupo das pirimidinas (uracila, citosina, timina) ou do grupo das purinas (adenina e guanina). Quando o açúcar utilizado é β -D-ribose, forma o ácido ribonucleico (RNA), e quando o açúcar é β -D-2-desoxirribose, forma o ácido desoxirribonucleico (DNA). Os ácidos nucleicos são subunidades dos nucleotídeos ligados por ligações fosfodiéster. Como os nucleosídeos e os nucleotídeos são denominados segundo a base que possuem, se utiliza abreviatura de uma só letra para abreviar apenas a base ou o nucleosídeo ou o nucleotídeo, **Quadro 7** (180).

Quadro 7 – Nomenclatura e abreviação das bases dos ácidos nucleicos

BASE	NUCLEOSÍDEO	ABREVIÇÃO
adenina	adenosina	A
guanina	guanosina	G
citosina	citidina	C
uracila	uridina	U
timina	timidina	T

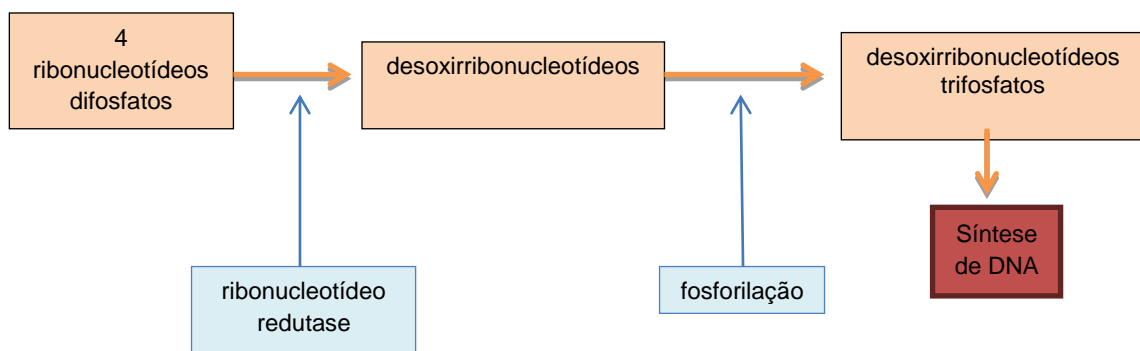
Fonte: Adaptado de Alberts et al, 2010 (180).

Para que o DNA seja fidedignamente sintetizado, os desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dNTPs) devem estar organizados de forma correta e sem alterações, porque isto pode afetar a estabilidade genética do DNA (181-183).

Os dNTP são regulados por duas vias:

- A síntese *de novo* (citossólica): que é responsável pela maior parte da síntese durante a fase de síntese (S) do ciclo celular, embora atue em todas, e utiliza a enzima ribonucleotídeo-reductase para catalisar a reação de redução, **Figura 14** (181).
- A via de salvamento: onde atuam várias enzimas que são diferentemente expressas em diferentes tipos de células e tumores (181), (184).

Figura 14 – Síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA), a partir de 4 ribonucleotídeos difosfatos pela síntese *de novo*



Fonte: O autor, 2014; Rampazzo et al, 2010 (181).

1.3.1 ENZIMA TIMIDINA FOSFORILASE:

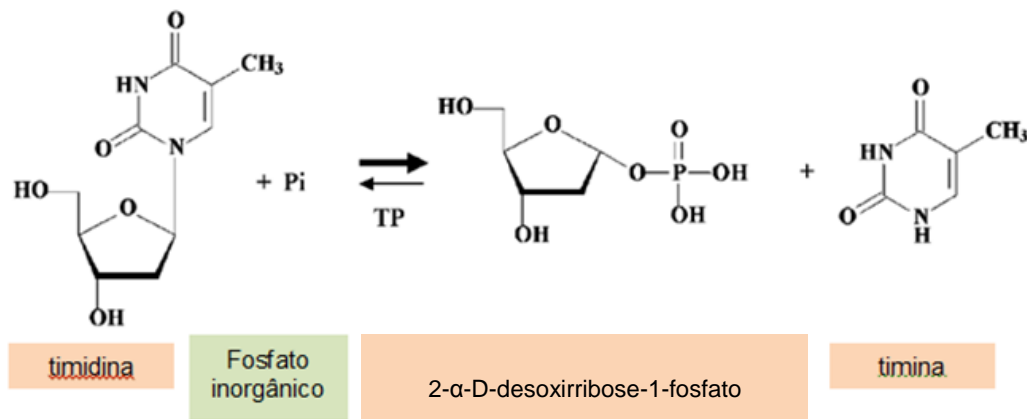
A timidina fosforilase (TP) é uma enzima chave na via de salvamento das pirimidinas, recupera nucleosídeos de pirimidina que são formados durante a degradação de RNA ou DNA (185), (186). Com um peso molecular de 55 KDa, ela catalisa a conversão reversível de timidina, 2`-desoxiuridina e seus análogos às suas respectivas bases e 2- α - D-desoxirribose-1-fosfato, **Figura 15** (186-189).

A função mais importante desta enzima no entanto, é a sua atividade de desoxirribosil transferase, em que o radical desoxirribosil é transferido de um

nucleosídeo pirimidina a uma outra base pirimidina, resultando na formação de um novo nucleosídeo pirimidina, **Figura 16** (185), (190).

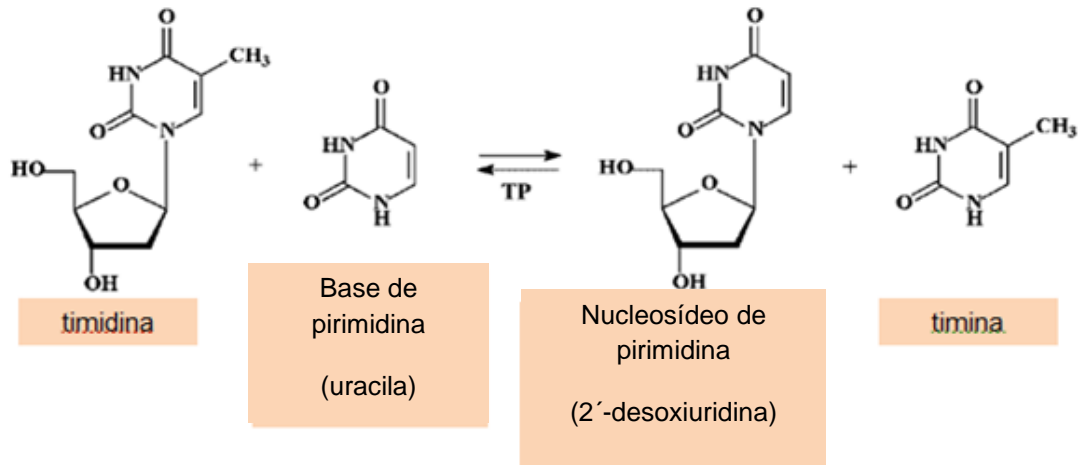
A TP durante a conversão de timidina, produz um produto de degradação a 2-D-desoxirribose (d-Drib) que também promove a migração, invasão e sobrevivência das células tumorais sob condições de hipóxia **Figura 17** (187), (191-193).

Figura 15 – Conversão de timidina à timina e 2- α -D-desoxirribose-1-fosfato, pela enzima timidina fosforilase (TP)



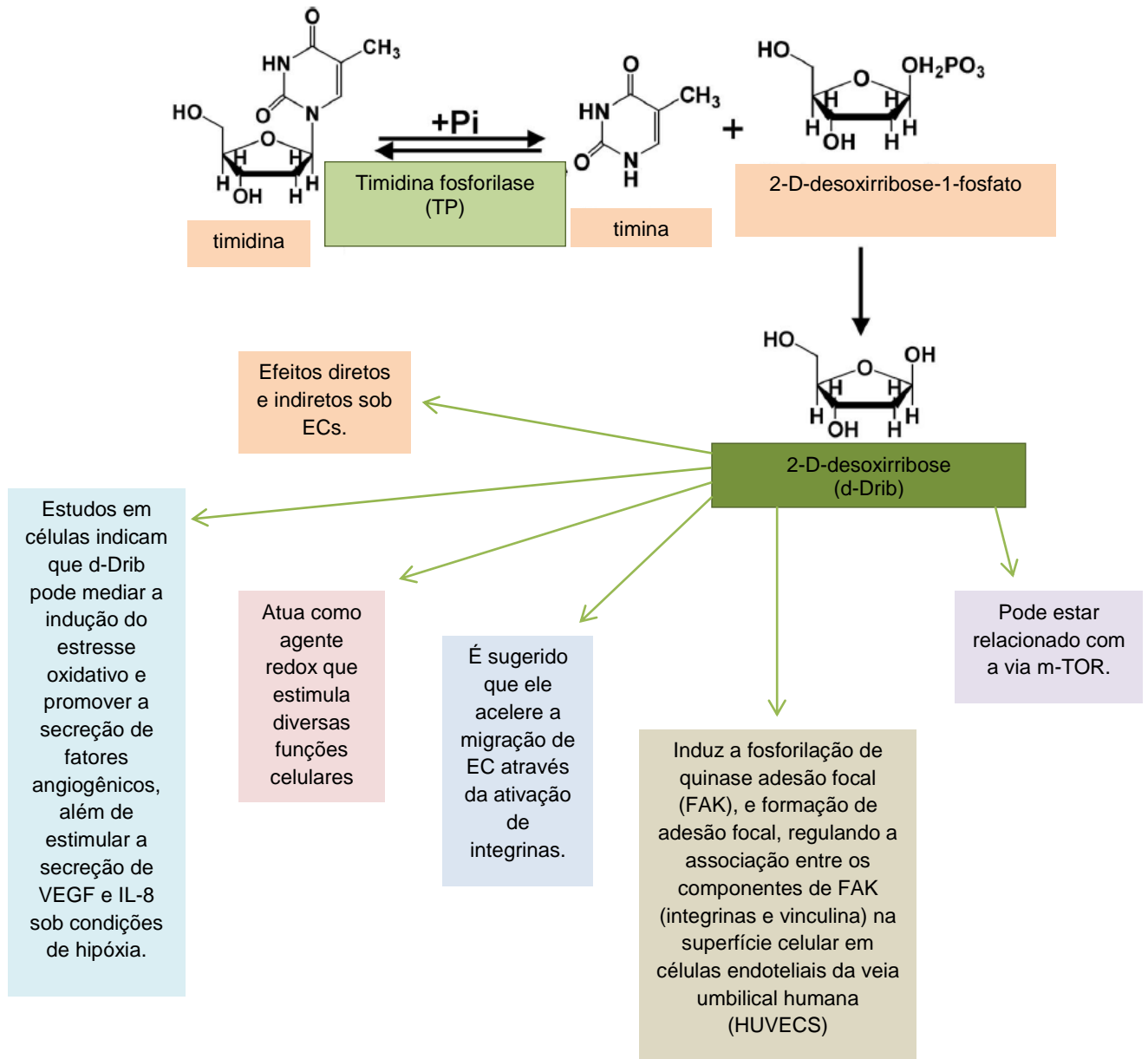
Fonte: Adaptado de Bronckaers et al, 2009 (185), Iltzsch et al, 1995 (194).

Figura 16 – Exemplo da atividade desoxirribosil transferase da enzima timidina fosforilase (TP), através da conversão reversível de timidina à timina e 2'-desoxiuridina



Fonte: Adaptado de Bronckaers et al, 2009 (185) , Schwartz et al, 1971 (190).

Figura 17 – Mecanismo de formação de 2-D-desoxirribose (d-Drib) e suas possíveis atuações

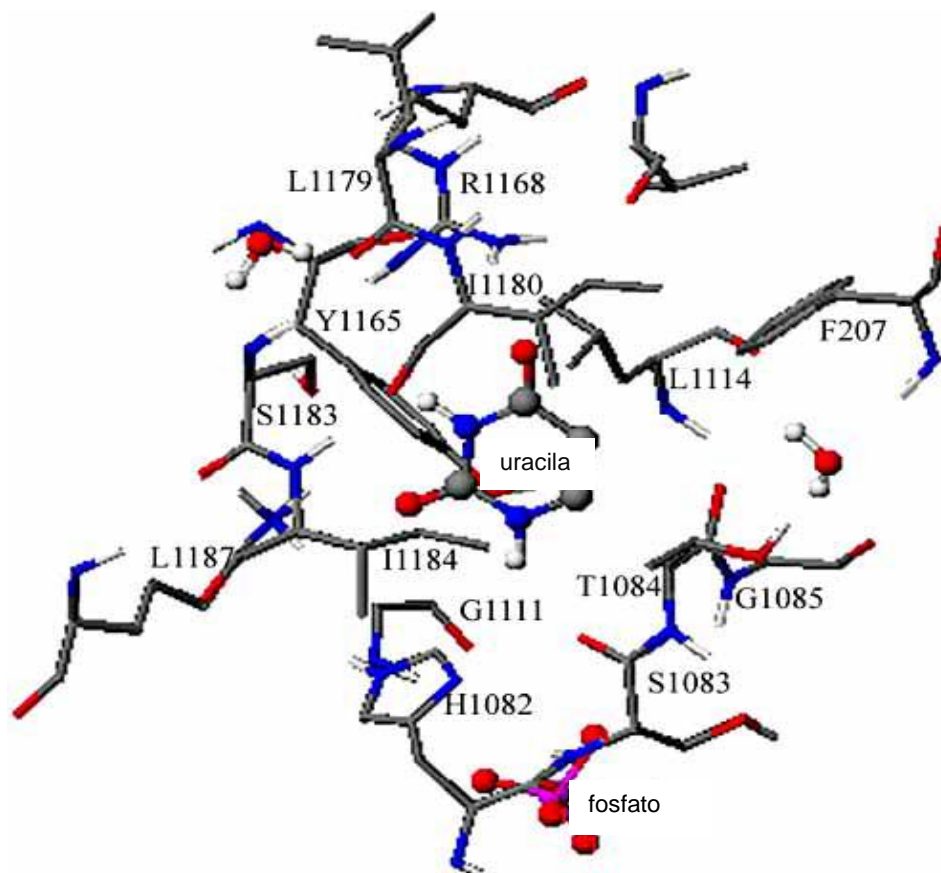


Fonte: O autor, 2014; Nakajima et al, 2009 (186); Brown et al, 2000 (195); Hotchkiss et al, 2003 (196)

As enzimas timidina fosforilase são estruturas cristalinas que apresentam dois sítios ativos de ligação que ligam-se a diferentes substratos, a presença de diferentes

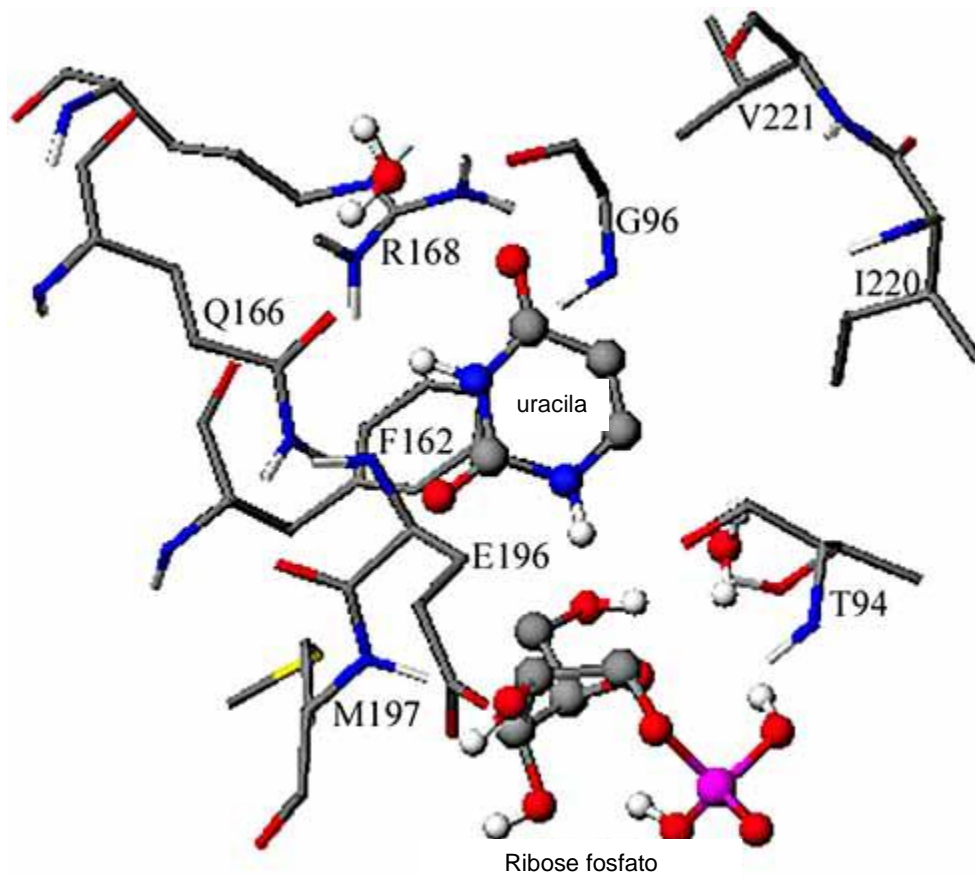
resíduos de aminoácidos (AA) nestes sítios ativos mostra a flexibilidade que tem os núcleos desta enzima. A **Figura 18** exemplifica os substratos uracila e fosfato; e a **Figura 19** exemplifica os substratos uracila e desoxirribose fosfato. A porção uracila em ambas as estruturas está presente no sítio maior/superior e a porção fosfato está presente no sítio menor/inferior. Durante a fase ativa da enzima, os dois sítios da mesma molécula se aproximam e a unidade de fosfato é transferida para à ribose do nucleosídeo que cliva a ligação pirimidina-ribose, **Figura 20**. A TP também apresenta inibidores que são, principalmente, os análogos dos seus substratos e que causam uma supressão substancial do crescimento do tumor por inibição da angiogênese (197-200).

Figura 18 – Enzima timidina fosforilase (TP) com o substrato uracila ligado ao sítio superior, e o substrato fosfato ligado ao sítio menor



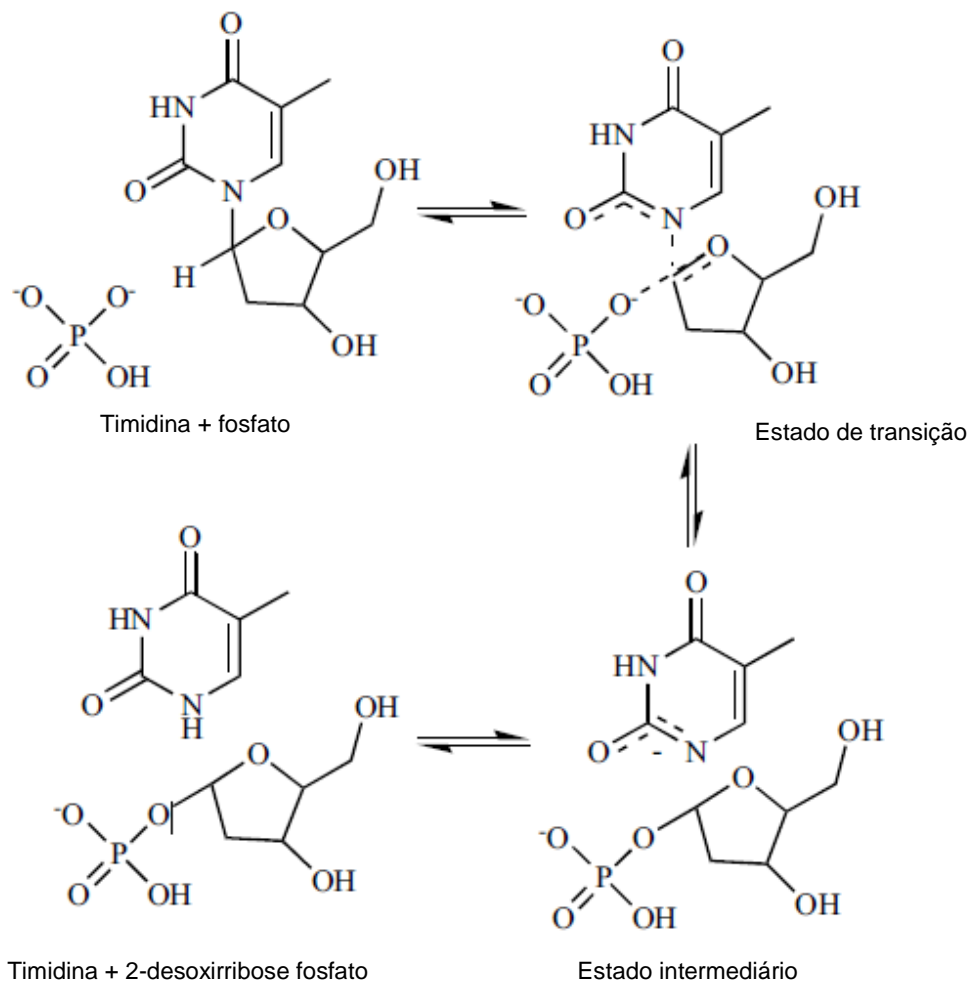
Fonte: Adaptado Singh et al, 2008 (197).

Figura 19 – Enzima timidina fosforilase (TP) com o substrato uracila ligado ao sítio superior, e o substrato desoxirribose fosfato ligado ao sítio menor



Fonte: Adaptado Singh et al, 2008 (197).

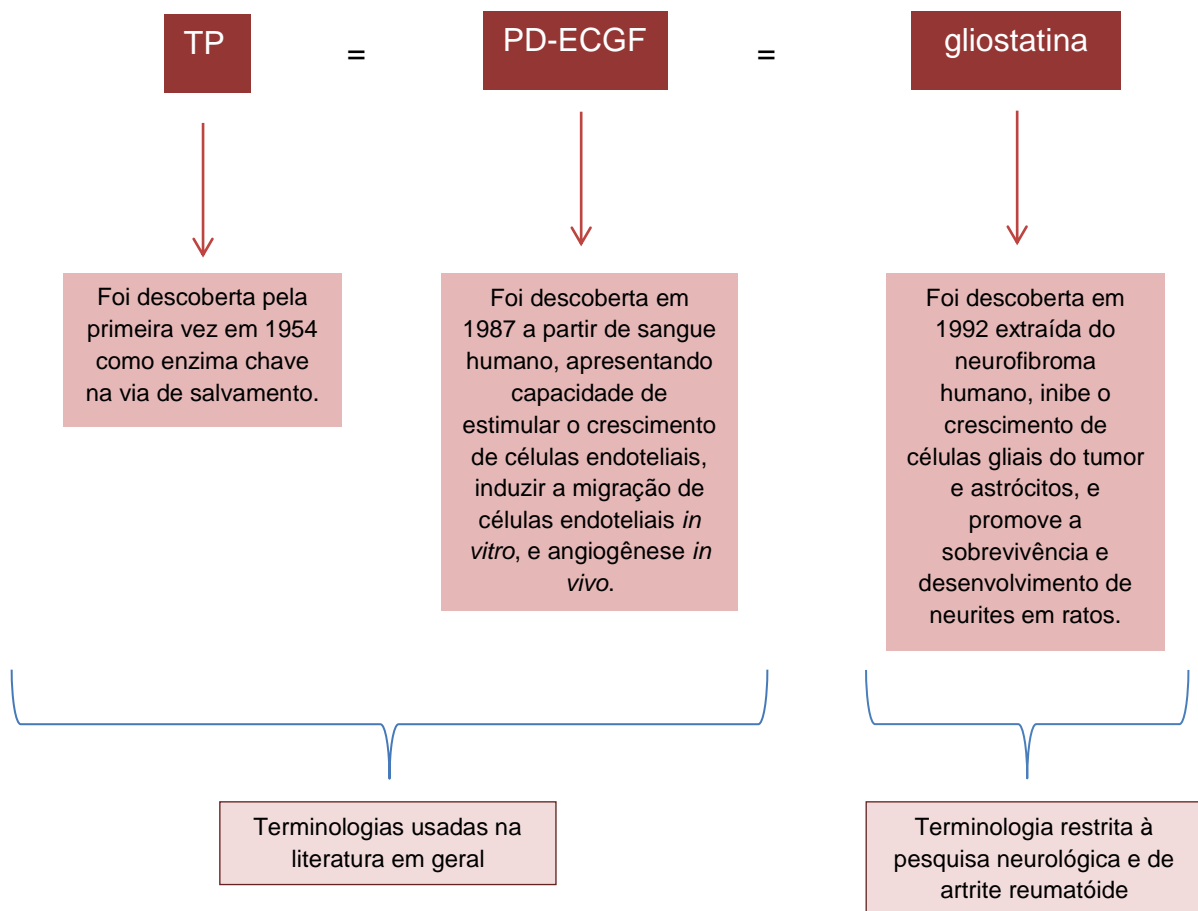
Figura 20 – Mecanismo de ação da enzima timidina fosforilase (TP) com os substratos timidina e fosfato



Fonte: Adaptado Singh et al, 2008 (197); Norman et al, 2004 (198).

Análise de sequência de AA mostrou que timidina fosforilase, o fator de crescimento de células endoteliais derivado de plaquetas (PD-ECGF), e gliostatina são todos idênticos. Cada um foi descoberto em momentos diferentes apresentando atividades também diferentes, **Figura 21** (185), (201).

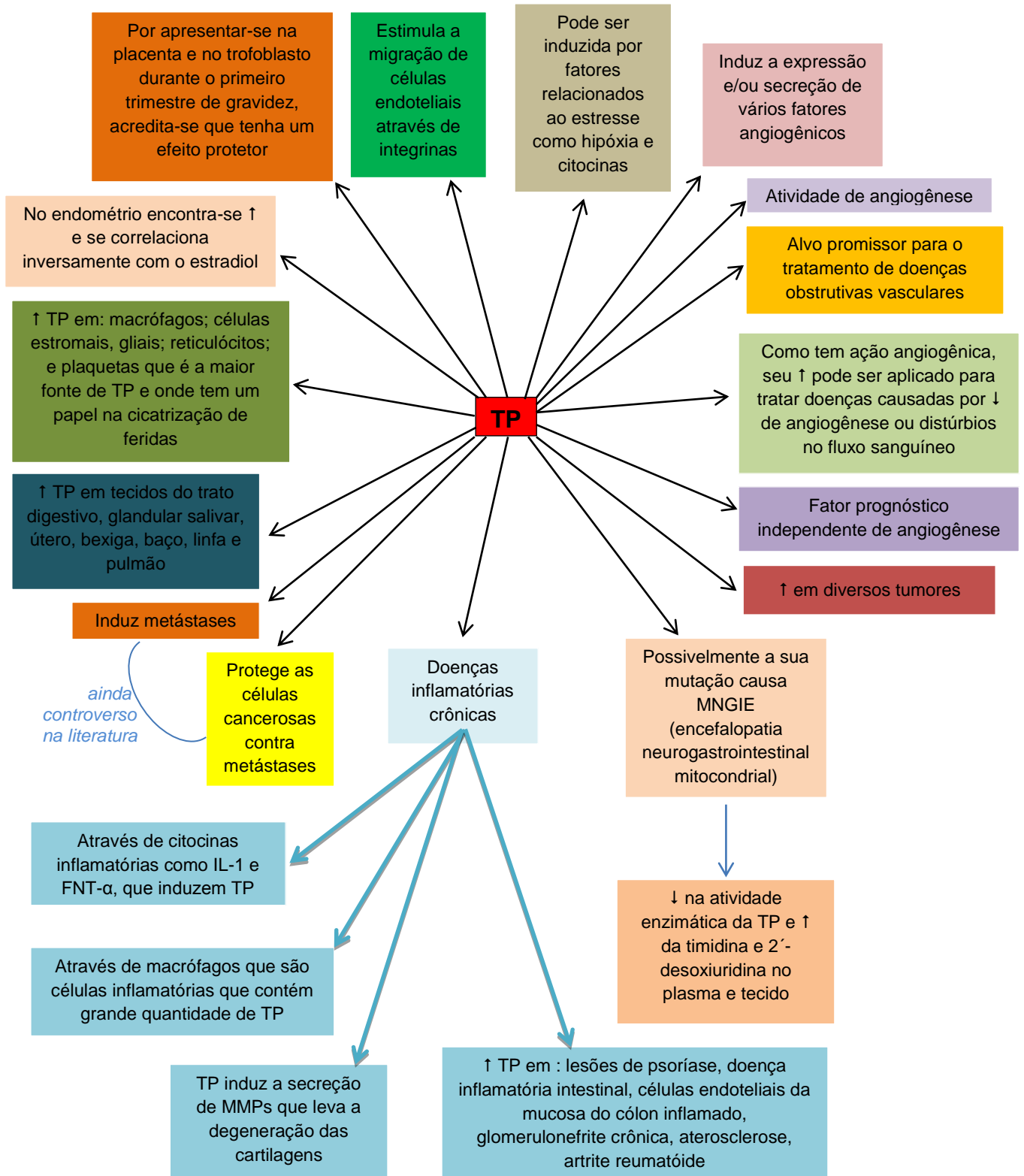
Figura 21 – Descrição da descoberta de timidina fosforilase (TP) e seus análogos: fator de crescimento de células endoteliais derivado de plaquetas (PD-ECGF) e gliostatina



Fonte: O autor, 2014; Bronckaers et al, 2009 (185); Friedkin et al, 1954 (186); Miyazono et al, 1987 (202); Ishikawa et al, 1989 (203); Asai et al, 1992 (204); Asai et al, 1992 (205).

A TP é encontrada nos tecidos, no soro, no plasma, na placenta e em células, tanto no citoplasma como no núcleo, dessa forma as suas atividades e funções são muito variadas, mesmo ainda não sendo totalmente elucidadas e a **Figura 22** esquematiza suas diversas atuações (185).

Figura 22 – Esquema das diversas atuações da enzima timidina fosforilase (TP)

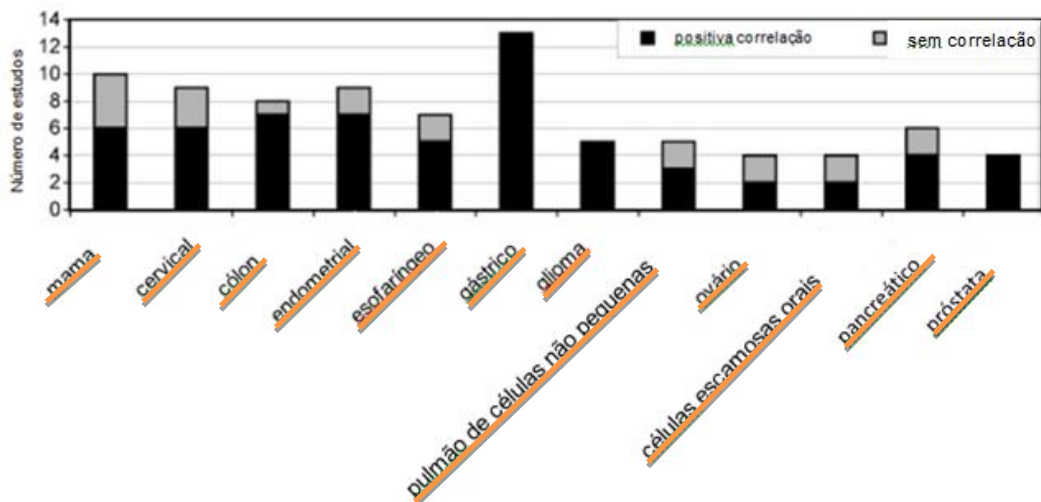


Fonte: O autor, 2014; Bronckaers et al, 2009 (185); Takebayashi et al, 1996 (206); Hotchkiss et al, 2003 (196); Fox et al, 1995 (207); Yoshimura et al, 1990 (208); Matsukama et al, 1996 (209); Shaw et al 1988 (210); Jackson et al, 1994 (211);

Usuki et al, 1990 (212); Fujimoto et al, 1998 (213); Creamer et al, 1997 (214); Hammerberg et al, 1991 (215); Giatromanolaki et al, 2003 (216); Saito et al, 2003 (217); Waguri-Nagaya et al, 2000 (218); Muro et al, 1999 (219); Ieda et al, 2001 (220); Spinazzola et al, 2002 (221); Marti et al, 2003 (222); Valentino et al, 2007 (223).

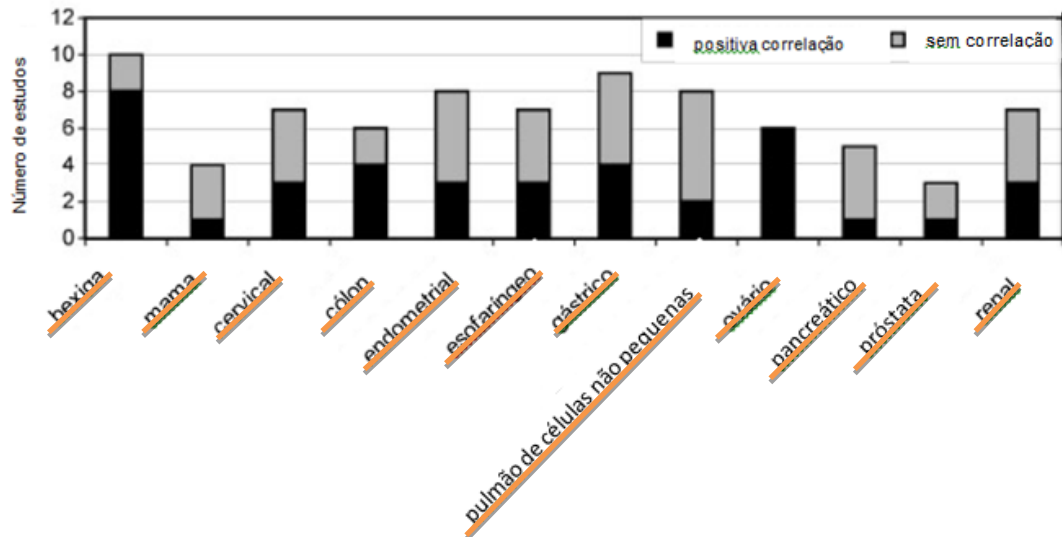
Foram feitas investigações de TP medida por transcrição reversa da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) ou imunohistoquímica ou ensaios de atividade, com mais de três estudos em cada tipo de tumor e as **Figuras 23, 24, 25 e 26** apresentam a correlação da enzima TP com os fatores clinicopatológicos dos diferentes tumores (185).

Figura 23 – Correlação dos níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com densidade microvascular



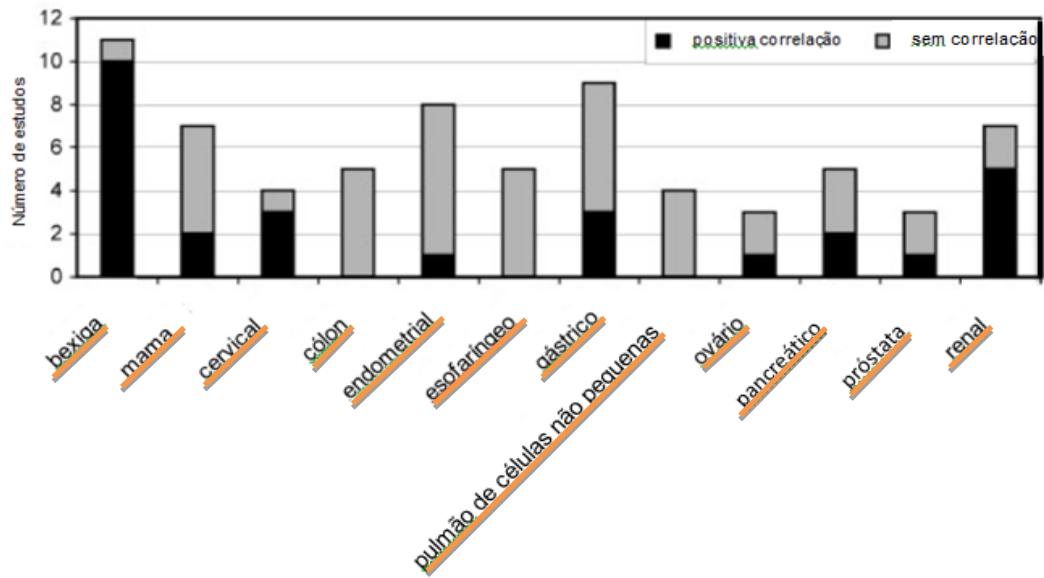
Fonte: Adaptado de Bronckaers et al, 2009 (185).

Figura 24 – Correlação dos níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com estágio do tumor



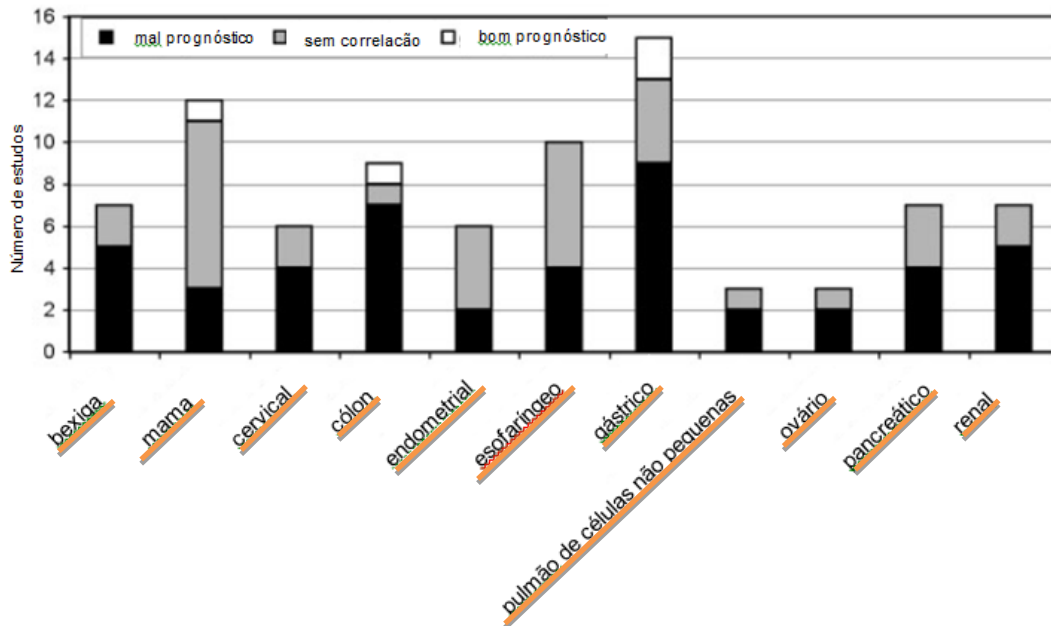
Fonte: Adaptado de Bronckaers et al, 2009 (185).

Figura 25 – Correlação dos níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com grau tumoral



Fonte: Adaptado de Bronckaers et al, 2009 (185).

Figura 26 – Correlação entre os níveis de timidina fosforilase (TP) intratumoral com prognóstico

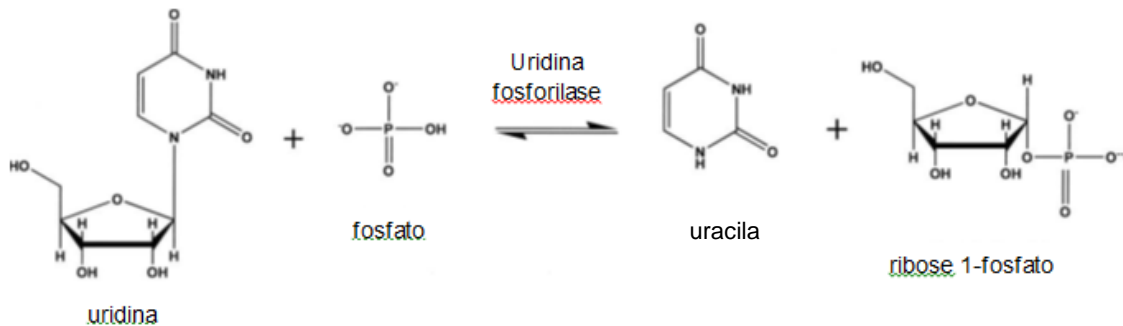


Fonte: Adaptado de Bronckaers et al, 2009 (185).

1.3.2 ENZIMAS URIDINA FOSFORILASE 1 E 2:

A uridina fosforilase (UP), como a TP, é uma enzima chave na via de salvamento das pirimidinas. Catalisa reversivelmente a fosforilação de uridina à uracil e ribose-1-fosfato, que também são utilizados para a síntese de nucleosídeos, **Figura 27** (224-226). Também converte timidina em timina com menor eficiência (225).

Figura 27 – Fosforilação de uridina à uracila e ribose-1-fosfato através da enzima uridina fosforilase (UP)



Fonte: Adaptado de Renck et al, 2010 (224).

A UP pode ser encontrada em bactérias, animais e humanos; e a maioria dos organismos superiores possuem as duas versões desta enzima: a uridina fosforilase 1 (UP 1) e a uridina fosforilase 2 (UP 2) que são codificadas por genes e cromossomos diferentes, embora compartilhem em torno de 60% da sequência de AA (224), (227-229).

A UP está presente na maioria dos tecidos e tem importante papel na regulação homeostática das concentrações de uridina, que influencia inúmeras funções celulares (230).

Esta enzima regula as concentrações de uridina tanto intracelulares como no plasma, através de 2 mecanismos de transporte: difusão facilitada e transporte ativo dependente de Na^+ (231). As células epiteliais hepáticas, renal e do intestino demonstraram possuir transporte dependente de Na^+ para nucleosídeos, e o fígado parece ter um controle homeostático na degradação e formação de uridina (231-239).

A UP 2 em humanos apresenta uma distribuição mais limitada e restrita aos rins, com alguma expressão no fígado e baço; e a análise estrutural da UP 2 humana mostrou que não há diferenças mensuráveis nos sítios ativos entre as duas versões

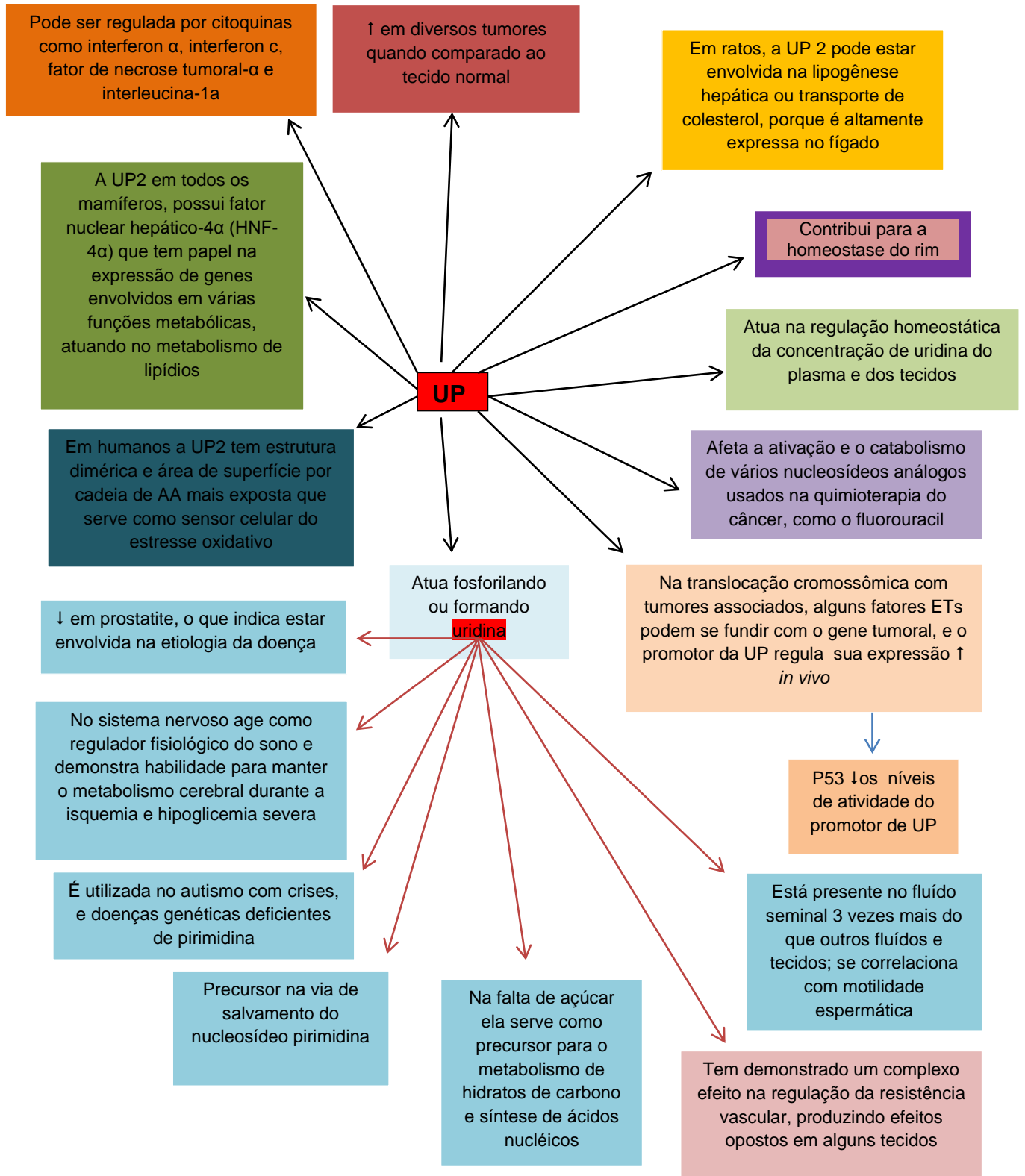
das enzimas, o que poderia gerar uma alteração na especificidade do substrato ou no mecanismo catalítico entre as duas (227).

Tanto a catálise como a inibição seletiva de UP contribui para a liberação de uridina no plasma e serve como estratégia para melhorar o índice terapêutico da quimioterapia de combinação, porque o aumento dos níveis de uridina celular protege o tecido não maligno normal da citotoxicidade de nucleosídeos análogos. A inibição da atividade de UP também parece ser uma estratégia terapêutica para resgatar a toxicidade de fluorouracil (224).

Tem sido demonstrada sua atividade em carcinoma colo-retal, de pulmão, câncer de mama, melanoma e gástrico (230), (240), (241). Os mecanismos de elevação de UP são desconhecidos e o que se presume é que seja devido ao aumento da síntese de DNA em tumores, o que facilita o metabolismo de ácidos nucléicos e a ativação de oncogenes e/ou perda da função p53, levando a ativação da transcrição. Também a presença de infiltrações de macrófagos podem estar relacionadas com a elevação da enzima (230), (242), (243).

A **Figura 28** correlaciona uridina fosforilase (UP) e uridina com os diversos fatores que elas estão envolvidas e que já foram descritos na literatura. E ao contrário de timidina fosforilase (TP), a uridina fosforilase (UP) não está associada a nenhuma atividade angiogênica devido a limitada atividade catalítica em desoxirribunucleotídeos (192), (240).

Figura 28 – Correlação da uridina fosforilase e uridina com diversos fatores em que elas estão envolvidas e que já foram descritos na literatura



Fonte: O autor, 2014; Renck et al, 2010 (224); Cao et al, 2005 (225); Roosild et al, 2011 (227); Watanabe et al, 1995 (228); Johansson et al, 2003 (229); Pizzorno et al,

2002 (231); Liu et al, 1998 (232); Cao et al, 1999 (242); Zhang et al, 2001 (243); Dumler et al, 1988 (244); Miyashita et al 2002 (245); Krenitsky et al, 1964 (246); Deneen et al, 2003 (247); Arvand et al, 2001 (248); Seifert et al, 1989 (249); Ronquist et al, 1984 (250); Ronquist et al, 1985 (251); Zhang et al, 2004 (252); Kong et al, 2009 (253); Shambaugh et al, 1979 (254); Traut et al, 1996 (255); Moyer et al, 1985 (256); Becroft et al, 1969 (257); Dagani et al, 1984 (258).

1.4 FATORES DE TRANSCRIÇÃO:

O gene original ETs (v-ETs) relatado em 1983, foi identificado pela primeira vez no vírus E 26 da eritroblastose aviária, por isso ganhou o nome E-vinte seis ou gene de transformação específica E26 (ETs-E26 Transformation-specific) (259-163).

Existem em torno de 28 genes ETs em humanos, agrupados em cerca de 12 subgrupos ou famílias, que são homólogos em vertebrados e invertebrados, mas estão ausentes em plantas, fungos, leveduras e bactérias (262). As proteínas ETs de fatores de transcrição são multifuncionais, isto é, elas ativam ou reprimem a transcrição de genes alvo, cooperando com outros fatores de transcrição e cofatores, desencadeando uma cascata de tradução de sinais (261), (264).

O que define a codificação dessas proteínas é o domínio ETs, o qual é composto por em torno de 88 AA e que liga-se a uma sequência consenso de 5` - GGA(A/T) - 3` de DNA que está dentro dos promotores de genes alvos (259), (262), (265), (266). Além deste domínio comum a todos, os membros da família ETs são sub-caracterizados também de acordo com outros domínios: domínio pontiagudo (PD) que media interações proteína-proteína, incluindo homoligomerização, heterodimerização ou transrepressão; domínio ativador da transcrição (TAD) que media a ativação de transcrição; domínio negativo (ND) que sub-regula a ligação de DNA; e domínio de repressão (RD) que permite a ligação de outras proteínas repressoras (261), (266), (267).

Uma vez que todas as proteínas Ets ligam-se as mesmas sequências alvo, acredita-se que a expressão de uma proteína ETs é maior do que outra proteína Ets pelo fato que a expressão de um gene de Ets é bem maior em alguns tipos de células e/ou tecidos do que outros; também existe a habilidade das proteínas ETs em formar complexos com fatores de transcrição que se ligam nas proximidades. Tudo isso

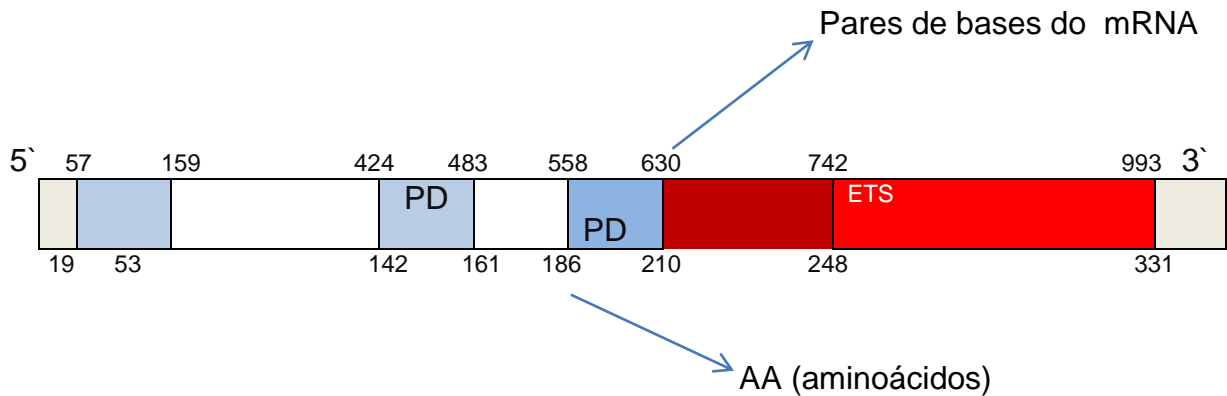
influencia o transcriptoma dessas proteínas, além de sua própria natureza e de relações que ainda não conhecemos, fazendo com que cada proteína module a transcrição de determinados genes e de diferentes maneiras (262).

Os genes alvo para os fatores de transcrição ETs incluem oncogenes, genes supressores de tumor, genes relacionados com a apoptose e angiogênese, e genes relacionados com invasão e metástases (267-270). Os membros da família ETs agem em diversos processos celulares como na regulação da diferenciação celular, proliferação, hematopoiese, vasculogênese, angiogênese, organogênese, apoptose e especificação da conectividade neuronal (259), (271-273). Seus maiores papéis são na tumorigênese, principalmente de tumores sólidos como o câncer de próstata, através das translocações cromossômicas recorrentes da protease TMPRSS2 com ERG, ETV1 e ETV4; e de alterações na expressão de vários genes pelo fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF) ou fator de transcrição ETs contendo um domínio pontiagudo SAM (SPDEF) (266), (272), (274).

1.4.1 FATOR DE TRANSCRIÇÃO PDEF:

O mais recente membro identificado dos fatores ETs é o PDEF que é uma proteína de 335 AA, massa molecular de 37,5 KDa e está localizada no braço-q do cromossoma 6 (6p21.31). Ele foi descoberto nas células tumorais da próstata como um regulador da expressão do gene do PSA, e como apresentava muita homologia com os fatores de transcrição, foi considerado um membro da família ETs; além disso, é o único membro que contém um PD em adição ao domínio conservado dos ETs, enquanto todos os outros membros das famílias de ETs apresentam ou TAD ou ND ou RD além do domínio conservado dos ETs. Este domínio PD está localizado entre as regiões 142 e 210, consistindo de apenas 37 AA de separação entre o PD e o domínio dos ETs (261), (273). Mas a característica mais marcante de PDEF é que ele apresenta o AA 88 do domínio ETs localizado no N-terminal entre as posição 248 e 331, que liga-se a região promotora do PSA, **Figura 29** (261), (275).

Figura 29 – Fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF) com seus domínios pontiagudos (PD) em azul e seu domínio de ligação ao ácido desoxirribonucleico (DNA) dos ETs em vermelho.

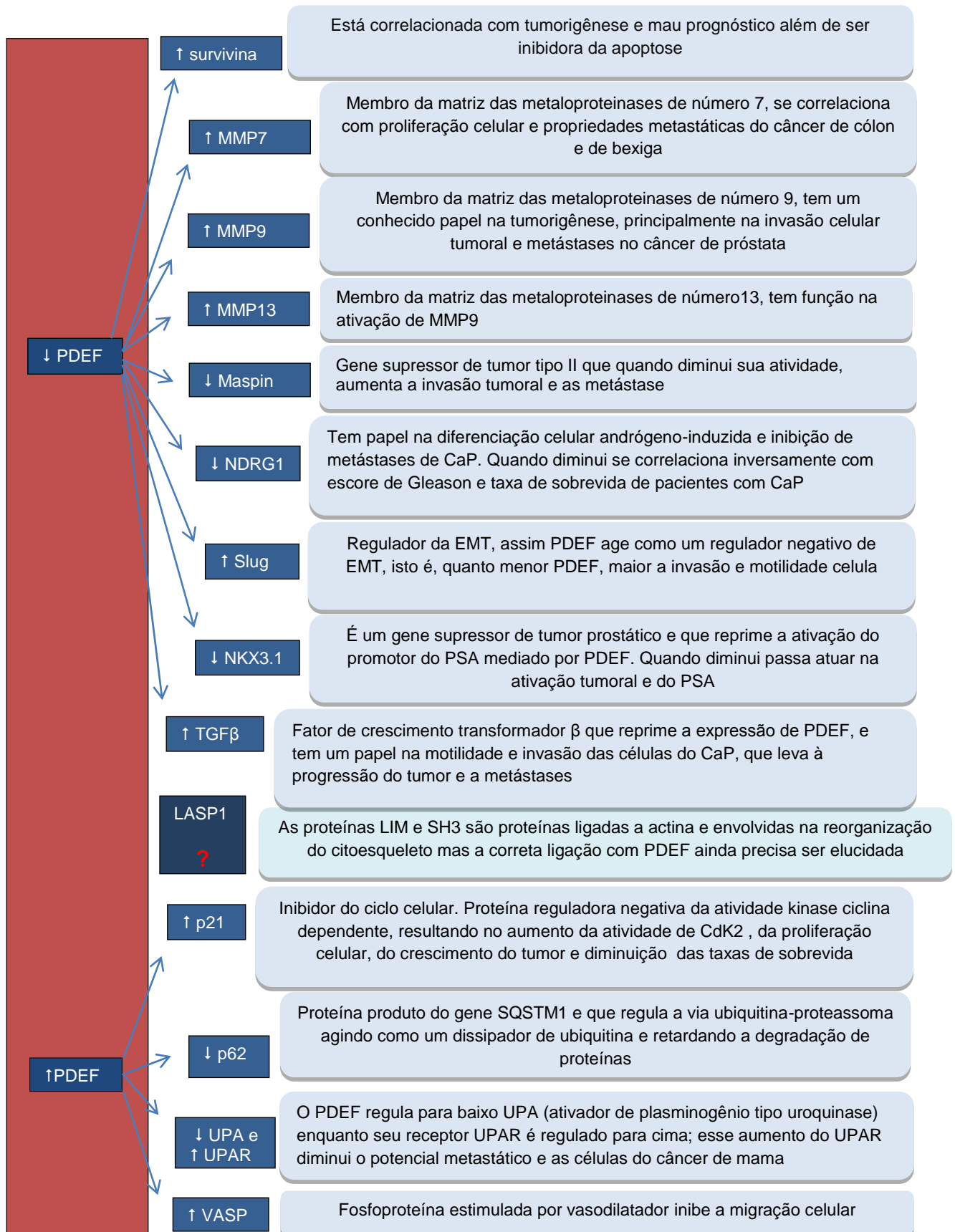


Fonte: Adaptado de Turner et al, 211 (276).

Os sítios de ligação do DNA para os fatores de transcrição ETs apresentam uma sequência típica consensual de GGAA, porém o domínio ETs do PDEF apresenta uma preferência por GGAT o que indica que ele reconhece elementos regulatórios que são distintos em outros sítios de outros ETs; isso pode ser devido a diferenças nos AA dentro da hélice 3 do domínio de ligação do DNA dos ETs, e porque o PDEF contém várias substituições de AA únicas como os resíduos serina 308 e glutamina 311, ao contrário dos outros ETs que interagem direto com o DNA (270), (273), (275).

Acredita-se que PDEF possa ter funções diferentes dependendo da origem dos tecidos tumorais. A perda deste fator de transcrição ETs nos tumores pode alterar a função de muitos genes e todo esse transcriptoma alterado contribui para que novos fenótipos surjam e ocorra o desenvolvimento do câncer invasivo relacionado ao processo de metástases (276), (277). Exemplos de genes que podem estar desregulados pelo PDEF na carcinogênese está elucidado na **Figura 30** (261).

Figura 30 – Atuações do fator de transcrição derivado da próstata (PDEF)



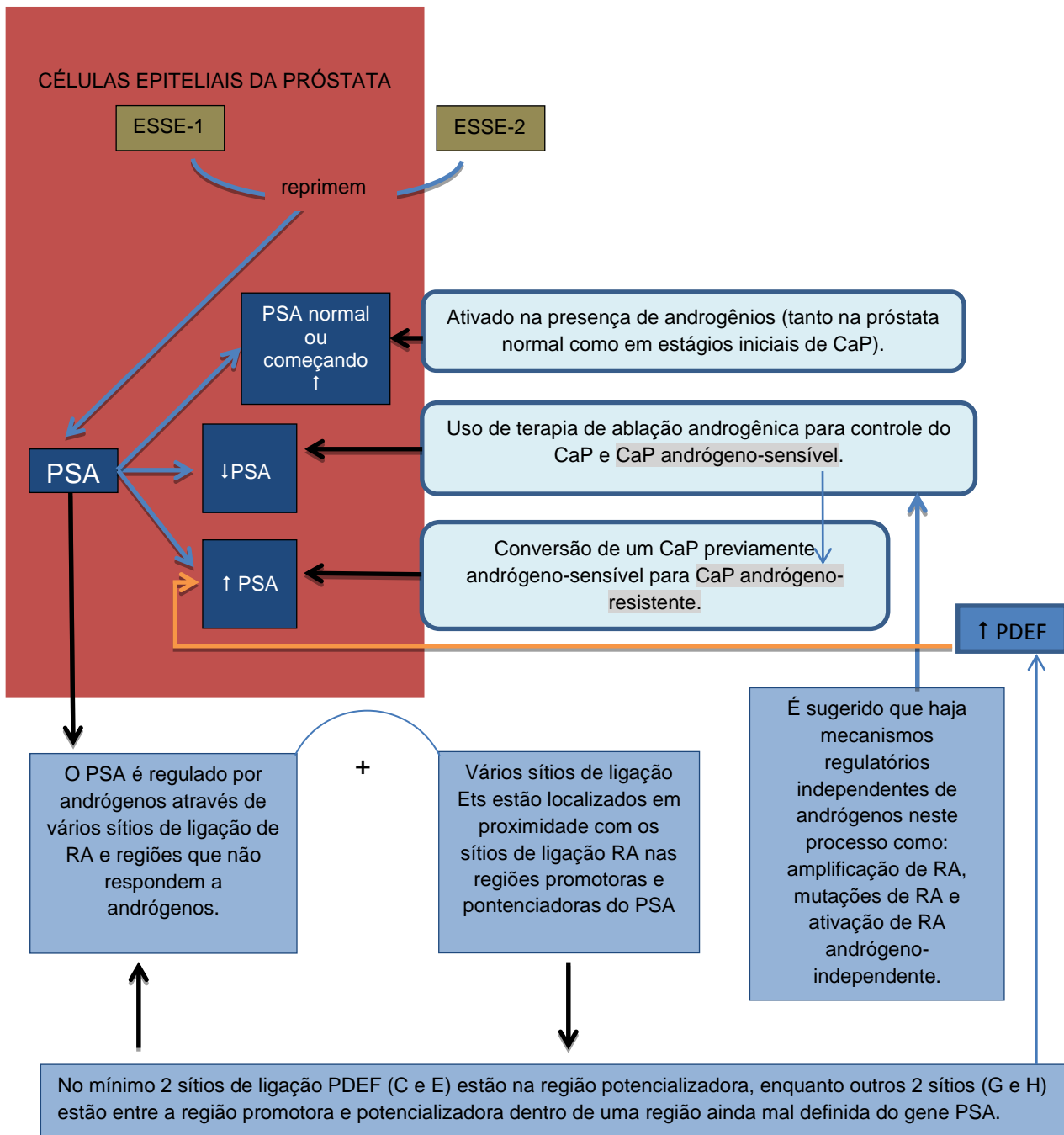
Fonte: O autor, 2014; Chen et al, 2002 (57); Zhang et al, 2004 (252); Steffan et al, 2011 (261); Oettgen et al, 2000 (273); Turner et al, 2011 (276); Ghadersohi et al, 2007 (278); Ghadersohi et al, 2008 (279); Ghadersohi et al, 2011 (280); Li et al, 2005 (281); Li et al, 2006 (282); Moussa et al, 2009 (283); Roeb et al, 2004 (284); Johnson et al, 2010 (285); Pal et al, 2013 (286); Pivetta et al, 2011 (287); Feldman et al, 2003 (288); Tsui et al, 2012 (289); Tu et al, 2007 (290); Mostaghel et al, 2007 (291); Gu et al, 2007 (292); Schaefer et al, 2010 (293); Thompson et al, 2003 (294); Turner et al, 2008 (295); Kruger et al, 2000 (296).

A expressão de PDEF está limitada a tecidos de alto conteúdo epitelial e hormônio-regulados como próstata, mama, glândula salivar, endométrio, ovário, cólon, epitélio de vias aéreas e estômago (261), (286), (297), (298). Na próstata, o PDEF é exclusivamente expresso no epitélio luminal e isto indica que existe uma relação entre este fator ETs com o desenvolvimento da glândula prostática e com o câncer de próstata, fazendo com que PDEF não apenas haja como um ativador de transcrição do promotor do PSA andrógeno-independente, mas também faz com que ele interaja diretamente com o domínio de ligação do DNA de receptores de andrógenos (RAs) e aumente a ativação do promotor do PSA mediado por andrógenos, além de atuar ainda como um co-regulador do receptor de androgênio; assim é sugerido uma conexão entre PDEF, PSA e androgênio, **Figura 31** (57), (261), (273), (289), (299), (300).

No processo de metástases, a migração e invasão celular são regulados por alterações na adesão célula-célula e célula-matriz extracelular. O PDEF modula, no mínimo, dois importantes passos na metástase tumoral como: a migração celular via regulação de expressão de E-caderina uma vez que ela é uma molécula de adesão primária na adesão de células epiteliais e invasão celular via regulação de metaloproteinases (MMPs). Na superexpressão de PDEF foi observado que, a expressão de E-caderina aumenta, mas não acontece o contrário, então isto nos faz crer que só PDEF modula a expressão de E-caderina e que quando PDEF diminui, a E-caderina também diminui sua expressão e promove metástases, **Figura 32** (286), (301). Dessa forma, PDEF e E-caderina podem oferecer potencial uso como marcadores para distinguir uma doença indolente de uma agressiva de CaP. As MMPs são conhecidas por atuarem na capacidade de crescimento das células

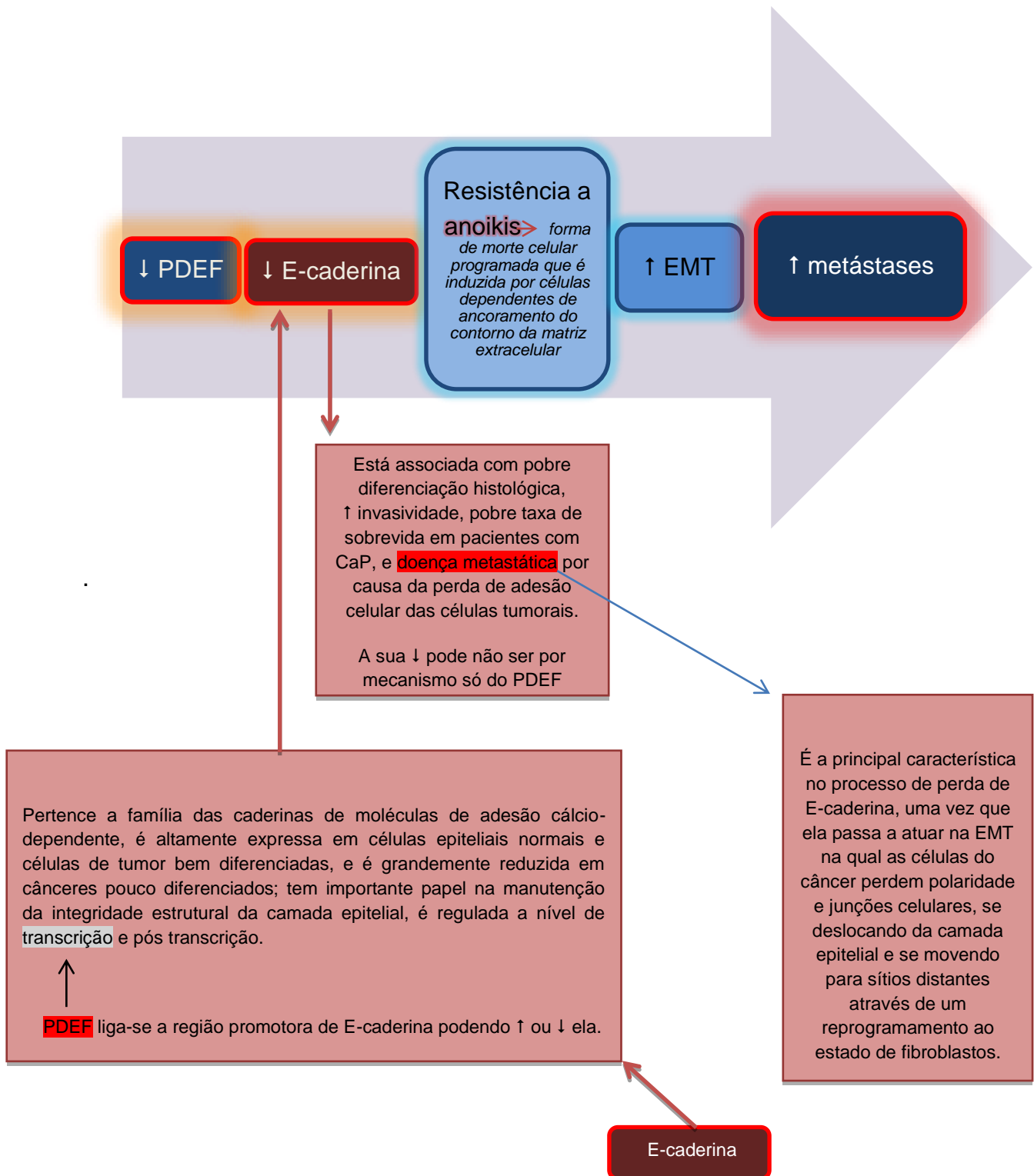
tumorais em sítios secundários; especialmente a MMP9 que degrada a matriz extracelular que tem um papel importante no remodelamento do nicho metastático, **Figura 33** (302-305).

Figura 31– Conexão entre o fator de transcrição derivado da próstata (PDEF), o antígeno prostático específico (PSA) e o receptor de androgênio (RA)



Fonte: O autor, 2014; Oettgen et al, 2000 (273); Cleutjens et al, 1997 (306); Cleutjens et al, 1997 (307); Zhang et al, 2007 (308); Huang et al, 1999 (309).

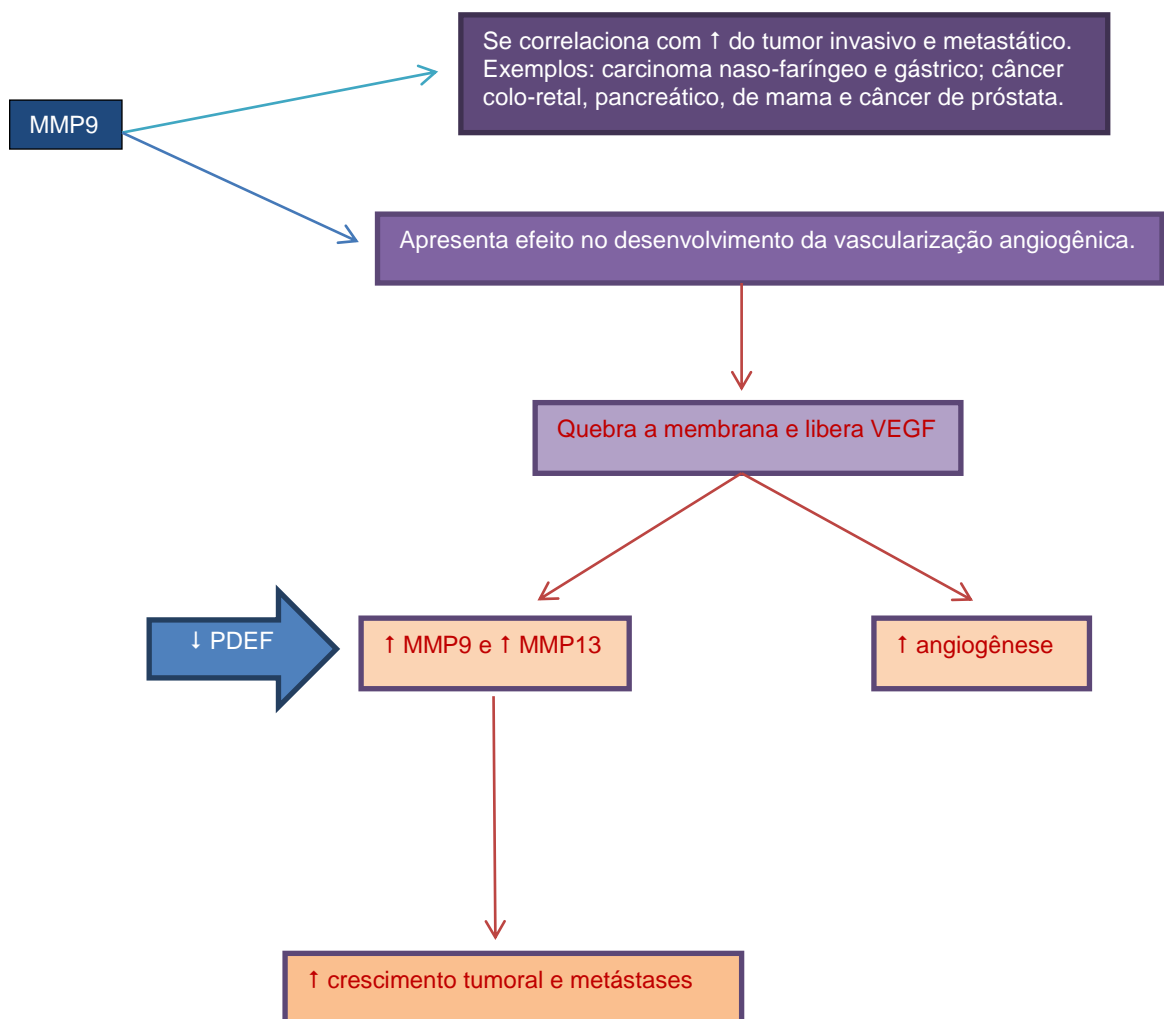
Figura 32 – Relação do fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF) com E-caderina e metástases



Fonte: O autor, 2014; Coppola et al, 2013 (274); Pal et al, 2013 (286); Spaderna et al, 2008 (310); Smit et al, 2009 (311); Richmond et al, 1997 (312); Wang et al, 2008

(313); Shiozaki et al, 1996 (314); Frixen et al, 1991 (315); De Craene et al, 2013 (316); Osisami et al, 2013 (317).

Figura 33 – Relação do fator de transcrição ETs derivado da próstata (PDEF) com as metaloproteinases (MMPs) e metástases



Fonte: O autor, 2014; Zhang et al, 2004 (252); Steffan et al, 2012 (302); Liu et al, 2010 (318); Bendardaf et al, 2010 (319); Tian et al, 2008 (320); Zhao et al, 2009 (321); Provatopaulou et al, 2009 (322); Castellano et al, 2008 (323); Bergers et al, 2000 (324); Ghosh et al, 2012 (325).

Vários artigos já trabalharam com a expressão do PDEF, porém se sua expressão é elevada ou diminuída na progressão tumoral, ainda é controverso.

A maioria dos artigos relata que a expressão de PDEF é reduzida a medida que o tumor progride e que nos casos de tumores muito agressivos e com alta capacidade de invasão, como nos casos de estadiamento avançado e de elevado escore de Gleason, a expressão de PDEF pode ser quase não detectável; isso já foi demonstrado em tumores de próstata, mama, ovário e cólon (261), (279), (283), (285), (288). Uma vez que a PDEF vai diminuindo com o aumento da progressão do estágio tumoral e da agressividade das células tumorais, é sugerido que o gene PDEF tenha uma atividade supressora de metástases e que possa ser utilizado como marcador que diferencie uma doença indolente de uma agressiva em câncer de próstata (261), (285).

Porém, já foi demonstrado o inverso, isto é, o aumento da expressão de PDEF nos tecidos tumorais quando comparado com o benigno ou PIN, e isto também foi relatado em tumores de próstata, mama e ovário (261), (326-329). E essa super-expressão transitória de PDEF aumentaria a expressão do gene de PSA aos níveis de transcrição e tradução sob condições livre de andrógenos (289).

A análise do PDEF como marcador de diagnóstico ou prognóstico, deve ser feita somente no tecido porque ele não é segregado para o sangue ou urina (261).

PDEF também já mostrou correlação inversa entre a sua expressão e a sobrevida de pacientes com câncer de ovário, e uma possível associação entre a ausência de PDEF e morte por câncer de mama (276), (278), (279).

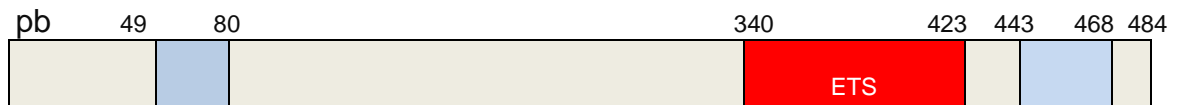
De acordo com um proteoma realizado, 121 proteínas foram identificadas com associação direta ou indireta com o PDEF, e não foram relatadas até o momento fusões de genes com PDEF (259), (261).

1.4.2 FATOR DE TRANSCRIÇÃO ETV4:

Uma das subfamílias de fatores de transcrição ETs, a subfamília do ativador do potenciador do polyomavirus 3 (PEA3) ou a proteína de ligação ao potenciador do vírus E1A (E1A), compreende os fatores: ER81 para ETs-relacionados ao 81 (ETV1), ETs variante 4 (ETV4) e ERM-moléculas relacionadas aos ETs (ETV5) (262), (330-333). Eles tem um domínio ETs comum a todos fatores e um domínio

acídico no N-terminal e outro no C-terminal que são sítios de ativação de transcrição, sendo o domínio N-terminal o mais potente, **Figura 34** (262), (334-336).

Figura 34 – Fator de transcrição ETV4 com seus domínios acídicos em azul e seu domínio de ligação ao ácido desoxirribonucleico (DNA) dos ETs em vermelho



Fonte: Adaptado de Oh et al, 2012 (262).

Esta subfamília liga-se preferencialmente a sequência 5`-GGAA-3` e a medida que se distancia deste código, a força de ligação do DNA diminui; e eles também não são regulados da mesma maneira, podendo cada um realizar funções fisiológicas diferentes (262), (337).

Análise de mRNA dos fatores ETV1, 4 e 5 revelou que seus genes são expressos em inúmeros órgãos durante o desenvolvimento embrionico e na fase adulta de ratos, tendo eles um papel na ramificação da morfogênese onde o botão epitelial primitivo se bifurca para gerar ductos arborizados ou estruturas acinares, e no mesênquima adjacente que interage com as células epiteliais (262), (338-340). No caso de ETV4, foi demonstrada expressão na ponta de ductos epiteliais durante a diferenciação mesonéfrica e diminuição da expressão após a diferenciação do glomérulo renal; e quando houve inativação de todos os alelos de ETV4 e ETV5 estes animais apresentaram falha no desenvolvimento dos rins, além de ser sugerida uma disfunção erétil e ejaculatória na falta de ETV4 (262), (341-344).

O receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2/Neu) membro da família dos receptores de fator de crescimento epidérmico, é superexpresso em 20-30% de todos os tumores de mama; de acordo com estudos moleculares é sugerido que o HER2/Neu ativa a transcrição dos fatores PEA3, e em retorno o ETV4 se liga ao sítio promotor de HER2/Neu e estimula sua transcrição; porém há um relato que

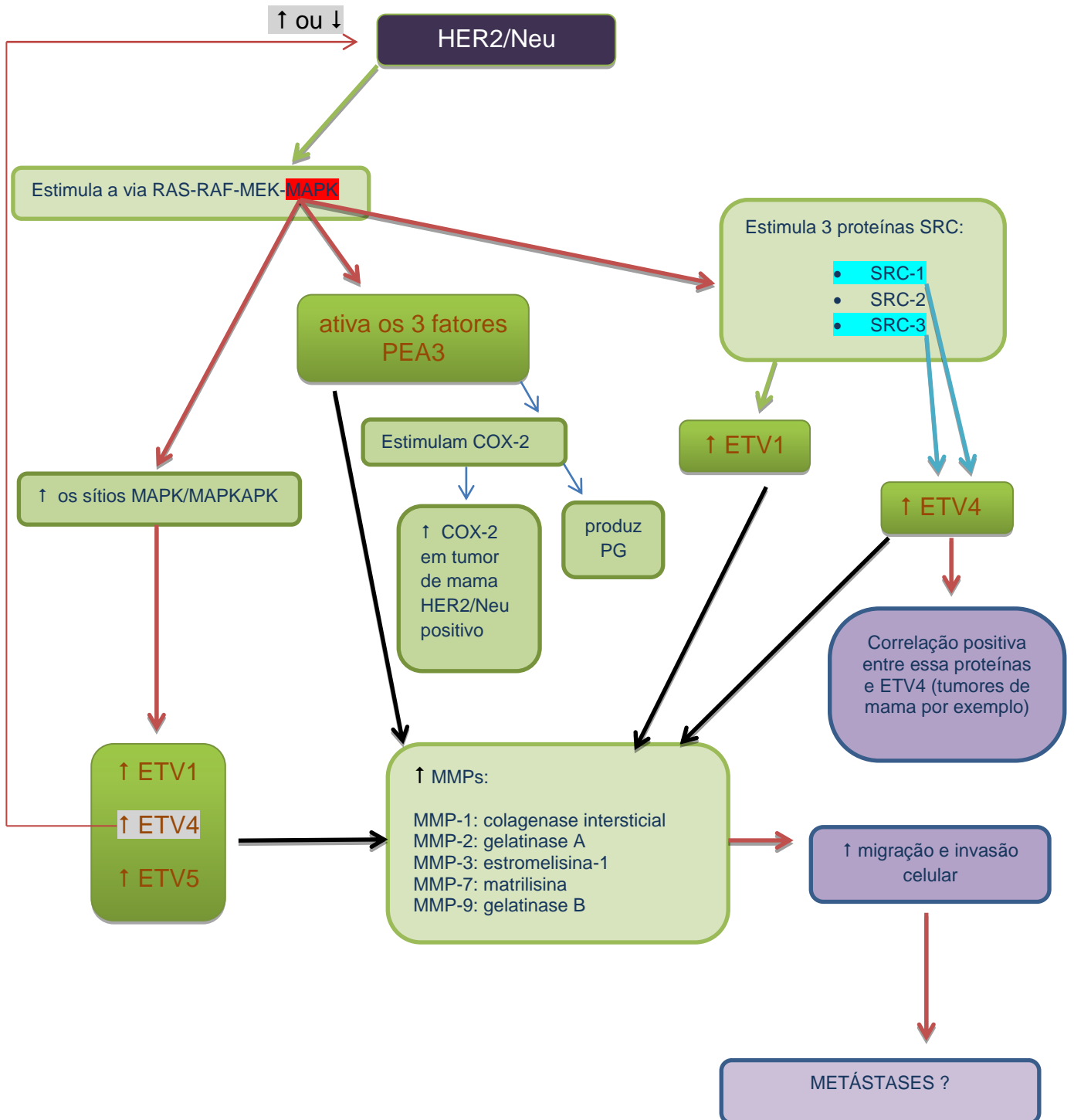
ETV4 reprime HER2/Neu. A relação de HER/Neu com ETV4 é expressa na **Figura 35** e este mecanismo representa não só a via do câncer de mama, mas possivelmente outros carcinomas utilizam também esta via como o CaP (262), (345-350).

A presença de translocações cromossômicas ETs no CaP humano foi inicialmente relatada em 2005 e hoje já se sabe que se encontram presentes em aproximadamente 50% dos casos de tumores de próstata (80), (351). A principal translocação envolve o gene de uma serina protease trans-membrana TMPRSS2 que é exclusivamente expresso na próstata, com um dos fatores ETS (ERG/ETV1/ETV4/ETV5) que apresentam uma especificidade muito semelhante no sítio de ligação de DNA, e isto explica porque todos eles causam CaP (80), (83), (85), (262), (337), (351).

Essa translocação faz com que o rearranjo dos genes ETs resulte na expressão da proteína ETs em todo o seu comprimento ou ligeiramente truncada e que pode ou não ter pequenas extensões de TMPRSS2 ou outros AA parceiros fundidos no seu N-terminal; toda fusão de proteínas retém o domínio de ligação ao DNA da proteína ETs causando a desregulação da transcrição do gene. A consequência desta translocação é a geração de uma fusão gênica TMPRSS2-ETs, na qual a expressão da proteína ETs andrógeno-dependente é controlada pelo gene promotor/potenciador TMPRSS2 que é andrógeno-induzível e induz a expressão de proteína ETs neste órgão; garantindo assim que estas proteínas ETs tornem-se superexpressas no tumor de próstata **Figura 36** (262), (352), (353).

Até o momento 14 genes diferentes como: TMPRSS2, SLC45A3, C15orf21, CANT1, EST14, FOXP1, HERVK17, FLJ35294, HERV-K, ACSL3, NDRG1, DDX5, HNRPA2B1, KLK2 tem sido identificados como parceiros de fusão para ERG, ETV1, ETV4, ETV5 e mais recentemente ELK4 (81), (351), (353-355).

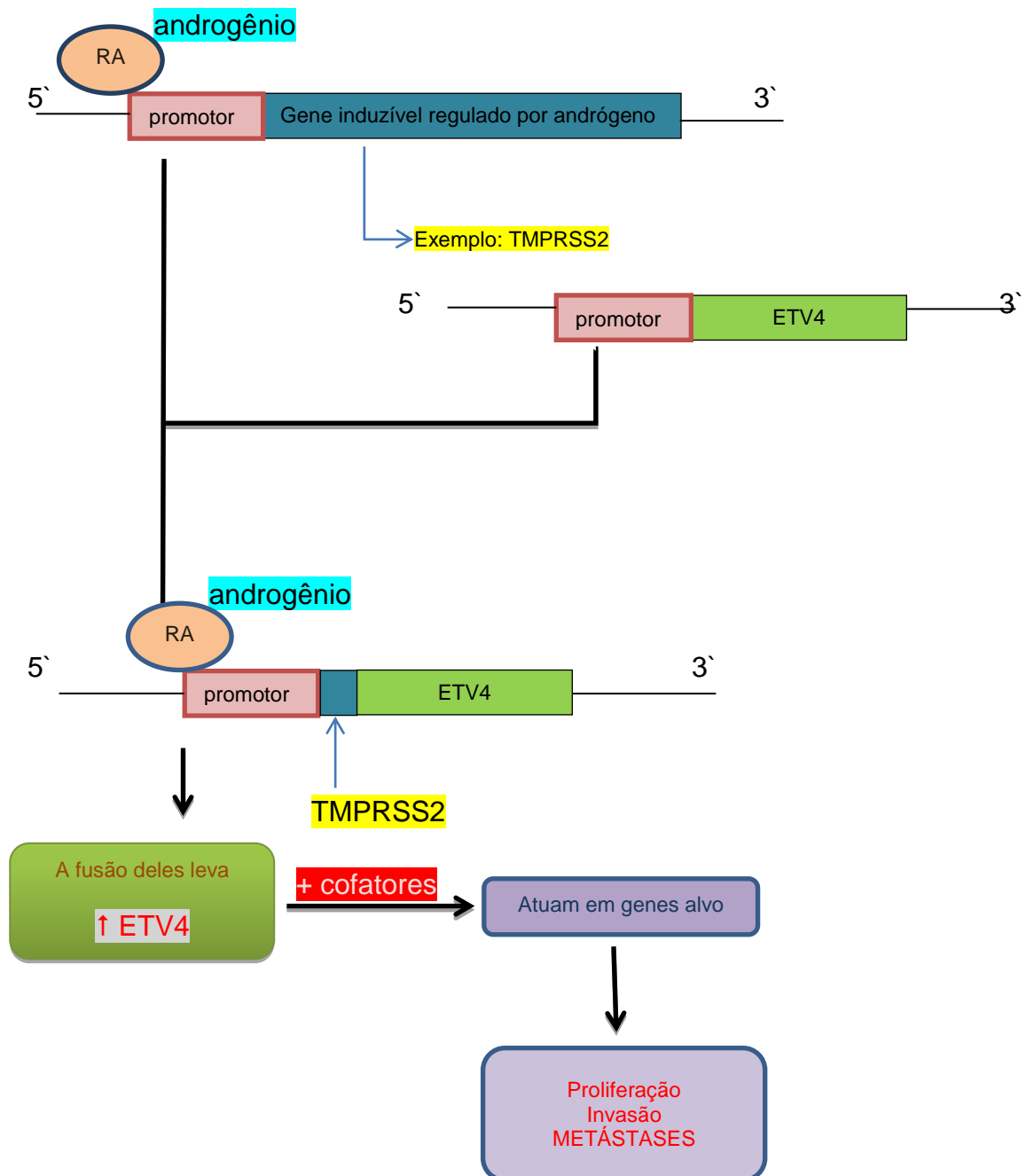
Figura 35 – Ativação dos fatores de transcrição ETV4 via gene HER2/Neu.



Fonte: O autor, 2014; Chotteau-Lelievre et al, 2003 (341); Bosc et al, 2001 (346); Janknecht et al, 1996 (356); Holbro et al, 2003 (357); Fleming et al, 2004 (358); Janknecht et al, 1996 (359); O`Hagan et al, 1996 (360); Xu et al, 2009 (361); Goel et

al, 2004 (362); Qin et al, 2008 (363); Higashino et al, 1995 (364); Crawford et al, 2001 (365); Brinckerhoff et al, 2002 (366); Kaya et al, 1996 (367).

Figura 36 – Interação do gene induzível regulado por andrógeno com o ETV4



Fonte: O autor, 2014; Hermans et al, 2008 (81); Tomlins et al, 2006 (83); Helgeson et al, 2008 (85); Rahim et al, 2013 (351).

Aproximadamente 80% dos CaP são caracterizados pela presença de produtos de fusão entre os genes TMPRSS2 e a família ETs; no entanto nenhuma dessas alterações genéticas são encontradas em tecidos prostáticos benignos (368).

As fusões tem sido grandemente associadas com mal prognóstico, menor incidência de sobrevida livre de recorrência e maiores escores de Gleason, todos indicativos de doença mais avançada; e as frequências em que elas ocorrem são: ERG (em torno de 50%), ETV1(10%), ETV4(1-2%), ETV5(1-2%), ELK4(<1%); e esta maior frequência de ERG é devido ao fato que ele está em estreita proximidade com o gene TMPRSS2 no cromossomo 21, enquanto os outros estão em cromossomos diferentes deste (83), (85), (351), (362), (369). A translocação TMPRSS2-ERG não é só a mais comum, se correlaciona positivamente com perda de PTEN (gene supressor tumoral) e isto está associado com mal prognóstico em pacientes com CaP (262), (370-373).

ETV1, 4 e ERG ligam-se a genes que estão envolvidos na diferenciação celular, crescimento e desenvolvimento do organismo multicelular, e eles ocupam um conjunto de regiões genômicas que estão em estreita proximidade com os locais de início da transcrição de vários genes que regulam a formação de vasos sanguíneos que promovem a angiogênese, o que facilita a tumorigênese (262), (374). O aumento destes fatores ETs também aumentam as MMPs-1, 3, 7, 9, o plasminogênio ativador de uroquinase e seu receptor, que atuam na remodelação da matriz extracelular que leva a migração e invasão celular (262), (375).

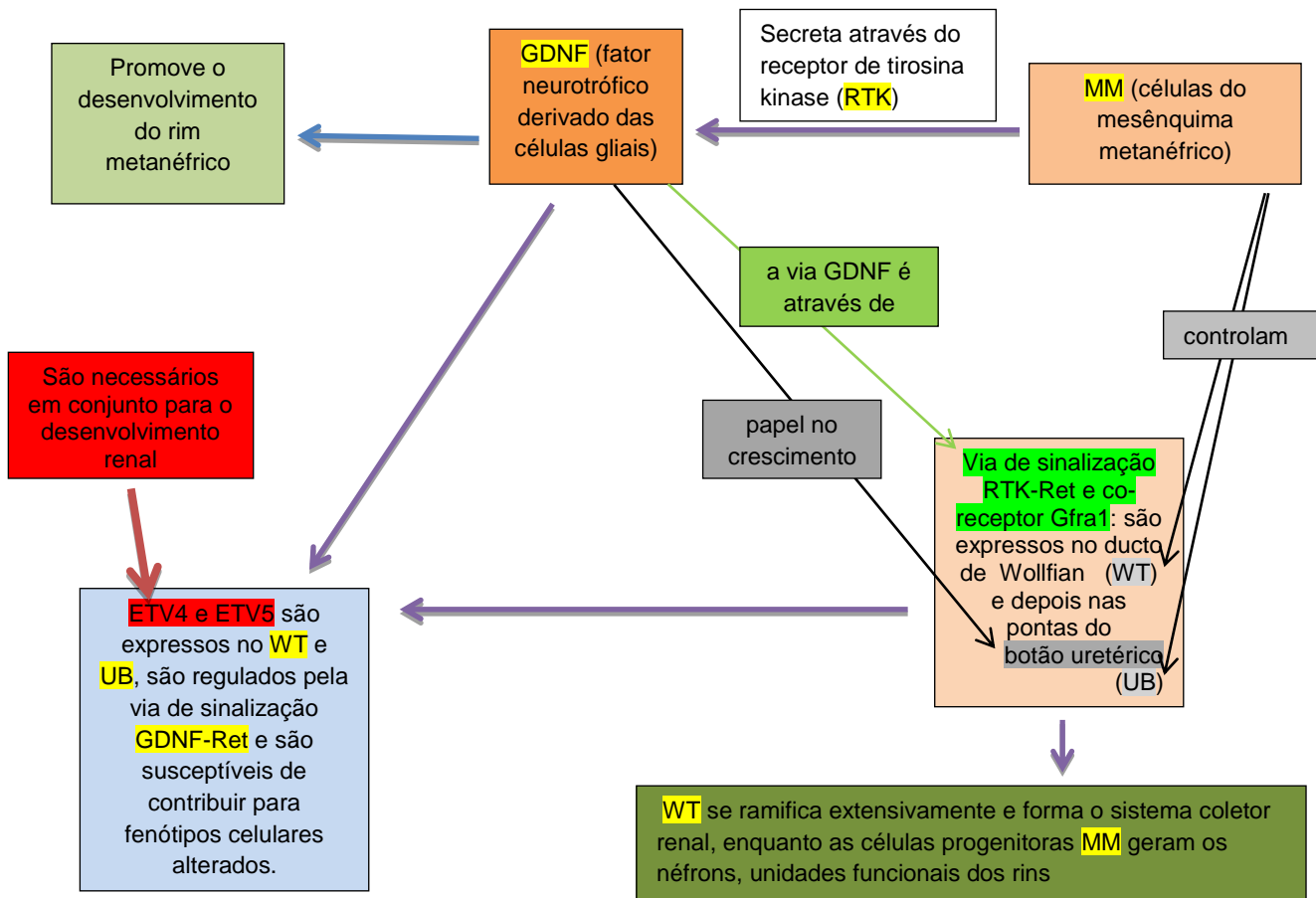
O ETV4 é super-expresso em muitos dos casos de CaP, em alguns destes ele está associado com translocações com genes altamente expressos na próstata como: TMPRSS2, KLK2, DDX5 e CANT1; em outros casos isso é observado, mas sem nenhuma translocação detectável (82), (376), (377). Este aumento de ETV4 está não só na fase inicial do CaP, mas durante a progressão e manutenção do tumor (23), (262), (353). Ele também é super-expresso em outros tipos de câncer como o de cabeça e pescoço, pulmão, mama, gástrico, colo-retal, tumor de ovário; além de apresentar associação com metástases, mal prognóstico e EMT, e se correlacionar com genes relacionados ao câncer por meio de ativação que leva à proliferação celular e invasividade; por outro lado pode funcionar como um gene supressor de tumor (262), ((348), (350), (367), (376), (378-395).

O gene ETV4 dos fatores de transcrição ETs também podem se envolver em translocações com o gene do Sarcoma de Ewing's ou seu homólogo FUS, que é um

tumor muito agressivo e afeta principalmente crianças e adolescentes. Esta translocação EWSETV4 t(17;22) (q12;q12), embora muito rara, pode também ser encontrada em outras pequenas malignidades de células redondas azuis como o neuroectoderma periférico primitivo e tumores de Askin (262), (396-399).

O ETV4 tem importante papel no desenvolvimento neuronal, de espermatogônias, membros, e mais recentemente nos rins. A via de sinalização GDNF-Ret atua nos fatores de transcrição ETV4 e ETV5 que são necessários para o desenvolvimento dos rins **Figura 37**. A falta de ambos os alelos ETV4 e um alelo de ETV5 resulta em alta frequência de agenesia (ausência) renal ou hipodisplasia (malformação severa), e quando estão completamente deficientes ETV4 e ETV5, há ausência de desenvolvimento renal. Nos humanos as mutações Ret estão associadas com agenesia renal, doença de Hirschsprung e câncer (400-411).

Figura 37- via de sinalização GDNF-Ret com os fatores de transcrição ETV4 e ETV5, necessários para o desenvolvimento dos rins



Fonte: O autor, 2014; Lu et al, 2009 (400); Costantini et al, 2006 (401) ; Takahashi et al, 2001 (406).

1.5 RT-PCR EM TEMPO REAL (REAL TIME):

A Reação em Cadeia da Polimerase ou (PCR) é uma técnica automatizada baseada na amplificação de uma pequena região específica da molécula de DNA, em várias cópias iguais, pela enzima DNA polimerase.

O procedimento requer uma mistura de DNA alvo (a ser amplificado) com os reagentes Taq polimerase, e os primers. Esta amostra é incubada em um termociclador, que é parte do aparelho de PCR e que apresenta vários programas de temperatura a ser escolhido pelo operador, **Quadro 8** (412).

Quadro 8 – Passos básicos do procedimento de PCR

Passos básicos do procedimento de PCR:

1º) Desnaturação do DNA molde (94°C): 1 fita de DNA de cadeia dupla é desnaturada e transformada em 2 fitas de DNA de cadeia simples. Isso se deve a quebra das ligações de Hidrogênio.

2º) Anelamento dos primers de oligonucleotídeos (entre 50°C e 60°C): nesta temperatura as fitas simples não se unem novamente. Os primers, que são pequenas moléculas de DNA que delimitam a região que será amplificada para síntese de DNA, se anelam às fitas simples porque apresentam a sequência específica da fita de forma complementar, além de estarem em grande quantidade no meio.

3º) Síntese de novo do DNA (74°C): esta temperatura é ideal para que a Taq DNA polimerase trabalhe de forma a atacar o primer e sintetizar novas cadeias de DNA molde. A enzima é isolada de uma bactéria termofílica, estável a temperaturas muito mais altas do que o normal e que não desnatura mesmo com repetidos tratamentos de calor.

4º) Repetição dos ciclos (94°C): uma vez sintetizadas novas cadeias, o segundo ciclo começa e assim sucessivamente com os produtos de cada ciclo servindo como DNA-molde para o próximo. São entre 20 e 30 ciclos e por isso é chamado de “reação em cadeia” da polimerase.

Fonte: O autor, 2014; Brown, 2013 (412).

A transcriptase reversa - reação em cadeia da polimerase ou RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) é um método que utiliza a enzima transcriptase reversa para converter toda população de moléculas de mRNA purificadas a partir de tecido ou cultura de células, em DNA complementar de cadeia simples, isto é, o cDNA; para depois se iniciar o PCR convencional (180), (412).

PCR em tempo real ou real-time é uma variação da técnica de PCR em que os produtos de síntese são medidos o tempo todo através da série de ciclos do procedimento. A parte quantitativa desse método tem como base uma relação direta entre a velocidade em que o produto de PCR é gerado e a concentração original das espécies de mRNA de interesse. É utilizado um corante fluorescente que emite cor

quando se liga a uma dupla fita de DNA para rastrear o progresso da reação, assim se pode determinar as quantidades relativas do mRNA das amostras (180), (412).

A técnica é extremamente sensível podendo detectar uma única molécula de DNA ou traços de RNA; é utilizada em medicina forense na análise de vestígios de sangue ou de outros tecidos, além de atuar no diagnóstico de doenças genéticas e na verificação de níveis virais de infecção (180), (412).

2 OBJETIVOS:

- Em espécimes de carcinoma de próstata e de hiperplasia prostática benigna, analisar a expressão relativa do mRNA das enzimas TP, UP 1 e UP 2, e dos fatores de transcrição SPDEF e ETV4.
- Em espécimes de carcinoma de próstata e de hiperplasia prostática benigna, comparar a expressão relativa das médias geométricas do mRNA das enzimas TP, UP 1 e UP 2, e dos fatores de transcrição SPDEF e ETV4 no tecido tumoral e no tecido de hiperplasia prostática benigna com as variáveis clínicas e patológicas de prognóstico.
- Em espécimes de carcinoma de células renais e de tecidos adjacentes ao tumor, analisar a expressão relativa do mRNA das enzimas TP, UP 1 e UP 2 e dos fatores de transcrição SPDEF e ETV4.
- Em espécimes de carcinoma de células renais e de tecidos adjacentes aos tumores, comparar a expressão relativa das médias geométricas do mRNA das enzimas TP, UP 1 e UP 2, e dos fatores de transcrição SPDEF e ETV4 no tecido tumoral e no tecido adjacente ao tumor com o estadiamento (classificação TNM) e graduação histológica segundo Fuhrman.

3 MATERIAL E MÉTODOS:

3.1 População e amostra:

3.1.1 Grupo do câncer de próstata:

Foram analisadas 56 amostras de tecidos, benignos e tumorais, sendo que 36 eram de pacientes com hiperplasia prostática benigna, e 20 eram de pacientes com diagnóstico de tumor de próstata. Todas as amostras foram obtidas através de tratamento cirúrgico por ressecção transuretral da próstata (RTU) ou por prostatectomia radical (PR) realizadas no Serviço de Urologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

3.1.2 Grupo do carcinoma de células renais:

Foram analisadas 28 amostras teciduais, sendo que 14 amostras eram de tumor de rim e 14 eram amostras coletadas de tecido benigno adjacente ao tumor, totalizando 14 pacientes, sendo duas amostras de cada paciente. Todas as amostras foram obtidas por tratamento cirúrgico por nefrectomia parcial ou total no Serviço de Urologia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética da PUCRS e os pacientes participantes assinaram o TCLE.

3.2 Coleta e armazenamento das amostras de tecidos:

No momento da cirurgia foi retirado um fragmento da peça tumoral nos pacientes com câncer de próstata, um fragmento de tecido hiperplásico prostático nos pacientes com hiperplasia prostática benigna; e nos pacientes com carcinoma de células renais, um fragmento tumoral e outro fragmento do tecido adjacente ao tumor. Após a coleta as amostras foram colocadas rapidamente em frascos (Eppendorf®) identificados e separados, com uma solução de estabilização do RNA (RNA later™, RNA Stabilization Reagent, Ambion, Austin, TX, USA) e deixados em freezer -80C° até o momento do processamento, **Figura 38**. Também foram coletadas amostras tumorais que foram armazenadas em formalina tamponada à 4% e encaminhadas para o Serviço de Patologia do Hospital para avaliação histopatológica e de imuno-histoquímica.

Figura 38 – Freezer -80°C onde as amostras permaneceram armazenadas



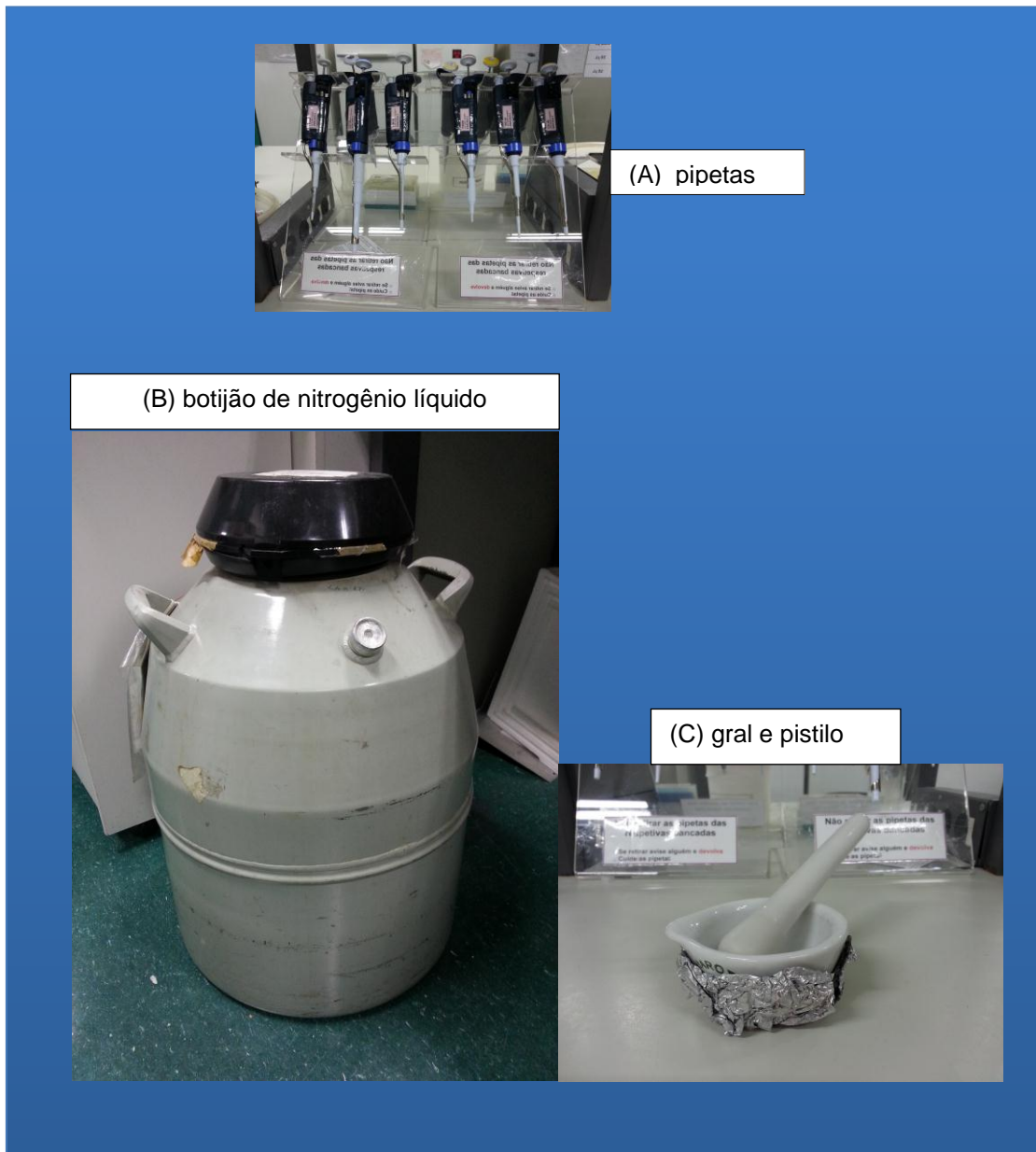
Fonte: Professor Diógenes Santiago Santos, Centro de Pesquisas Biológicas Molecular e Funcional (CP-BMF), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

3.3 Isolamento e purificação do mRNA:

As amostras foram pesadas e o peso estipulado foi de 20 à 30mg, para depois serem maceradas com nitrogênio líquido em gral e pistilo, **Figura 39** e **Figura 40**. Através de cromatografia por afinidade e micro colunas de DNase, as amostras foram processadas de acordo com o protocolo (RNasy® Protect Qiagen, Valencia, CA, USA), e estocadas à -80°C novamente.

Todos descongelamentos e procedimentos foram realizados à 4°C conforme protocolo.

Figura 39 – Equipamentos utilizados no isolamento e purificação do mRNA: (A) pipetas, (B) botijão de nitrogênio líquido, (C) gral e pistilo



Fonte: Professor Diógenes Santiago Santos, Centro de Pesquisas Biológicas Molecular e Funcional (CP-BMF), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Figura 40 – Microcentrífuga utilizada para isolamento e purificação do mRNA



Fonte: Professor Diógenes Santiago Santos, Centro de Pesquisas Biológicas Molecular e Funcional (CP-BMF), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

3.4 Densidade ótica (DO):

A concentração de RNA foi analisada por espectrofotometria em 260nm ($1\text{DO}=30\mu\text{g/mL}$) e a sua pureza pela razão de 260/280, **Figura 41**. Amostras que apresentaram absorvância abaixo de 1,40 ou que não obtiveram uma concentração de 500ng de RNA, foram excluídas após serem reprocessadas por até 3 vezes. As

amostras que atingiram a concentração mínima de RNA foram novamente estocadas à -80°C .

Figura 41 – Espectrofotômetro utilizado para a realização da densidade ótica (DO)



Fonte: Professor Diógenes Santiago Santos, Centro de Pesquisas Biológicas Molecular e Funcional (CP-BMF), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

3.5 Transcrição reversa:

O cDNA foi sintetizado a partir de 500ng de RNA total e de acordo com o protocolo (High Capacity cDNA, Reverse Transcription Kit, Quiagen®), **Figura 42**.

O cDNA foi sintetizado a partir de 500 ng de RNA total isolado utilizando uma mistura reacional contendo Random Primers, dNTPs, Reverse Transcription Buffer, a enzima derivado do vírus da leucemia mielóide aviária (MultiScribe™ Reverse Transcriptase-50U/μL, TaqMan® Reverse Transcription Reagents, Roche Molecular) e Nuclease-free H₂O + RNA (paciente). A concentração final foi de aproximadamente 25 ng / mL de cDNA. A mistura contendo os reagentes para a transcrição reversa foi submetida a três diferentes temperaturas de aquecimento: 25 ° C durante 10 min, 48 ° C durante 30 min, e 95 ° C durante 5 minutos em um termociclador (Techne™ TC-412, Duxford, Cambridge, UK). O cDNA sintetizado foi armazenado à -20°C.

Figura 42 – Termociclador utilizado na transcrição reversa para formar o ácido desoxirribonucleico complementar (cDNA)



Fonte: Professor Diógenes Santiago Santos, Centro de Pesquisas Biológicas Molecular e Funcional (CP-BMF), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

3.6 PCR real time:

O PCR foi realizado utilizando-se placas de 96 poços, em que cada amostra para cada gene de interesse e para o gene endógeno utiliza um poço diferente. Cada amostra contém 4µL de cDNA, isto é, 100ng e 18,5µL de água MilliQ; e para a preparação do MIX (25µL) ,tanto para os genes escolhidos (2,5µL) como para o gene endógeno (2,5µL) beta-actina (Controles Endógenos Humanos, Applied Biosystems, Foster, CA, EUA), foi realizada uma mistura previamente preparada contendo Universal PCR Master Mix (TaqMan), primers e sondas com o marcador de fluorescência (Taq Man Gene Expression Assays-on-Demand, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) com corante FAM-MGB (Biossystems Aplicadas, Assay-on-Demand, Foster, CA, EUA). O volume final da reação para cada duplicata foi de 25µL. As condições de temperatura foram divididas em estágios: 30°C por 2min, 95°C por 10min, 50 ciclos à 95°C por 15 s, e 60°C por 1min. As amostras com a β-actina foi amplificado em paralelo com os genes de interesse, para a normatização das reações de RT. A expressão relativa foi calculada de acordo com o método delta-CT (413).

3.7 Sistema de estadiamento e classificação histopatológica:

O sistema de estadiamento utilizado para o câncer de próstata e para o carcinoma de células renais foi a Classificação TNM (Tumor, Nódulo, Metástase).

E a classificação histopatológica utilizada para o CaP foi o grau de escore de Gleason; e para o CCR, a graduação de Fuhrman.

3.8 Revisão de prontuários:

Foi utilizado um banco de dados informatizado no programa Microsoft Excel® para obter todos os dados dos pacientes, como sexo, idade, estadiamento e grau histológico.

3.9 Análise estatística:

Foi utilizado o programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS) v.21.

A expressão relativa das moléculas de interesse foi avaliada através do método delta-CT, que proferiu a variação dos genes-alvo nos tecidos em relação ao calibrador, ou seja, o tecido de controle normal ou tecido benigno (414). Os dados foram analisados por meio de testes não paramétricos como o Coeficiente de Correlação de Spearman. Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas na qual $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 PRÓSTATA

Estabelecemos a expressão relativa das diferentes enzimas e fatores de transcrição ETs do estudo (timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF, ETV4) no tecido prostático de 52 homens operados no Hospital São Lucas da PUCRS. Dentre estes, 31 amostras provinham de pacientes com hiperplasia benigna da próstata submetidos à ressecção endoscópica de próstata (RTUP) ou prostatectomia simples e 21 amostras de tecido provinham de pacientes com adenocarcinoma de próstata submetidos à prostatovesicuclectomia radical. Não conseguimos estabelecer a expressão da enzima uridina fosforilase-2 nas amostras de tecido benigno prostático e nem no CaP.

A média das idades dos pacientes com hiperplasia foi de 66,4 (+/- 10,4) anos, e a média das idades dos pacientes com adenocarcinoma de próstata foi de 62,9 (+/- 8,2) anos. Não houve diferença significativa entre as médias das idades dos dois grupos de pacientes ($p= 0,190$).

Na **Tabela 1** pode-se evidenciar as médias geométricas das expressões relativas das diferentes enzimas e fatores de transcrição ETs do estudo nas amostras de tecido prostático benigno e maligno. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias geométricas da expressão relativa da timidina fosforilase e uridina fosforilase 1 nos tecidos benignos e malignos. As médias geométricas da expressão relativa do PDEF e do ETV4 foram significativamente maiores nos tecidos malignos do que nos tecidos benignos (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 em amostras de tecido prostático benigno e maligno

	TECIDO BENIGNO (n=31) (média geométrica)	TECIDO TUMORAL (n=21) (média geométrica)	P Correlação de Spearman`s
TIMIDINA	0,0074	0,0066	0,79
URIDINA1	0,0013	0,0016	0,49
PDEF	0,0311	3,1696	<0,001
ETV4	0,0045	0,0276	<0,001

Na **Tabela 2** e na **Tabela 3** pode-se evidenciar a correlação entre as médias geométricas da expressão relativa das diferentes enzimas e fatores de transcrição ETs do estudo nas amostras de tecido prostático benigno e maligno, respectivamente, com a média geométrica dos valores de PSA pré-operatório. Não houve diferença estatisticamente significativa das médias geométricas da expressão relativa das diferentes enzimas e fatores de transcrição ETs do estudo nas amostras de tecido prostático benigno e maligno com as médias geométricas dos valores de PSA pré-operatório.

Tabela 2 – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 com as médias geométricas do PSA pré-operatório em amostras de tecido prostático benigno.

	PSA (tecido benigno) Correlação de Spearman`s	P
TIMIDINA (tecido benigno)	0,037	0,857
URIDINA 1 (tecido benigno)	0,375	0,710
PDEF (tecido benigno)	0,040	0,853
ETV4 (tecido benigno)	0,160	0,434

Tabela 3 – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 com as médias geométricas do PSA pré-operatório em amostras de tecido prostático maligno

	PSA (tecido tumoral) Correlação de Spearman`s	P
TIMIDINA (tecido tumoral)	0,461	0,084
URIDINA 1 (tecido tumoral)	0,059	0,840
PDEF (tecido tumoral)	-0,273	0,391
ETV4 (tecido tumoral)	-0,055	0,859

Timidina fosforilase:

Encontramos a expressão relativa desta enzima por RT-PCR em tempo real em 30/31 (96,8%) amostras dos pacientes com hiperplasia benigna e em todas as amostras dos pacientes com adenocarcinoma de próstata (21/21; 100%). A média geométrica da expressão relativa da timidina fosforilase nas amostras de hiperplasia benigna da próstata foi de 0,0074 e a média geométrica da expressão relativa desta enzima nas amostras de adenocarcinoma da próstata foi de 0,0066. A expressão relativa da média geométrica desta enzima nos pacientes com adenocarcinoma de próstata foi 12% menor que a expressão relativa da média geométrica desta enzima nos pacientes com hiperplasia prostática benigna. Não houve diferença estatística entre a expressão relativa das médias geométricas desta enzima entre os dois grupos ($p=0,79$; **Tabela 1**).

A correlação entre os valores das médias geométricas de PSA pré-operatório e as médias geométricas da expressão relativa da enzima timidina fosforilase nos tecidos benignos e malignos está demonstrada nas **Tabela 2** e **Tabela 3**, respectivamente. Nos casos de hiperplasia benigna, não houve correlação entre a média geométrica da expressão relativa da timidina fosforilase e a média geométrica do PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman`s = 0,037). Nos casos de adenocarcinoma de próstata houve uma correlação moderada entre a média geométrica da expressão relativa de timidina fosforilase e a média geométrica do

PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman's = 0,461). Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da expressão relativa desta enzima nos dois grupos com as médias geométricas do PSA pré-operatório nos dois tipos de tecidos ($p=0,857$ e $p=0,084$, respectivamente).

Dentre os casos de adenocarcinoma da próstata, não houve correlação entre o Gleason e a Classificação TNM da peça operatória e a expressão relativa da timidina fosforilase ($p=NS$)

Uridina fosforilase 1:

Encontramos a expressão relativa desta enzima por RT-PCR em tempo real em 28/31 (90,3%) amostras dos pacientes com hiperplasia benigna e em 20/21 (95,2%) amostras dos pacientes com adenocarcinoma de próstata. A média geométrica da expressão relativa da uridina fosforilase 1 nas amostras de hiperplasia benigna da próstata foi de 0,0013 e a média geométrica da expressão relativa desta enzima nas amostras de adenocarcinoma da próstata foi de 0,0016. A expressão relativa da média geométrica dos pacientes com adenocarcinoma de próstata foi 26% maior que a expressão relativa da média geométrica dos pacientes com hiperplasia prostática benigna. Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da expressão relativa desta enzima entre os tecidos benigno e maligno ($p=0,49$; **Tabela 1**).

A correlação entre os valores das médias geométricas de PSA pré-operatório e as médias geométricas da expressão relativa da enzima uridina fosforilase 1 nos tecidos benignos e malignos está demonstrada nas **Tabela 2** e **Tabela 3**, respectivamente. Nos casos de hiperplasia benigna houve uma correlação moderada entre a média geométrica da expressão relativa da uridina fosforilase 1 e a média geométrica do PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman's = 0,375). Nos casos de adenocarcinoma de próstata não houve correlação entre a média geométrica da expressão relativa de uridina fosforilase 1 e a média geométrica do PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman's = 0,059). Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da expressão relativa desta enzima nos dois grupos com a média geométrica do PSA nos dois tipos de tecido ($p=0,071$ e $p=0,840$, respectivamente).

Dentre os casos de adenocarcinoma da próstata, não houve correlação entre o Gleason da peça operatória e a expressão relativa da uridina fosforilase 1 ($p=NS$). Na Classificação TNM, a média geométrica da expressão relativa da uridina fosforilase 1 nas amostras de tumor T3 foi de 0,0008 e a média geométrica da expressão relativa desta enzima nas amostras de tumor T1 e T2 foi de 0,0024; a média geométrica da expressão relativa dos pacientes com tumor T3 foi 65% menor e 2,84 vezes menor que a expressão relativa da média geométrica dos pacientes com tumor T1 e T2. Houve diferença estatística entre as médias geométricas de expressão relativa desta enzima entre os tumores maligno T3 X T1 e T2 ($p=0,032$).

PDEF:

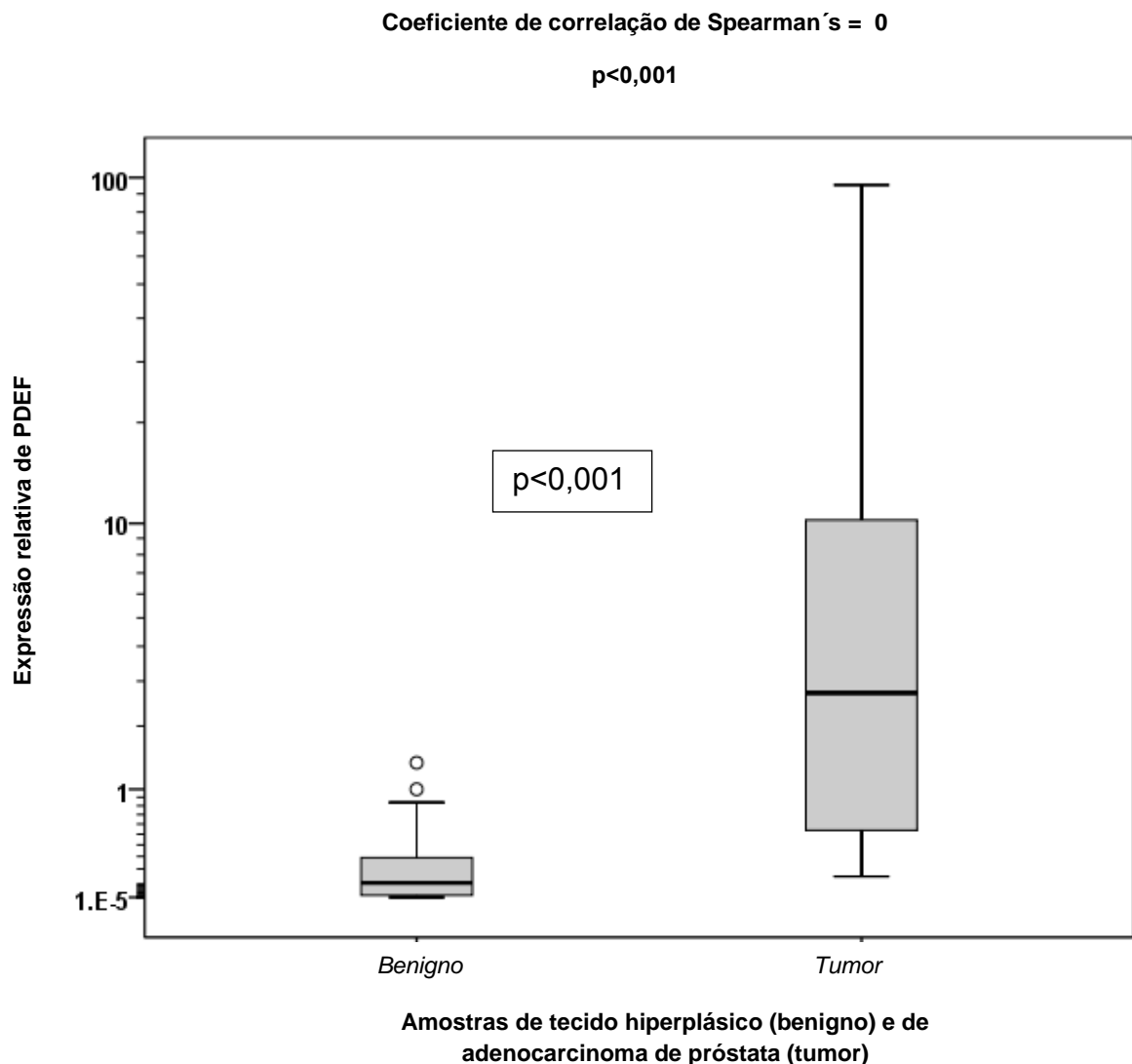
Encontramos a expressão relativa deste fator de transcrição ETs por RT-PCR em tempo real em 28/31 (90,3%) das amostras dos pacientes com hiperplasia benigna e em 18/21 (85,7 %) das amostras dos pacientes com adenocarcinoma de próstata. A média geométrica da expressão relativa do PDEF nas amostras de hiperplasia benigna da próstata foi de 0,0311 e a média geométrica da expressão relativa do PDEF nas amostras de adenocarcinoma da próstata foi de 3,1696. A expressão relativa entre a média geométrica dos pacientes com adenocarcinoma de próstata foi 102 vezes maior que a expressão relativa entre a média geométrica dos pacientes com hiperplasia prostática benigna. Houve diferença estatisticamente significativa entre as médias geométricas da expressão relativa deste fator de transcrição ETs nos tecidos benigno e maligno ($p<0,001$; **Tabela 1 e Gráfico 1**).

A correlação entre os valores das médias geométricas do PSA pré-operatório e as médias geométricas da expressão relativa do fator de transcrição PDEF nos tecidos benignos e malignos está demonstrada nas **Tabela 2 e Tabela 3**, respectivamente. Nos casos de hiperplasia benigna não houve correlação entre a média geométrica da expressão relativa do fator de transcrição PDEF e a média geométrica do PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman's = 0,040). Nos casos de adenocarcinoma de próstata também não houve correlação entre a média geométrica da expressão relativa do fator de transcrição PDEF e a média geométrica do PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman's = -0,273). Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da expressão

relativa deste fator de transcrição ETs nos dois grupos com as médias geométricas do PSA pré-operatório nos dois tipos de tecidos ($p=0,853$ e $p=0,391$, respectivamente).

Dentre os casos de adenocarcinoma da próstata, não houve correlação entre o Gleason da peça operatória e a expressão relativa do fator de transcrição PDEF ($p=NS$) e entre a Classificação TNM e a expressão relativa do fator de transcrição PDEF ($p=NS$).

Gráfico 1 – Correlação da média geométrica da expressão relativa do PDEF nos pacientes com adenocarcinoma de próstata com a média geométrica da expressão relativa do PDEF nos pacientes com hiperplasia prostática benigna



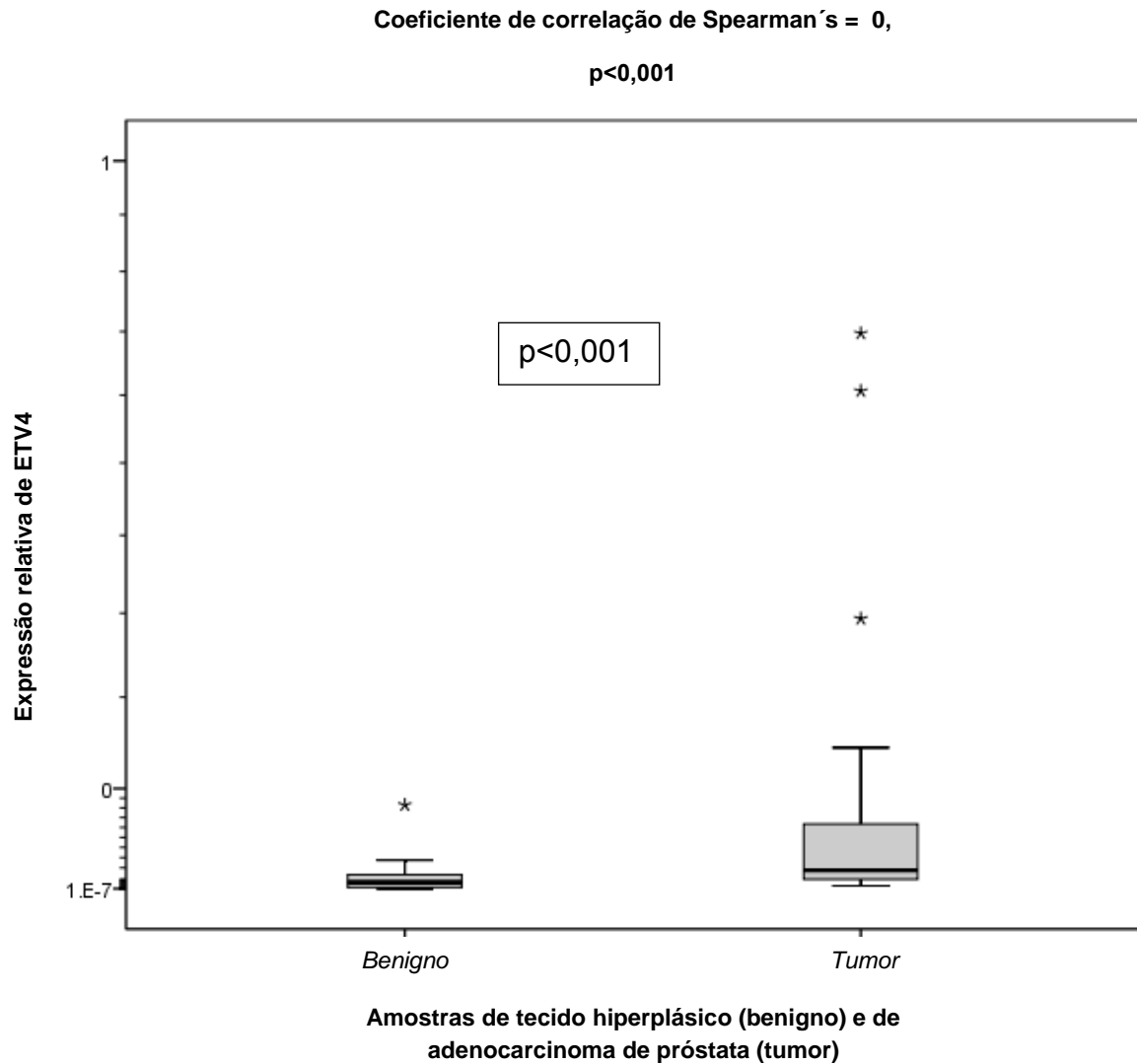
ETV4:

Encontramos a expressão relativa deste fator de transcrição ETs por RT-PCR em tempo real em 30/31 (96,8%) amostras dos pacientes com hiperplasia benigna e em (19/21; 90,5%) amostras dos pacientes com adenocarcinoma de próstata. A média geométrica da expressão relativa do ETV4 nas amostras de hiperplasia benigna da próstata foi de 0,0045 e a média geométrica da expressão relativa do ETV4 nas amostras de adenocarcinoma da próstata foi de 0,0276. A expressão relativa da média geométrica dos pacientes com adenocarcinoma de próstata foi 6,1 vezes maior que a expressão relativa da média geométrica dos pacientes com hiperplasia prostática benigna. Houve diferença estatisticamente significativa entre as médias geométricas da expressão relativa deste fator de transcrição ETs nos tecidos benigno e maligno ($p < 0,001$; **Tabela 1 e Gráfico 2**).

A correlação entre os valores das médias geométricas do PSA pré-operatório e as médias geométricas da expressão relativa do fator de transcrição ETV4 nos tecidos benignos e malignos está demonstrada na **Tabela 2** e **Tabela 3**, respectivamente. Nos casos de hiperplasia benigna não houve correlação entre a média geométrica da expressão relativa do fator de transcrição ETV4 e a média geométrica do PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman's = 0,160). Nos casos de adenocarcinoma de próstata também não houve correlação entre a média geométrica da expressão relativa do fator de transcrição ETV4 e a média geométrica do PSA pré-operatório (Coeficiente de correlação de Spearman's = -0,055). Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da expressão relativa deste fator de transcrição ETs nos dois grupos com as médias geométricas do PSA pré-operatório nos dois tipos de tecido ($p = 0,434$ e $p = 0,859$, respectivamente).

Dentre os casos de adenocarcinoma da próstata, não houve correlação entre o Gleason da peça operatória e a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 ($p = \text{NS}$) nem entre a Classificação TNM e a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 ($p = \text{NS}$)

Gráfico 2 – Correlação da expressão relativa da média geométrica do ETV4 nos pacientes com adenocarcinoma de próstata com a expressão relativa da média geométrica do ETV4 nos pacientes com hiperplasia prostática benigna



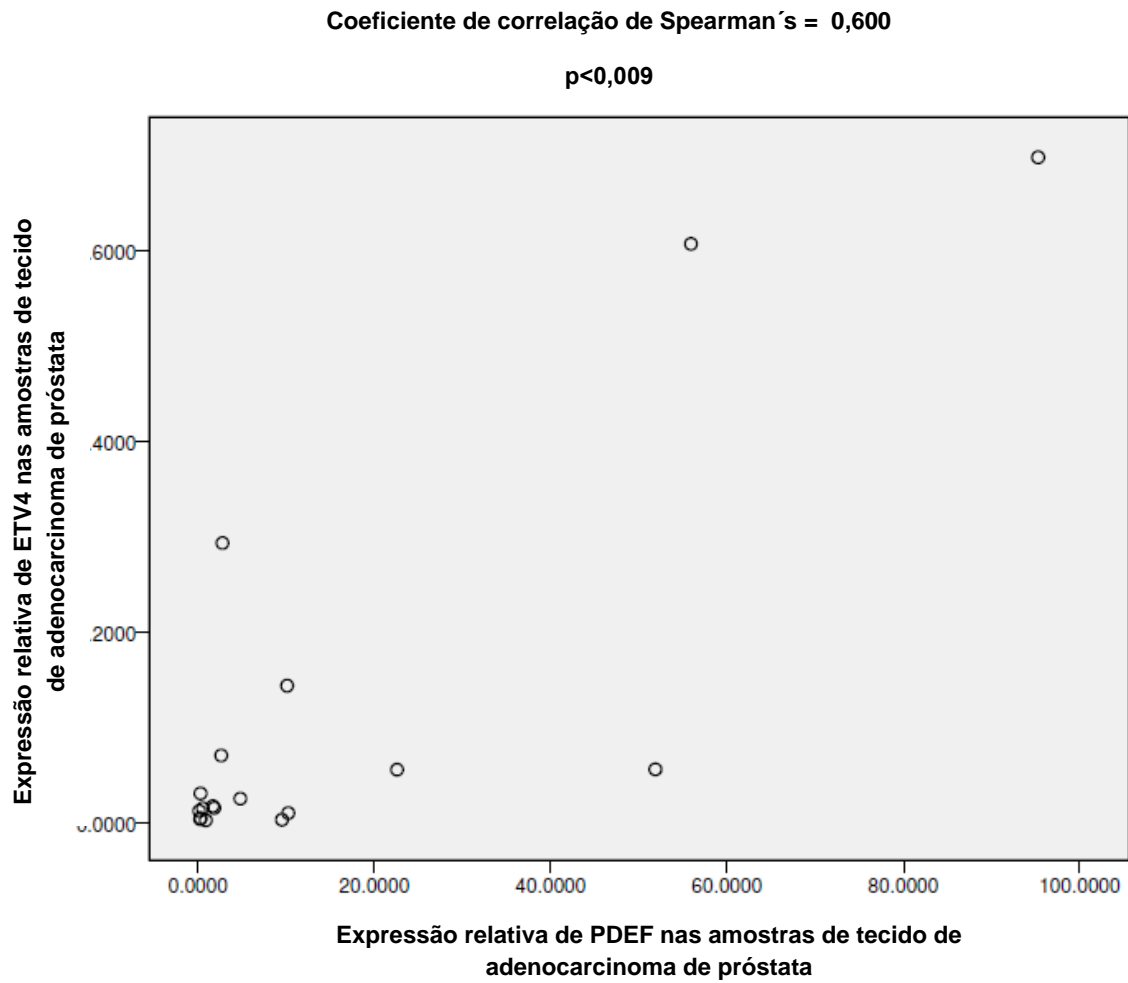
Houve correlação entre as expressões relativas das enzimas timidina fosforilase e uridina fosforilase-1, tanto nos tecidos de hiperplasia prostática benigna como no adenocarcinoma de próstata. A expressão relativa da enzima timidina fosforilase e a expressão relativa da uridina fosforilase 1 nos tecidos benignos apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's fortemente igual a 0,620; e nos tecidos malignos apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's fortemente igual a 0,574. Houve diferença estatística entre as expressões relativas destas

enzimas nos casos de hiperplasia benigna e nos casos de adenocarcinoma de próstata ($p < 0,001$ e $p = 0,008$, respectivamente).

Houve correlação entre as expressões relativas da enzima timidina fosforilase com as expressões relativas dos fatores de transcrição PDEF e ETV4, nos tecidos de hiperplasia prostática benigna. A expressão relativa da enzima timidina fosforilase e a expressão relativa do fator de transcrição PDEF nos tecidos benignos apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's moderado e igual a 0,351. A expressão relativa da enzima timidina fosforilase e a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 nos tecidos benignos apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's moderado e igual a 0,394. Não houve diferença estatística entre a expressão relativas desta enzima com o fator de transcrição ETs PDEF nos casos de hiperplasia prostática benigna ($p = 0,067$). E houve diferença estatística significativa entre a expressão relativas desta enzima com o fator de transcrição ETs ETV4 nos casos de hiperplasia prostática benigna ($p = 0,035$).

Houve correlação entre as expressões relativas dos fatores de transcrição PDEF e ETV4, tanto nos tecidos de hiperplasia prostática benigna (**Gráfico 3**) como no adenocarcinoma de próstata (**Gráfico 4**). A expressão relativa do fator de transcrição PDEF e a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 nos tecidos benignos apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's muito forte e igual a 0,918; e nos tecidos malignos apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's fortemente igual a 0,600. Houve diferença estatística entre as expressões relativas destes fatores de transcrição ETs nos casos de hiperplasia benigna e nos casos de adenocarcinoma de próstata ($p < 0,001$ e $p = 0,009$, respectivamente).

Gráfico 4 – Correlação da expressão relativa do fator de transcrição PDEF e a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 nos tecidos de adenocarcinoma de próstata



4.2 RIM

Estabelecemos a expressão relativa das diferentes enzimas e fatores de transcrição ETs do estudo (timidina fosforilase, uridina fosforilase-1, PDEF, ETV4) no tecido tumoral de rim e tecido adjacente ao tumor de 14 pacientes, sendo 5 (35,7%) do sexo feminino e 9 (64,3%) do sexo masculino, operados no Hospital São Lucas da PUCRS. Todas as amostras provinham de pacientes submetidos à nefrectomia parcial ou radical. Não conseguimos estabelecer a expressão da enzima uridina fosforilase-2 nas amostras de tecido benigno renal nem no CCR..

A média das idades dos pacientes foi de 57 anos (+/- 10,5). Na **Tabela 4** pode-se evidenciar as médias geométricas da expressão relativa das diferentes enzimas do estudo nas amostras de tecido renal benigno e maligno. Não houve diferença estatisticamente significativa na expressão relativa das médias geométricas da timidina fosforilase, uridina fosforilase-1, PDEF e do ETV4 nos tecidos benignos e malignos.

Tabela 4 – Correlação entre a expressão relativa das médias geométricas de timidina fosforilase, uridina fosforilase 1, PDEF e ETV4 em amostras de tecido renal benigno e maligno

	TECIDO BENIGNO (n=14) Correlação de Spearman`s	TECIDO TUMORAL (n=14) Correlação de Spearman`s	P
TIMIDINA	0,0091	0,0148	0,19
URIDINA-1	0,0329	0,0361	0,68
PDEF	0,0001	0,0001	0,59
ETV4	0,0067	0,0029	0,25

Timidina fosforilase:

Encontramos a expressão relativa desta enzima por RT-PCR em tempo real em todas as amostras de tecido adjacente ao tumor (14/14; 100%) e em todas as amostras de tumores renais (14/14; 100%) de todos os pacientes submetidos a nefrectomia parcial e radical. A média geométrica da expressão relativa da timidina

fosforilase nas amostras de tecido adjacente ao tumor foi de 0,0091 e a média geométrica da expressão desta enzima nas amostras de tumores renais foi de 0,0148. A expressão relativa da média geométrica desta enzima no tumor renal foi 62% maior que a expressão relativa da média geométrica da enzima no tecido adjacente ao tumor. Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da expressão relativa desta enzima nos tecidos benigno e tumoral ($p=0,19$; **Tabela 4 e Gráfico 5**).

Nos casos de carcinoma de células claras de rim, não houve correlação entre a expressão relativa da timidina fosforilase e o grau de Fuhrman

A expressão relativa da enzima timidina fosforilase e a Classificação TNM nos casos de carcinoma de células renais apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's fortemente igual a 0,547. Houve diferença estatística entre a expressão relativa desta enzima com a Classificação TNM nos casos de CCR ($p=0,043$ **Gráfico 6**).

Gráfico 5 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de timidina fosforilase nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor

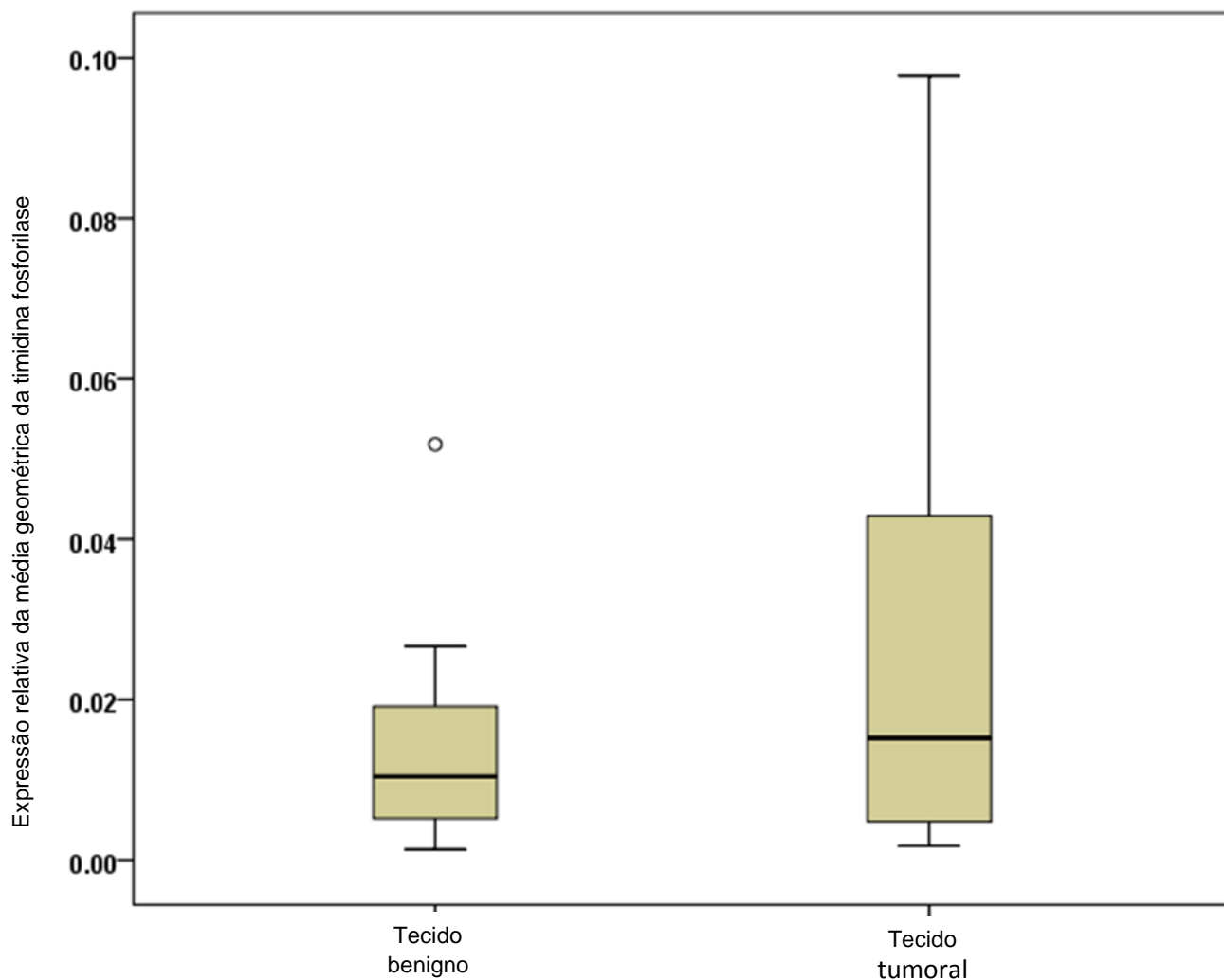
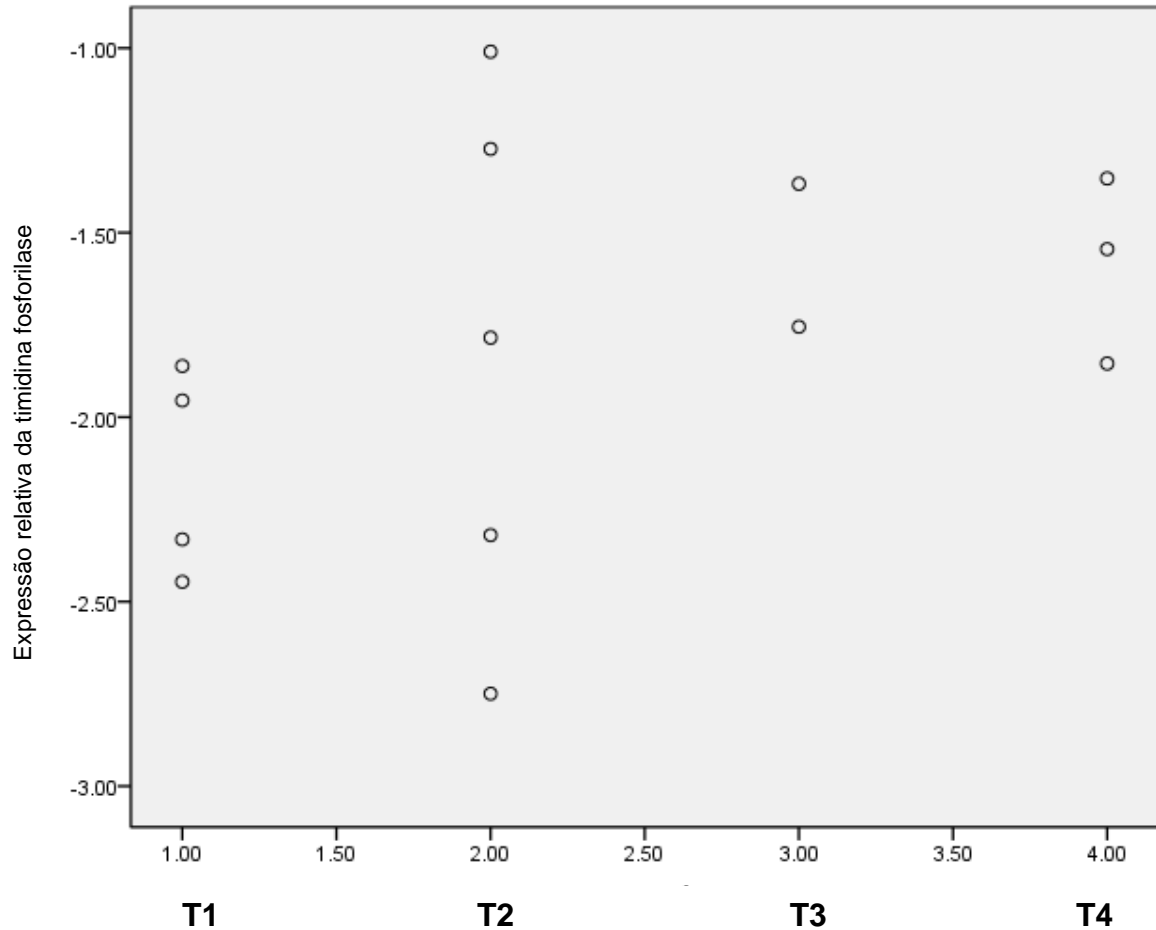


Gráfico 6 – Correlação entre a expressão relativa da enzima timidina fosforilase e a Classificação TNM



Uridina fosforilase 1:

Encontramos a expressão relativa desta enzima por RT-PCR em tempo real em todas as amostras de tecido adjacente ao tumor (14/14; 100%) e em todas as amostras de tumores renais (14/14; 100%) de todos os pacientes submetidos a nefrectomia parcial e radical. A média geométrica da expressão relativa da uridina fosforilase 1 nas amostras de tecido adjacente ao tumor foi de 0,0329 e a média geométrica da expressão relativa desta enzima nas amostras de tumores renais foi de 0,0361. A expressão relativa da média geométrica desta enzima no tumor renal foi 10% maior que a expressão relativa da média geométrica da enzima no tecido adjacente ao tumor. Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da

expressão relativa desta enzima nos tecidos benigno e tumoral ($p=0,68$; **Tabela 4 e Gráfico 7**).

Nos casos de carcinoma de células renais, não houve correlação entre a expressão relativa da uridina fosforilase 1 e o grau de Fuhrman. A expressão relativa da enzima uridina fosforilase e a Classificação TNM nos casos de carcinoma de células renais apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's negativo, muito forte e igual a $-0,721$. Houve diferença estatística entre a expressão relativa desta enzima com a Classificação TNM nos casos de CCR ($p=0,004$; **Gráfico 8**).

Gráfico 7 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de uridina fosforilase 1 nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor

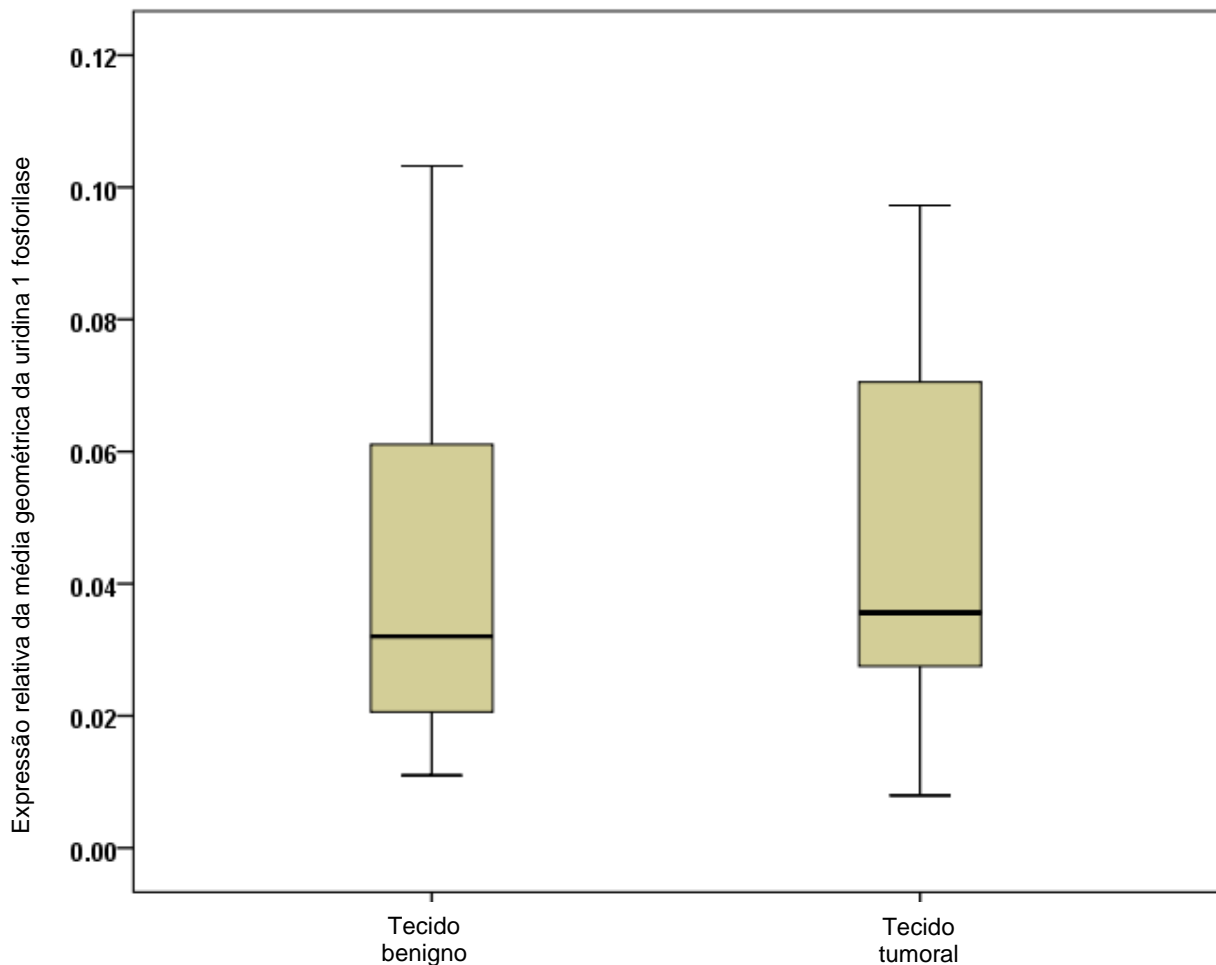
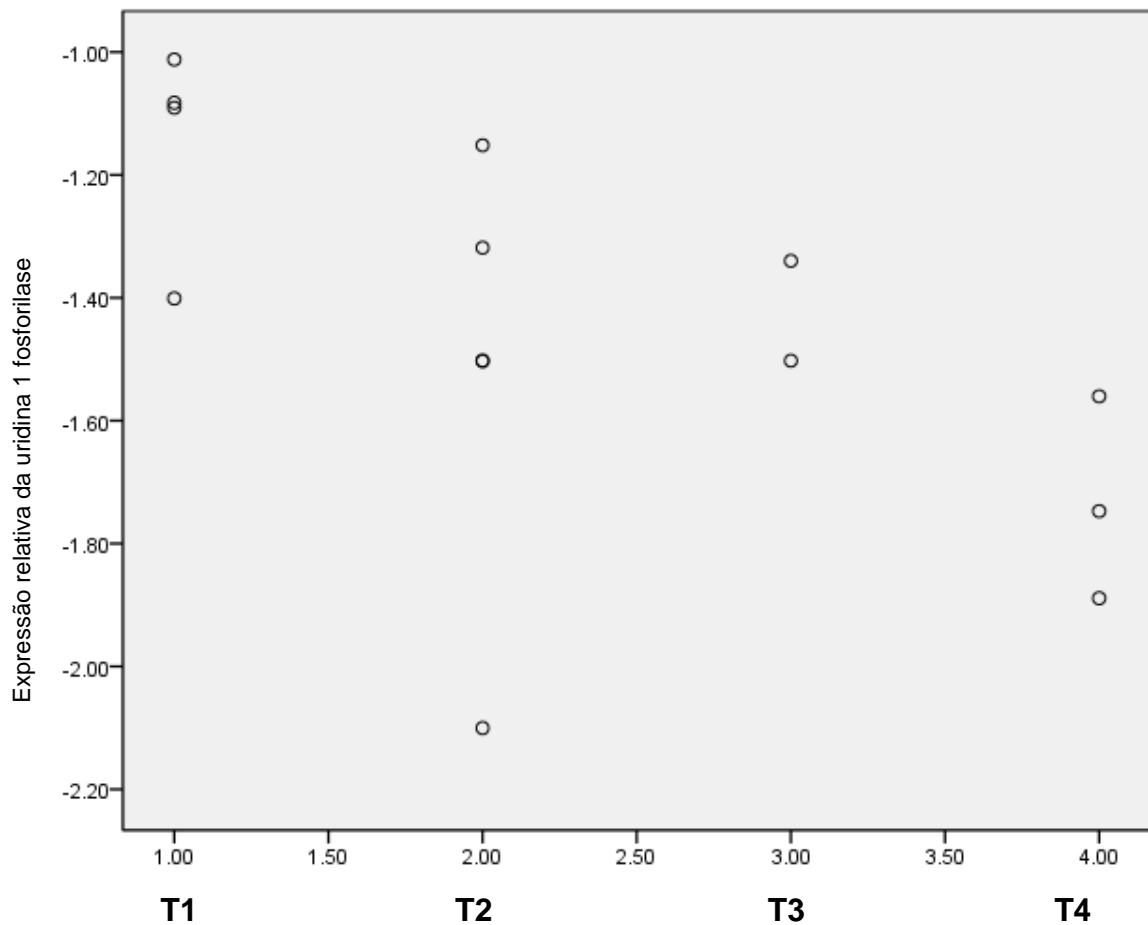


Gráfico 8 – Correlação negativa entre a expressão relativa da enzima uridina fosforilase 1 e a Classificação TNM



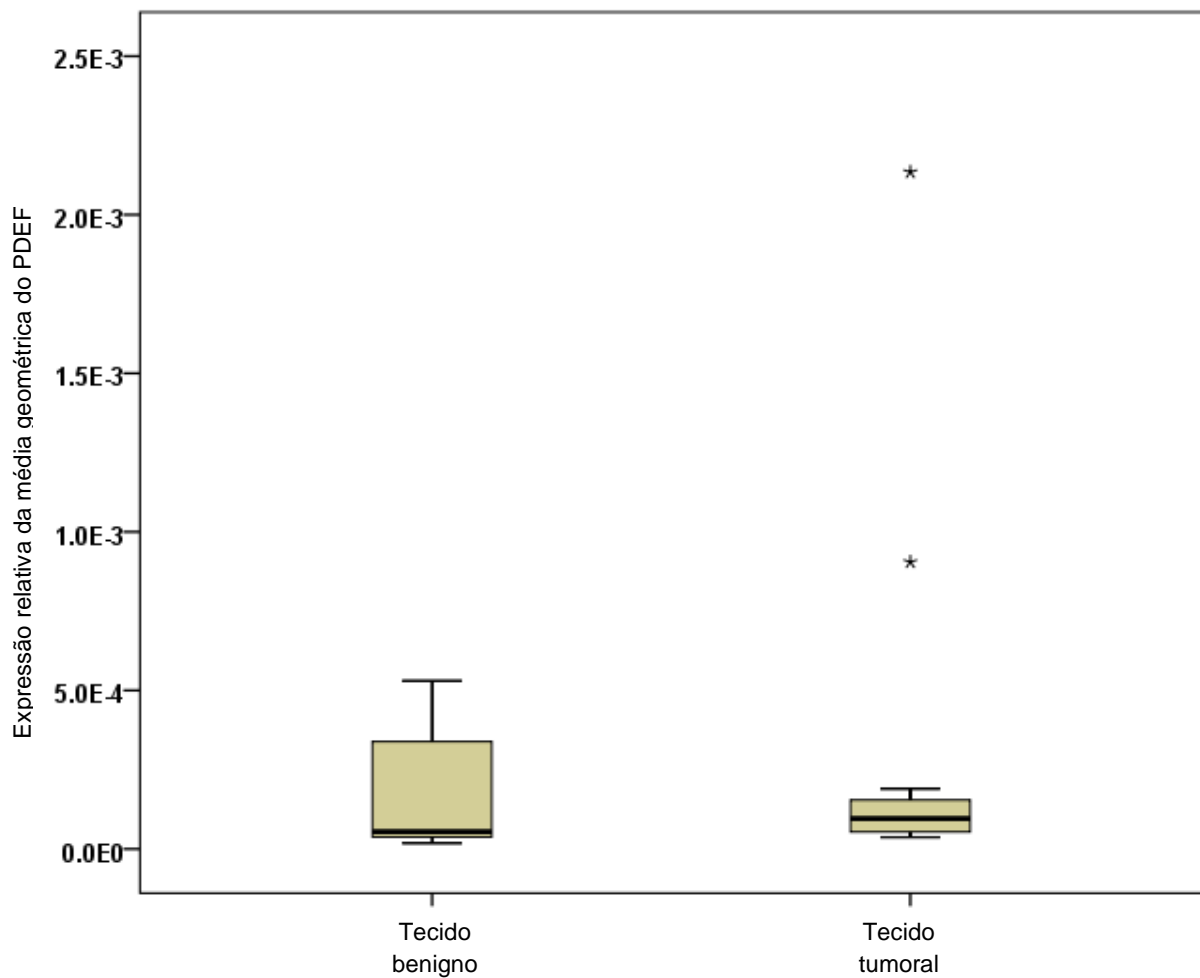
PDEF:

Encontramos a expressão relativa deste fator de transcrição ETs por RT-PCR em tempo real em 11 das amostras de tecido adjacente ao tumor (11/14; 78,6%) e em 13 amostras de tumores renais (13/14; 92,8%) de todos os pacientes submetidos a nefrectomia parcial e radical. A média geométrica da expressão relativa do PDEF nas amostras de tecido adjacente ao tumor foi de ~0,0001 e a média geométrica da expressão relativa do PDEF nas amostras de tumores renais foi de ~0,0001. A expressão relativa da média geométrica deste fator de transcrição no tumor renal foi 39% maior que a expressão relativa da média geométrica deste fator de transcrição no tecido adjacente ao tumor. Não houve diferença estatística entre as médias

geométricas da expressão relativa deste fator de transcrição ETs nos tecidos benigno e tumoral ($p=0,59$; **Tabela 4 e Gráfico 9**).

Nos casos de carcinoma de células renais, não houve correlação entre a expressão relativa de PDEF e o grau de Fuhrman. Dentre os casos de carcinoma de células renais, não houve correlação entre a expressão relativa de PDEF e o estadiamento do tumor.

Gráfico 9 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de PDEF nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor



ETV4:

Encontramos a expressão relativa deste fator de transcrição ETs por RT-PCR em tempo real em todas as amostras de tecido adjacente ao tumor (14/14; 100%) e em 12 amostras de tumores renais (12/14; 85,7%) de todos os pacientes submetidos a nefrectomia parcial e radical. A média geométrica da expressão relativa do ETV4 nas amostras de tecido adjacente ao tumor foi de 0,0067 e a média geométrica da expressão relativa do ETV4 nas amostras de tumores renais foi de 0,0029. A expressão relativa da média geométrica deste fator de transcrição ETs no tumor renal foi 56% menor que a expressão relativa da média geométrica deste fator de transcrição ETs no tecido adjacente ao tumor. Não houve diferença estatística entre as médias geométricas da expressão relativa deste fator de transcrição ETs nos tecidos benigno e tumoral ($p=0,25$; **Tabela 4** e **Gráfico 10**).

Nos casos de carcinoma de células renais, não houve correlação entre a expressão relativa de ETV4 e o grau de Fuhrman. A expressão relativa do fator de transcrição ETV4 e a Classificação TNM nos casos de carcinoma de células renais apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's negativo e forte (-0,606). Houve diferença estatística entre a expressão relativa deste fator de transcrição com a Classificação TNM nos casos de CCR ($p=0,037$; **Gráfico 11**).

Houve correlação entre as expressões relativas do fator de transcrição ETV4 com as expressões relativas da enzima uridina fosforilase, nos tecidos de carcinoma de células renais. A expressão relativa do fator de transcrição ETV4 e a expressão relativa da enzima uridina fosforilase nos tecidos de CCR apresentaram um Coeficiente de correlação de Spearman's fortemente igual a 0,622. Não houve diferença estatística entre as expressões relativas deste fator de transcrição ETs com a enzima uridina fosforilase nos casos de CCR ($p=0,031$).

Gráfico 10 – Correlação da expressão relativa da média geométrica de ETV4 nos pacientes com carcinoma de células renais com o tecido adjacente ao tumor

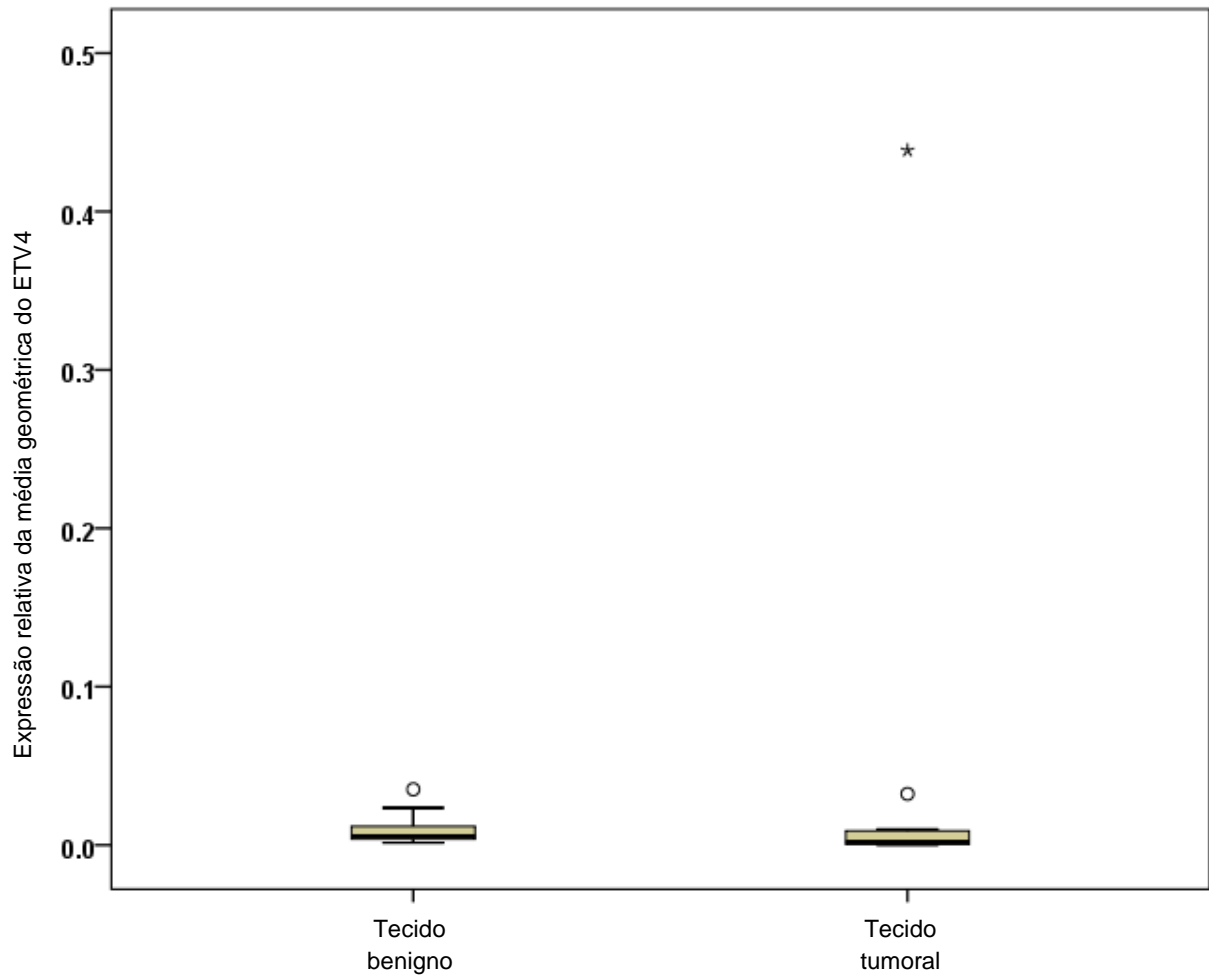
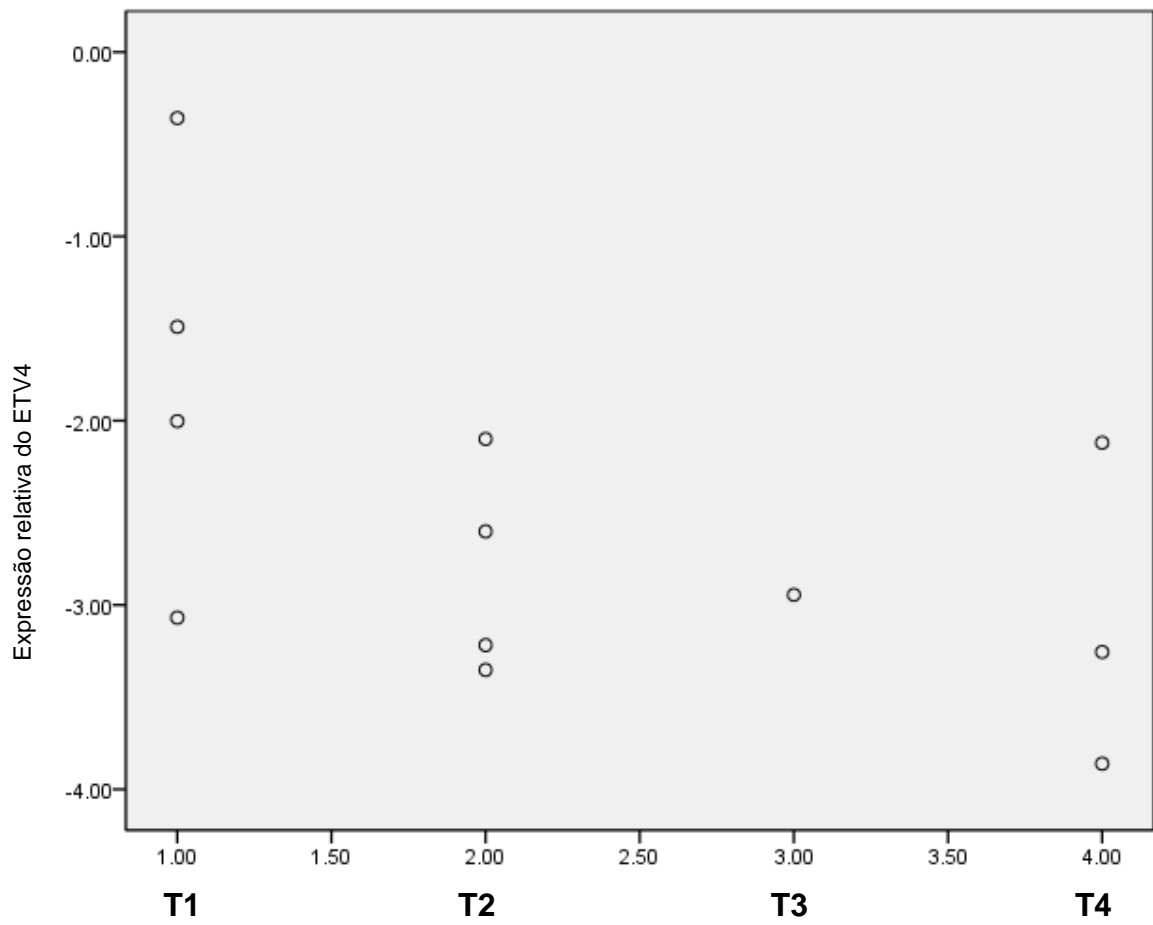


Gráfico 11 – Correlação entre a expressão relativa do fator de transcrição ETV4 e a Classificação TNM



5 DISCUSSÃO:

A técnica por nós escolhida para avaliar a expressão relativa das enzimas TP, UP 1 e 2 e os fatores de transcrição (ETs) PDEF e ETV4 foi o RT-PCR em tempo real, que já é uma técnica padronizada no laboratório, e que tem sido utilizada clinicamente para a detecção de marcadores tumorais e para a análise da expressão de pequenas amostras com uma capacidade de detecção na ordem de picogramas, sendo bastante acurada. Em comparação a outros métodos como, por exemplo, o Northernblotting, o RT-PCR tem sido adotado universalmente devido a sua superioridade com relação à rapidez, sensibilidade, reprodutibilidade e disponibilidade de instrumentação e reagentes (414), (415).

Neste estudo não encontramos correlação entre a média geométrica da expressão relativa da TP entre os tecidos benigno e maligno no CaP nem no CCR, mesmo a expressão relativa da média geométrica do tumor diferente da do tecido benigno. Porém, a literatura relata que a expressão de TP pode induzir a angiogênese e a progressão tumoral, como no câncer de próstata, cólon, pâncreas, ovário, bexiga, carcinoma de células renais, câncer de mama e gástrico (187), (206), (416), (417). A superexpressão de TP também está associada com invasão celular e metástases em vários tumores como: gástrico, colorretal, renal, pancreático, pulmão de células não pequenas e ovário (187). Além de ser correlacionada com densidade microvascular em quase todos os tumores de próstata (185).

Também não encontramos neste estudo a correlação entre a média geométrica da expressão relativa da UP entre os tecidos benigno e maligno no CaP nem no CCR, mesmo a expressão relativa da média geométrica do tumor ser maior que a do benigno. Neste caso, a literatura relata que na avaliação das atividades de UP em amostras de tumores como mama, cólon, rim, pulmão, fígado, ovário e intestino, em relação ao tecido adjacente benigno, a UP foi de duas à três vezes mais elevada em tumores quando comparado ao tecido normal, e com significância para tumores de mama e cólon (231), (232). Porém em outro estudo, não foi encontrado diferenças nas expressões de UP em tumores com relação ao tecido benigno (231), (418).

Encontramos uma correlação moderada entre PSA e TP nos tecidos tumorais de próstata; e uma correlação moderada também entre PSA e UP nos tecidos hiperplásicos prostáticos, porém sem significância. O interessante é que o tecido onde estas enzimas apresentaram uma maior expressão é o mesmo tecido em que

elas se correlacionam com o PSA. O que pode justificar é o fato do PSA poder estar aumentado tanto na hiperplasia prostática como no CaP e por isso as enzimas TP e UP se correlacionaram com o PSA em tecidos diferentes, mas isso também demonstra que existe alguma via ou mecanismo responsável pela ligação entre estas enzimas quando aumentadas com o PSA. Ao mesmo tempo, a utilização do PSA como forma de triagem para o CaP é complicada pelo fato dele também ser produzido pelo epitélio benigno da próstata, na hipertrofia prostática benigna e infecções da próstata, isso resulta em limitações tanto em sensibilidade como em especificidade (351), (419), (420).

A expressão relativa da TP se correlacionar fortemente com a expressão relativa de UP, tanto no tecido benigno como no tumoral de próstata ($p < 0,001$ e $p < 0,008$, respectivamente), era esperado porque ambas são enzimas fosforilases e que atuam na via de salvamento de nucleosídeos (181).

No tecido benigno prostático, a expressão relativa de TP também se correlacionou moderadamente com a expressão relativa de PDEF e igualmente com ETV4, sendo neste último significativo ($p = 0,035$). Acreditamos que como o tecido hiperplásico é benigno, não ocorreram alterações significativas nestas enzimas e fatores de transcrição ou os mesmos podem ser regulados por vias relacionadas neste tecido.

Nos CaP não encontramos correlação entre a expressão relativa de TP e graus do escore de Gleason ou Classificação TNM, como a maioria dos estudos que não encontraram correlação entre o CaP e estágio ou grau do tumor com TP (227). No entanto, no CCR houve uma correlação forte e significativa ($p = 0,043$). Em estudos de imuno-histoquímica de câncer de colorretal, a expressão de TP em células do estroma foi associada com bom prognóstico; já em câncer de mama foi associada à mau prognóstico (421-423). Provavelmente esta enzima varie de expressão de acordo com o tipo de tecido, como no caso de tumores infiltrados por macrófagos que demonstram uma superexpressão de TP (424). Já a UP no CaP apresentou a expressão relativa da média geométrica 63% ou 2,8 vezes menor em tumores T3 com relação à T1 e T2, ($p = 0,032$); e no CCR a UP apresentou um coeficiente de correlação muito forte e negativo ($p = 0,004$). Isso se deve ao fato que tumores T3 no CaP possuem invasão extra-prostática, e no CCR se estende às grandes veias ou invade a suprarrenal e os tecidos perirrenais, e a UP não está associada a nenhuma atividade angiogênica devido a limitada atividade catalítica em desoxirribunucleotídeos (192), (240).

Os fatores de transcrição Ets são considerados alvos difíceis porque possuem pobre atividade enzimática, a regulação de seus genes alvo é complexa e existe nas ligações uma ampla rede de proteínas parceiras e necessárias para as suas funções (1). No entanto, encontramos correlação entre a média geométrica da expressão relativa dos fatores de transcrição ETs de PDEF e ETV4 entre os tecidos benigno e maligno no CaP ($p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente). E a expressão relativa da média geométrica do PDEF foi 102 vezes maior no tecido maligno prostático em relação ao benigno, enquanto que no ETV4 foi 6,09 vezes maior no tecido maligno prostático em relação ao benigno. Muitos artigos relatam que a expressão de PDEF é diminuída a medida que o tumor se torna mais agressivo e invasivo, se correlacionando com estadiamento e grau tumoral, como no câncer de próstata, mama, ovário e cólon (261), (279), (283), (285), (288). Porém o inverso também é demonstrado em câncer de próstata, mama e ovário, sendo sugerido até uma atividade supressora de tumor para PDEF (261), (285), (326-329). O coeficiente de correlação entre os dois fatores de transcrição no tecido benigno prostático foi muito forte com $p < 0,001$, e o coeficiente de correlação no tecido maligno prostático foi forte com $p = 0,009$; isso comprova que ambos são fatores de transcrição multifuncionais e que podem atuar em vias que se correlacionam, como as das metaloproteinases que leva a migração, invasão celular e metástases.

Uma observação importante em relação ao PDEF é que os níveis de expressão do mRNA e os níveis de proteína do mesmo, podem não se correlacionar, isto é, o aumento da expressão do mRNA do PDEF embora preciso, pode não refletir o nível de expressão de proteína no laboratório ou em amostras clínicas (261), (425). Estudos sugerem que ele seja regulado a nível de transcrição e pós-tradução, além da regulação via miRNAs (micro RNAs) que já está descrito na literatura (261), (276), (285).

Também se sabe que a incidência de CaP relacionada com idade, raça, hábitos alimentares, poluição do meio ambiente e outros fatores podem levar uma maior taxa de fusão de genes (426). Já é bem estabelecido que os fatores PEA3 estão envolvidos nos tumores de próstata e de Ewing, bem como em outros tumores, como uma consequência de translocações cromossômicas por exemplo (262).

Entre as sinalizações chaves frequentemente desreguladas em CaP avançado, a via de PI3-kinase e a do Ras são as que estão alteradas em 40% dos tumores primários

e em 90% dos tumores metastáticos, e a atividade combinatória das duas sinalizações promove metástases de CaP através da ativação de ETV4 (427), (428). Surpreendentemente, no CCR a correlação negativa do ETV4 com a Classificação TNM foi forte e significativa ($p=0,037$), embora estudos com câncer de mama em humanos, afirmam existir uma correlação positiva entre a superexpressão de ETV4 com a superexpressão de HER2/Neu, grau do tumor e alta recorrência (262). Contudo, outros dois estudos não acharam nenhuma correlação entre ETV4, câncer de mama e efeitos adversos clínicos patológicos (262), (429), (430).

Como não há um consenso ainda se ETV4 estimula ou reprime a via HER2/Neu, é sugerido que a superexpressão de ETV4 pode substituir fatores ETs que são mais ativos à zona promotora do gene, ou o ETV4 poderia estar sequestrando determinados co-ativadores e isso faria com que o gene HER2/Neu fosse reprimido em vez de estimulado.

Como a UP e o ETV4 ambos fortemente correlacionaram-se de forma negativa e significativa, conseqüentemente o ETV4 no CCR também se correlacionou forte e significativamente de forma positiva com UP ($p=0,031$). Isso demonstra que a falta ou diminuição de ETV4 leva a alguma alteração renal que repercute no desenvolvimento de tumor, bem como a diminuição de UP que deixa de atuar na regulação homeostática do rim ou uma maior produção de uridina formada poderia atuar de forma a danificar o rim.

Atualmente não há um consenso para saber que gene de fusão está mais correlacionado com CaP mais agressivo, ou se os tumores de próstata com translocações são mais ou menos letais do que aqueles sem translocações (23), (262). Essa falta de conhecimento também é questionada nos CCR.

Cabe salientar ainda que para o melhor entendimento destes mecanismos moleculares, todos os procedimentos envolvidos, desde a coleta até o processamento final, podem afetar a qualidade da amostra biológica (97).

Existem várias variáveis envolvidas que podem interferir nas diferentes fases do estudo, como nas fases de aquisição pré-tecidual e pós-tecidual. A primeira se refere a variáveis durante o procedimento cirúrgico, como: anoxia e mudanças no pH local devido à anestesia, embolização ou aglutinação de artérias, variações da pressão arterial sistêmica, e perda de sangue intra-operatória. Todos representam eventos de estresse que pode alterar o estado de fosforilação de várias moléculas, como timidina fosforilase e uridina fosforilase, e induzir a ativação ou desativação de

vias moleculares. A manipulação é feita colocando-se a amostra o mais rápido possível em frasco estéril e com líquido livre de DNase, sob condições de gelo; a temperatura é muito importante e o armazenamento deve ser à -80°C após a amostra ser congelada em nitrogênio líquido, por exemplo. Isto assegura a transcrição dos genes e evita a degradação do DNA e RNA (97).

Maiores estudos são necessários para definir o papel dessas enzimas e fatores de transcrição como potenciais alvos terapêuticos no câncer de próstata e rim.

6 CONCLUSÕES:

- A análise da média geométrica da expressão relativa do mRNA das enzimas TP e UP 1, e dos fatores de transcrição PDEF e ETV4 em espécimes de carcinoma de próstata e de hiperplasia prostática benigna demonstrou que ambas enzimas estão muito frequentemente expressas tanto nos tecidos tumorais quanto benignos da próstata. A enzima UP 2 não demonstrou expressão em ambos tecidos prostáticos.
- As médias geométricas da expressão relativa do mRNA dos fatores de transcrição PDEF e ETV4 foram superiores nos tecidos tumorais com relação aos tecidos benignos nas amostras de próstata. Não houve diferenças significativas nas expressões das enzimas TP, UP-1, entre os tecidos tumorais (CaP) e os tecidos de hiperplasia prostática benigna. A TP no tecido benigno prostático apresentou uma correlação com PSA pré-operatório e a UP 1 apresentou uma correlação com o PSA pré-operatório no tecido tumoral prostático, ambos não foram significativos. PDEF e ETV4 não apresentaram correlação com PSA pré-operatório. A enzima UP 1 foi a única a apresentar uma correlação e de forma significativa com a Classificação TNM, sendo menor em tumores T3 com relação à T2 e T1. As enzimas TP e UP 1 se correlacionaram de forma significativa, tanto nos tecidos benignos como nos tumorais de próstata. A TP também se correlacionou com PDEF de forma não significativa, e com ETV4 de forma significativa, ambos nos tecidos benignos. E os fatores de transcrição PDEF e ETV4 se correlacionaram de forma significativa em ambos os tecidos de próstata.
- A análise da média geométrica da expressão relativa do mRNA das enzimas TP e UP- 1, e dos fatores de transcrição PDEF e ETV4 em espécimes de carcinoma de células renais e de tecidos adjacentes ao tumor demonstrou que ambas enzimas estão muito frequentemente expressas tanto nos tecidos tumorais quanto nos tecidos benignos do rim. A UP 2 não demonstrou expressão em ambos tecidos renais.
- As médias geométricas da expressão relativa do mRNA das enzimas TP e UP1 e do fator de transcrição PDEF foram superiores nos tecidos tumorais com relação aos tecidos benignos nas amostras de rim, ao contrário do fator de transcrição ETV4 que foi maior no tecido benigno em relação ao tecido

renal maligno. Não houve diferenças significativas na expressão das enzimas TP, UP 1 e fatores de transcrição PDEF e ETV4, entre os tecidos tumorais e os tecidos benignos renais. Houve correlação positiva da TP e ETV4 com a Classificação TNM, e uma correlação negativa de ETV4 com a Classificação TNM, todas de forma significativas. A UP também demonstrou correlação positiva e significativa com ETV4.

REFERÊNCIAS

1. LEITZMANN, M. F.; ROHRMANN, S. Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioral correlates. **Clin Epidemiol**, v. 4, p. 1-11, 2012. ISSN 1179-1349. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22291478>>.
2. JEMAL, A. et al. Global cancer statistics. **CA Cancer J Clin**, v. 61, n. 2, p. 69-90, 2011 Mar-Apr 2011. ISSN 1542-4863. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296855>>.
3. FELGUEIRAS, J.; SILVA, J. V.; FARDILHA, M. Prostate cancer: the need for biomarkers and new therapeutic targets. **J Zhejiang Univ Sci B**, v. 15, n. 1, p. 16-42, Jan 2014. ISSN 1862-1783. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24390742>>.
4. www.cancer.org/cancer
5. www1.inca.gov.br.
6. CAZARES, L. H. et al. Molecular pathology of prostate cancer. **Cancer Biomark**, v. 9, n. 1-6, p. 441-59, 2010. ISSN 1875-8592. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22112489>>.
7. COHEN, R. J. et al. Central zone carcinoma of the prostate gland: a distinct tumor type with poor prognostic features. **J Urol**, v. 179, n. 5, p. 1762-7; discussion 1767, May 2008. ISSN 1527-3792. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18343454>>.
8. SHANNON, B. A.; MCNEAL, J. E.; COHEN, R. J. Transition zone carcinoma of the prostate gland: a common indolent tumour type that occasionally manifests aggressive behaviour. **Pathology**, v. 35, n. 6, p. 467-71, Dec 2003. ISSN 0031-3025. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14660095>>.
9. ABBAS, F. et al. Small cell carcinoma of the bladder and prostate. **Urology**, v. 46, n. 5, p. 617-30, Nov 1995. ISSN 0090-4295. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7495110>>.
10. ZHAO, J.; EPSTEIN, J. I. High-grade foamy gland prostatic adenocarcinoma on biopsy or transurethral resection: a morphologic study of 55 cases. **Am J Surg Pathol**, v. 33, n. 4, p. 583-90, Apr 2009. ISSN 1532-0979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19033862>>.
11. BOTTICELLI, A. R. et al. Paneth and argyrophil cells in prostatic carcinoma. **Br J Urol**, v. 69, n. 5, p. 544-5, May 1992. ISSN 0007-1331. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1623391>>.

12. HENRY, P. C.; EVANS, A. J. Intraductal carcinoma of the prostate: a distinct histopathological entity with important prognostic implications. **J Clin Pathol**, v. 62, n. 7, p. 579-83, Jul 2009. ISSN 1472-4146. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19246509> >.
13. MOSQUERA, J. M. et al. Morphological features of TMPRSS2-ERG gene fusion prostate cancer. **J Pathol**, v. 212, n. 1, p. 91-101, May 2007. ISSN 0022-3417. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17385188> >.
14. PANER, G. P.; LUTHRINGER, D. J.; AMIN, M. B. Best practice in diagnostic immunohistochemistry: prostate carcinoma and its mimics in needle core biopsies. **Arch Pathol Lab Med**, v. 132, n. 9, p. 1388-96, Sep 2008. ISSN 1543-2165. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18788849> >.
15. EPSTEIN, J. I. et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. **Am J Surg Pathol**, v. 29, n. 9, p. 1228-42, Sep 2005. ISSN 0147-5185. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16096414> >.
16. www.prostate.com/patient/DiagnosisAndTreatment/ProstateCancerDiagnosis.aspx.
17. LESLIE H. SOBIN, L. H., GOSPODAROWICZ, M.K., WITTEKIND, C. **THE TNM CLASSIFICATION OF MALIGNANT TUMOURS 7TH EDITION**. 7TH Edition. 2009.
18. DA SILVA, H. B. et al. Dissecting Major Signaling Pathways throughout the Development of Prostate Cancer. **Prostate Cancer**, v. 2013, p. 920612, 2013. ISSN 2090-3111. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23738079> >.
19. FRANK, S. B.; MIRANTI, C. K. Disruption of prostate epithelial differentiation pathways and prostate cancer development. **Front Oncol**, v. 3, p. 273, 2013. ISSN 2234-943X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24199173> >.
20. www.pcf.org.
21. ALBRIGHT, F. et al. Significant evidence for a heritable contribution to cancer predisposition: a review of cancer familiarity by site. **BMC Cancer**, v. 12, p. 138, 2012. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22471249> >.
22. MAZARIS, E.; TSIOTRAS, A. Molecular Pathways in Prostate Cancer. **Nephrourol Mon**, v. 5, n. 3, p. 792-800, Jul 2013. ISSN 2251-7006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24282788> >.

23. CLARK, J. P.; COOPER, C. S. ETS gene fusions in prostate cancer. **Nat Rev Urol**, v. 6, n. 8, p. 429-39, Aug 2009. ISSN 1759-4820. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19657377> >.
24. SMITH, J. R. et al. Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search. **Science**, v. 274, n. 5291, p. 1371-4, Nov 1996. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8910276> >.
25. CANCEL-TASSIN, G. et al. PCAP is the major known prostate cancer predisposing locus in families from south and west Europe. **Eur J Hum Genet**, v. 9, n. 2, p. 135-42, Feb 2001. ISSN 1018-4813. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11313747> >.
26. BERTHON, P. et al. Predisposing gene for early-onset prostate cancer, localized on chromosome 1q42.2-43. **Am J Hum Genet**, v. 62, n. 6, p. 1416-24, Jun 1998. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9585607> >.
27. XU, J. et al. Evidence for a prostate cancer susceptibility locus on the X chromosome. **Nat Genet**, v. 20, n. 2, p. 175-9, Oct 1998. ISSN 1061-4036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9771711> >.
28. GIBBS, M. et al. Evidence for a rare prostate cancer-susceptibility locus at chromosome 1p36. **Am J Hum Genet**, v. 64, n. 3, p. 776-87, Mar 1999. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10053012> >.
29. REBBECK, T. R. et al. Association of HPC2/ELAC2 genotypes and prostate cancer. **Am J Hum Genet**, v. 67, n. 4, p. 1014-9, Oct 2000. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10986046> >.
30. SUAREZ, B. K. et al. A genome screen of multiplex sibships with prostate cancer. **Am J Hum Genet**, v. 66, n. 3, p. 933-44, Mar 2000. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10712208> >.
31. CHANG, B. L. et al. Joint effect of HSD3B1 and HSD3B2 genes is associated with hereditary and sporadic prostate cancer susceptibility. **Cancer Res**, v. 62, n. 6, p. 1784-9, Mar 2002. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11912155> >.
32. XU, J. et al. Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. **Nat Genet**, v. 32, n. 2, p. 321-5, Oct 2002. ISSN 1061-4036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12244320> >.
33. DEJAGER, S. et al. Dominant negative mutations of the scavenger receptor. Native receptor inactivation by expression of truncated variants. **J Clin Invest**, v. 92, n. 2, p. 894-902, Aug 1993. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8349824> >.

34. DEMUTH, I. et al. An inducible null mutant murine model of Nijmegen breakage syndrome proves the essential function of NBS1 in chromosomal stability and cell viability. **Hum Mol Genet**, v. 13, n. 20, p. 2385-97, Oct 2004. ISSN 0964-6906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15333589> >.
35. CYBULSKI, C. et al. A novel founder CHEK2 mutation is associated with increased prostate cancer risk. **Cancer Res**, v. 64, n. 8, p. 2677-9, Apr 2004. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15087378> >.
36. DONG, X. et al. Mutations in CHEK2 associated with prostate cancer risk. **Am J Hum Genet**, v. 72, n. 2, p. 270-80, Feb 2003. ISSN 0002-9297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12533788> >.
37. CYBULSKI, C. et al. NBS1 is a prostate cancer susceptibility gene. **Cancer Res**, v. 64, n. 4, p. 1215-9, Feb 2004. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14973119> >.
38. JONES, P. A.; LAIRD, P. W. Cancer epigenetics comes of age. **Nat Genet**, v. 21, n. 2, p. 163-7, Feb 1999. ISSN 1061-4036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9988266> >.
39. KNUDSON, A. G. Genetic predisposition to cancer. **Cancer Detect Prev**, v. 7, n. 1, p. 1-8, 1984. ISSN 0361-090X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6367981> >.
40. NAVONE, N. M. et al. p53 mutations in prostate cancer bone metastases suggest that selected p53 mutants in the primary site define foci with metastatic potential. **J Urol**, v. 161, n. 1, p. 304-8, Jan 1999. ISSN 0022-5347. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10037428> >.
41. VOELLER, H. J. et al. p53 oncogene mutations in human prostate cancer specimens. **J Urol**, v. 151, n. 2, p. 492-5, Feb 1994. ISSN 0022-5347. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7904314> >.
42. GRIGNON, D. J. et al. p53 status and prognosis of locally advanced prostatic adenocarcinoma: a study based on RTOG 8610. **J Natl Cancer Inst**, v. 89, n. 2, p. 158-65, Jan 1997. ISSN 0027-8874. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8998185> >.
43. ROGLER, A. et al. P53 codon 72 (Arg72Pro) polymorphism and prostate cancer risk: association between disease onset and proline genotype. **Pathobiology**, v. 78, n. 4, p. 193-200, 2011. ISSN 1423-0291. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21778786> >.
44. FEILOTTER, H. E. et al. Analysis of PTEN and the 10q23 region in primary prostate carcinomas. **Oncogene**, v. 16, n. 13, p. 1743-8, Apr 1998. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9582022> >.

45. SUZUKI, H. et al. Interfocal heterogeneity of PTEN/MMAC1 gene alterations in multiple metastatic prostate cancer tissues. **Cancer Res**, v. 58, n. 2, p. 204-9, Jan 1998. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9443392> >.
46. WANG, S. I.; PARSONS, R.; ITTMANN, M. Homozygous deletion of the PTEN tumor suppressor gene in a subset of prostate adenocarcinomas. **Clin Cancer Res**, v. 4, n. 3, p. 811-5, Mar 1998. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9533551> >.
47. SUN, H. et al. PTEN modulates cell cycle progression and cell survival by regulating phosphatidylinositol 3,4,5,-triphosphate and Akt/protein kinase B signaling pathway. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 96, n. 11, p. 6199-204, May 1999. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10339565> >.
48. HAIMAN, C. A. et al. Common genetic variation at PTEN and risk of sporadic breast and prostate cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 15, n. 5, p. 1021-5, May 2006. ISSN 1055-9965. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16702386> >.
49. XIE, C. C. et al. Germ-line sequence variants of PTEN do not have an important role in hereditary and non-hereditary prostate cancer susceptibility. **J Hum Genet**, v. 56, n. 7, p. 496-502, Jul 2011. ISSN 1435-232X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21633361> >.
50. COTE, R. J. et al. Association of p27Kip1 levels with recurrence and survival in patients with stage C prostate carcinoma. **J Natl Cancer Inst**, v. 90, n. 12, p. 916-20, Jun 1998. ISSN 0027-8874. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9637141> >.
51. DE MARZO, A. M. et al. Prostate stem cell compartments: expression of the cell cycle inhibitor p27Kip1 in normal, hyperplastic, and neoplastic cells. **Am J Pathol**, v. 153, n. 3, p. 911-9, Sep 1998. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9736039> >.
52. CHEVILLE, J. C. et al. Expression of p27kip1 in prostatic adenocarcinoma. **Mod Pathol**, v. 11, n. 4, p. 324-8, Apr 1998. ISSN 0893-3952. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9578081> >.
53. GUO, Y. et al. Loss of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(Kip1) protein in human prostate cancer correlates with tumor grade. **Clin Cancer Res**, v. 3, n. 12 Pt 1, p. 2269-74, Dec 1997. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9815624> >.
54. KIBEL, A. S. et al. Loss of heterozygosity at 12P12-13 in primary and metastatic prostate adenocarcinoma. **J Urol**, v. 164, n. 1, p. 192-6, Jul 2000. ISSN 0022-5347. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10840458> >.

55. BUBENDORF, L. et al. Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by high-throughout fluorescence in situ hybridization on tissue microarrays. **Cancer Res**, v. 59, n. 4, p. 803-6, Feb 1999. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10029066> >.
56. VAN DEN BERG, C. et al. DNA sequence amplification in human prostate cancer identified by chromosome microdissection: potential prognostic implications. **Clin Cancer Res**, v. 1, n. 1, p. 11-8, Jan 1995. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9815882> >.
57. CHEN, H. et al. NKX-3.1 interacts with prostate-derived Ets factor and regulates the activity of the PSA promoter. **Cancer Res**, v. 62, n. 2, p. 338-40, Jan 2002. ISSN 0008-5472. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11809674> >.
58. BOWEN, C. et al. Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. **Cancer Res**, v. 60, n. 21, p. 6111-5, Nov 2000. ISSN 0008-5472. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11085535> >.
59. ITTMANN, M. M.; WIECZOREK, R. Alterations of the retinoblastoma gene in clinically localized, stage B prostate adenocarcinomas. **Hum Pathol**, v. 27, n. 1, p. 28-34, Jan 1996. ISSN 0046-8177. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8543307> >.
60. PHILLIPS, S. M. et al. Loss of the retinoblastoma susceptibility gene (RB1) is a frequent and early event in prostatic tumorigenesis. **Br J Cancer**, v. 70, n. 6, p. 1252-7, Dec 1994. ISSN 0007-0920. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7526887> >.
61. COONEY, K. A. et al. Distinct regions of allelic loss on 13q in prostate cancer. **Cancer Res**, v. 56, n. 5, p. 1142-5, Mar 1996. ISSN 0008-5472. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8640774> >.
62. LI, C. et al. Identification of two distinct deleted regions on chromosome 13 in prostate cancer. **Oncogene**, v. 16, n. 4, p. 481-7, Jan 1998. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9484837> >.
63. BOWEN, C.; SPIEGEL, S.; GELMANN, E. P. Radiation-induced apoptosis mediated by retinoblastoma protein. **Cancer Res**, v. 58, n. 15, p. 3275-81, Aug 1998. ISSN 0008-5472. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9699655> >.
64. NELSON, W. G. et al. Preneoplastic prostate lesions: an opportunity for prostate cancer prevention. **Ann N Y Acad Sci**, v. 952, p. 135-44, Dec 2001. ISSN 0077-8923. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11795433> >.
65. LEE, W. H. et al. Cytidine methylation of regulatory sequences near the pi-class glutathione S-transferase gene accompanies human prostatic carcinogenesis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 91, n. 24, p. 11733-7, Nov

1994. ISSN 0027-8424. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7972132> >.
66. MILLAR, D. S. et al. Detailed methylation analysis of the glutathione S-transferase pi (GSTP1) gene in prostate cancer. **Oncogene**, v. 18, n. 6, p. 1313-24, Feb 1999. ISSN 0950-9232. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10022813> >.
67. NARLA, G. et al. KLF6, a candidate tumor suppressor gene mutated in prostate cancer. **Science**, v. 294, n. 5551, p. 2563-6, Dec 2001. ISSN 0036-8075. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11752579>>.
68. CHEN, C. et al. Deletion, mutation, and loss of expression of KLF6 in human prostate cancer. **Am J Pathol**, v. 162, n. 4, p. 1349-54, Apr 2003. ISSN 0002-9440. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12651626>>.
69. JARRARD, D. F. et al. Deletional, mutational, and methylation analyses of CDKN2 (p16/MTS1) in primary and metastatic prostate cancer. **Genes Chromosomes Cancer**, v. 19, n. 2, p. 90-6, Jun 1997. ISSN 1045-2257. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9171999> >.
70. YASUDA, H. et al. ATBF1, a multiple-homeodomain zinc finger protein, selectively down-regulates AT-rich elements of the human alpha-fetoprotein gene. **Mol Cell Biol**, v. 14, n. 2, p. 1395-401, Feb 1994. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7507206> >.
71. LIU, J. W. et al. Annexin II expression is reduced or lost in prostate cancer cells and its re-expression inhibits prostate cancer cell migration. **Oncogene**, v. 22, n. 10, p. 1475-85, Mar 2003. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12629510> >.
72. XIN, W. et al. Dysregulation of the annexin family protein family is associated with prostate cancer progression. **Am J Pathol**, v. 162, n. 1, p. 255-61, Jan 2003. ISSN 0002-9440. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12507908>>.
73. NUPPONEN, N. N. et al. Genetic alterations in hormone-refractory recurrent prostate carcinomas. **Am J Pathol**, v. 153, n. 1, p. 141-8, Jul 1998. ISSN 0002-9440. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9665474>>.
74. SATO, K. et al. Clinical significance of alterations of chromosome 8 in high-grade, advanced, nonmetastatic prostate carcinoma. **J Natl Cancer Inst**, v. 91, n. 18, p. 1574-80, Sep 1999. ISSN 0027-8874. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10491435> >.
75. SANCHEZ, K. M. et al. Evaluation of HER-2/neu expression in prostatic adenocarcinoma: a requested for a standardized, organ specific methodology. **Cancer**, v. 95, n. 8, p. 1650-5, Oct 2002. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12365012> >.

76. SIGNORETTI, S. et al. Her-2-neu expression and progression toward androgen independence in human prostate cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 92, n. 23, p. 1918-25, Dec 2000. ISSN 0027-8874. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11106683> >.
77. LARA, P. N. et al. HER-2/neu is overexpressed infrequently in patients with prostate carcinoma. Results from the California Cancer Consortium Screening Trial. **Cancer**, v. 94, n. 10, p. 2584-9, May 2002. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12173324> >.
78. CALVO, B. F. et al. Human epidermal receptor-2 expression in prostate cancer. **Clin Cancer Res**, v. 9, n. 3, p. 1087-97, Mar 2003. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12631612> >.
79. CATZ, S. D.; JOHNSON, J. L. BCL-2 in prostate cancer: a minireview. **Apoptosis**, v. 8, n. 1, p. 29-37, Jan 2003. ISSN 1360-8185. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12510149> >.
80. TOMLINS, S. A. et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. **Science**, v. 310, n. 5748, p. 644-8, Oct 2005. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16254181> >.
81. HERMANS, K. G. et al. Truncated ETV1, fused to novel tissue-specific genes, and full-length ETV1 in prostate cancer. **Cancer Res**, v. 68, n. 18, p. 7541-9, Sep 2008. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18794142> >.
82. ILJIN, K. et al. TMPRSS2 fusions with oncogenic ETS factors in prostate cancer involve unbalanced genomic rearrangements and are associated with HDAC1 and epigenetic reprogramming. **Cancer Res**, v. 66, n. 21, p. 10242-6, Nov 2006. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17079440> >.
83. TOMLINS, S. A. et al. TMPRSS2:ETV4 gene fusions define a third molecular subtype of prostate cancer. **Cancer Res**, v. 66, n. 7, p. 3396-400, Apr 2006. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16585160> >.
84. HERMANS, K. G. et al. Two unique novel prostate-specific and androgen-regulated fusion partners of ETV4 in prostate cancer. **Cancer Res**, v. 68, n. 9, p. 3094-8, May 2008. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18451133> >.
85. HELGESON, B. E. et al. Characterization of TMPRSS2:ETV5 and SLC45A3:ETV5 gene fusions in prostate cancer. **Cancer Res**, v. 68, n. 1, p. 73-80, Jan 2008. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18172298> >.

86. LARKIN, S.; KYPRIANOU, N. Molecular signatures in urologic tumors. **Int J Mol Sci**, v. 14, n. 9, p. 18421-36, 2013. ISSN 1422-0067. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24018887>>.
87. HODGE, K. K.; MCNEAL, J. E.; STAMEY, T. A. Ultrasound guided transrectal core biopsies of the palpably abnormal prostate. **J Urol**, v. 142, n. 1, p. 66-70, Jul 1989. ISSN 0022-5347. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2659826>>.
88. ARORA, R. et al. Heterogeneity of Gleason grade in multifocal adenocarcinoma of the prostate. **Cancer**, v. 100, n. 11, p. 2362-6, Jun 2004. ISSN 0008-543X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15160339>>.
89. ESKICORAPCI, S. Y.; TUNCAY, L. Re: Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: a systematic review. K. Eichler, S. Hempel, J. Wilby, L. Myers, L. M. Bachmann and J. Kleijnen, **J Urol**, 175: 1605-1612, 2006. **J Urol**, v. 176, n. 6 Pt 1, p. 2745; author reply 2745-6, Dec 2006. ISSN 0022-5347. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17085209>>.
90. TEFEKLI, A.; TUNC, M. Future prospects in the diagnosis and management of localized prostate cancer. **ScientificWorldJournal**, v. 2013, p. 347263, 2013. ISSN 1537-744X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24163619>>.
91. HEIDENREICH, A. et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. **Eur Urol**, v. 59, n. 1, p. 61-71, Jan 2011. ISSN 1873-7560. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21056534>>.
92. GITTES, R. F. Carcinoma of the prostate. **N Engl J Med**, v. 324, n. 4, p. 236-45, Jan 1991. ISSN 0028-4793. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1985245>>.
93. STERNBERG, C. N. Systemic chemotherapy and new experimental approaches in the treatment of metastatic prostate cancer. **Ann Oncol**, v. 19 Suppl 7, p. vii91-5, Sep 2008. ISSN 1569-8041. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18790987>>.
94. KARANIKOLAS, B. D.; FIGUEIREDO, M. L.; WU, L. Comprehensive evaluation of the role of EZH2 in the growth, invasion, and aggression of a panel of prostate cancer cell lines. **Prostate**, v. 70, n. 6, p. 675-88, May 2010. ISSN 1097-0045. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20087897>>.
95. AHMED, K. A. et al. Progress in gene therapy for prostate cancer. **Front Oncol**, v. 2, p. 172, 2012. ISSN 2234-943X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23181221>>.

96. FUKUHARA, H.; HOMMA, Y.; TODO, T. Oncolytic virus therapy for prostate cancer. **Int J Urol**, v. 17, n. 1, p. 20-30, Jan 2010. ISSN 1442-2042. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19832925>>.
97. DI NAPOLI, A.; SIGNORETTI, S. Tissue biomarkers in renal cell carcinoma: issues and solutions. **Cancer**, v. 115, n. 10 Suppl, p. 2290-7, May 2009. ISSN 0008-543X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19402057>>.
98. KIM, D. S. et al. Panel of candidate biomarkers for renal cell carcinoma. **J Proteome Res**, v. 9, n. 7, p. 3710-9, Jul 2010. ISSN 1535-3907. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20455597>>.
99. JEMAL, A. et al. Cancer statistics, 2006. **CA Cancer J Clin**, v. 56, n. 2, p. 106-30, 2006 Mar-Apr 2006. ISSN 0007-9235. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16514137>>.
100. CHO, D. C.; ATKINS, M. B. Future directions in renal cell carcinoma: 2011 and beyond. **Hematol Oncol Clin North Am**, v. 25, n. 4, p. 917-35, Aug 2011. ISSN 1558-1977. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21763974>>.
101. CURADO MP, E. B., SHIN HR, ET AL. **Cancer incidence in five continent**. Lyon (France): 2007.
102. LIPWORTH, L.; TARONE, R. E.; MCLAUGHLIN, J. K. Renal cell cancer among African Americans: an epidemiologic review. **BMC Cancer**, v. 11, p. 133, 2011. ISSN 1471-2407. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21486465>>.
103. JEMAL, A. et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2005, featuring trends in lung cancer, tobacco use, and tobacco control. **J Natl Cancer Inst**, v. 100, n. 23, p. 1672-94, Dec 2008. ISSN 1460-2105. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19033571>>.
104. JEMAL, A. et al. Cancer statistics, 2010. **CA Cancer J Clin**, v. 60, n. 5, p. 277-300, 2010 Sep-Oct 2010. ISSN 1542-4863. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20610543>>.
105. SUN, M. et al. Age-adjusted incidence, mortality, and survival rates of stage-specific renal cell carcinoma in North America: a trend analysis. **Eur Urol**, v. 59, n. 1, p. 135-41, Jan 2011. ISSN 1873-7560. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21035250>>.
106. www.uroweb.org/guidelines
107. LEVI, F. et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. **BJU Int**, v. 101, n. 8, p. 949-58, Apr 2008. ISSN 1464-410X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18241251>>.

108. CAIRNS, P. Renal cell carcinoma. **Cancer Biomark**, v. 9, n. 1-6, p. 461-73, 2010. ISSN 1875-8592. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22112490>>.
109. CHOW, W. H.; DONG, L. M.; DEVESA, S. S. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. **Nat Rev Urol**, v. 7, n. 5, p. 245-57, May 2010. ISSN 1759-4820. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20448658>>.
110. MOORE, L. E.; WILSON, R. T.; CAMPLEMAN, S. L. Lifestyle factors, exposures, genetic susceptibility, and renal cell cancer risk: a review. **Cancer Invest**, v. 23, n. 3, p. 240-55, 2005. ISSN 0735-7907. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15945510>>.
111. LYNCH, C. F.; COHEN, M. B. Urinary system. **Cancer**, v. 75, n. 1 Suppl, p. 316-29, Jan 1995. ISSN 0008-543X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8001003>>.
112. www.sbu.com.br
113. PAVLOVICH, C. P.; SCHMIDT, L. S.; PHILLIPS, J. L. The genetic basis of renal cell carcinoma. **Urol Clin North Am**, v. 30, n. 3, p. 437-54, vii, Aug 2003. ISSN 0094-0143. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12953747>>.
114. PAVLOVICH, C. P. et al. Renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. **Am J Surg Pathol**, v. 26, n. 12, p. 1542-52, Dec 2002. ISSN 0147-5185. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12459621>>.
115. GNARRA, J. R. et al. Mutations of the VHL tumour suppressor gene in renal carcinoma. **Nat Genet**, v. 7, n. 1, p. 85-90, May 1994. ISSN 1061-4036. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7915601>>.
116. KIM, W. Y.; KAELIN, W. G. Role of VHL gene mutation in human cancer. **J Clin Oncol**, v. 22, n. 24, p. 4991-5004, Dec 2004. ISSN 0732-183X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15611513>>.
117. LATIF, F. et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. **Science**, v. 260, n. 5112, p. 1317-20, May 1993. ISSN 0036-8075. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8493574>>.
118. DELAHUNT, B.; EBLE, J. N. Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. **Mod Pathol**, v. 10, n. 6, p. 537-44, Jun 1997. ISSN 0893-3952. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9195569>>.
119. SZPONAR, A. et al. Three genetic developmental stages of papillary renal cell tumors: duplication of chromosome 1q marks fatal progression. **Int J Cancer**, v. 124, n. 9, p. 2071-6, May 2009. ISSN 1097-0215. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19123481>>.

120. DELAHUNT, B. et al. Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. **Hum Pathol**, v. 32, n. 6, p. 590-5, Jun 2001. ISSN 0046-8177. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11431713> >.
121. LUBENSKY, I. A. et al. Hereditary and sporadic papillary renal carcinomas with c-met mutations share a distinct morphological phenotype. **Am J Pathol**, v. 155, n. 2, p. 517-26, Aug 1999. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10433944> >.
122. GRANGE, C. et al. Oncogenic micro-RNAs and Renal Cell Carcinoma. **Front Oncol**, v. 4, p. 49, 2014. ISSN 2234-943X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24672771> >.
123. KHELLA, H. W. et al. miR-192, miR-194 and miR-215: a convergent microRNA network suppressing tumor progression in renal cell carcinoma. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 10, p. 2231-9, Oct 2013. ISSN 1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23715501> >.
124. www.uroweb.org
125. IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: tobacco smoke and involuntary smoking. Lyon (France), v. 83, 2004.
126. HUNT, J. D. et al. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies. **Int J Cancer**, v. 114, n. 1, p. 101-8, Mar 2005. ISSN 0020-7136. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15523697> >.
127. SHARIFI, N.; FARRAR, W. L. Perturbations in hypoxia detection: a shared link between hereditary and sporadic tumor formation? **Med Hypotheses**, v. 66, n. 4, p. 732-5, 2006. ISSN 0306-9877. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16364563> >.
128. CALLE, E. E.; KAKS, R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. **Nat Rev Cancer**, v. 4, n. 8, p. 579-91, Aug 2004. ISSN 1474-175X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15286738> >.
129. BERGSTRÖM, A. et al. Obesity and renal cell cancer--a quantitative review. **Br J Cancer**, v. 85, n. 7, p. 984-90, Sep 2001. ISSN 0007-0920. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11592770> >.
130. KLINGHOFFER, Z. et al. Obesity and renal cell carcinoma: epidemiology, underlying mechanisms and management considerations. **Expert Rev Anticancer Ther**, v. 9, n. 7, p. 975-87, Jul 2009. ISSN 1744-8328. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19589036> >.
131. ATTIA, N. et al. The metabolic syndrome and insulin-like growth factor I regulation in adolescent obesity. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 83, n. 5, p.

- 1467-71, May 1998. ISSN 0021-972X. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9589640> >.
132. NARAYAN, S.; ROY, D. Insulin-like growth factor 1 receptors are increased in estrogen-induced kidney tumors. **Cancer Res**, v. 53, n. 10 Suppl, p. 2256-9, May 1993. ISSN 0008-5472. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8485711> >.
133. KASISKE, B. L.; O'DONNELL, M. P.; KEANE, W. F. The Zucker rat model of obesity, insulin resistance, hyperlipidemia, and renal injury. **Hypertension**, v. 19, n. 1 Suppl, p. I110-5, Jan 1992. ISSN 0194-911X. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1730447> >.
134. HUANG, Z. S. et al. Peripheral differential leukocyte counts in humans vary with hyperlipidemia, smoking, and body mass index. **Lipids**, v. 36, n. 3, p. 237-45, Mar 2001. ISSN 0024-4201. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11337978> >.
135. GAGO-DOMINGUEZ, M. et al. Lipid peroxidation: a novel and unifying concept of the etiology of renal cell carcinoma (United States). **Cancer Causes Control**, v. 13, n. 3, p. 287-93, Apr 2002. ISSN 0957-5243. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12020111> >.
136. AUGUSTSSON, K. et al. Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study. **Lancet**, v. 353, n. 9154, p. 703-7, Feb 1999. ISSN 0140-6736. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10073512> >.
137. DE STEFANI, E. et al. Meat intake, 'mate' drinking and renal cell cancer in Uruguay: a case-control study. **Br J Cancer**, v. 78, n. 9, p. 1239-43, Nov 1998. ISSN 0007-0920. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9820187> >.
138. LAMBE, M. et al. Pregnancy and risk of renal cell cancer: a population-based study in Sweden. **Br J Cancer**, v. 86, n. 9, p. 1425-9, May 2002. ISSN 0007-0920. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11986775>> .
139. KABAT, G. C. et al. A cohort study of reproductive and hormonal factors and renal cell cancer risk in women. **Br J Cancer**, v. 96, n. 5, p. 845-9, Mar 2007. ISSN 0007-0920. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17311018>> .
140. MOLOKWU, J. C.; PRIZMENT, A. E.; FOLSOM, A. R. Reproductive characteristics and risk of kidney cancer: Iowa Women's Health Study. **Maturitas**, v. 58, n. 2, p. 156-63, Oct 2007. ISSN 0378-5122. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17822863> >.
141. LEE, J. E.; HANKINSON, S. E.; CHO, E. Reproductive factors and risk of renal cell cancer: the Nurses' Health Study. **Am J Epidemiol**, v. 169, n. 10, p. 1243-

- 50, May 2009. ISSN 1476-6256. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19329527> >.
142. SETIAWAN, V. W.; KOLONEL, L. N.; HENDERSON, B. E. Menstrual and reproductive factors and risk of renal cell cancer in the Multiethnic Cohort. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 18, n. 1, p. 337-40, Jan 2009. ISSN 1055-9965. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19124517> >.
143. BRAUCH, H. et al. Trichloroethylene exposure and specific somatic mutations in patients with renal cell carcinoma. **J Natl Cancer Inst**, v. 91, n. 10, p. 854-61, May 1999. ISSN 0027-8874. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10340905> >.
144. AXWIJK, P. H. et al. Hereditary causes of kidney tumours. **Eur J Clin Invest**, v. 40, n. 5, p. 433-9, May 2010. ISSN 1365-2362. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20534065> >.
145. DALGLIESH, G. L. et al. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. **Nature**, v. 463, n. 7279, p. 360-3, Jan 2010. ISSN 1476-4687. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20054297> >.
146. CHOYKE, P. L. et al. von Hippel-Lindau disease: genetic, clinical, and imaging features. **Radiology**, v. 194, n. 3, p. 629-42, Mar 1995. ISSN 0033-8419. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7862955>> .
147. LINEHAN, W. M. et al. Molecular diagnosis and therapy of kidney cancer. **Annu Rev Med**, v. 61, p. 329-43, 2010. ISSN 1545-326X. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20059341>> .
148. WALTHER, M. M. et al. Prevalence of microscopic lesions in grossly normal renal parenchyma from patients with von Hippel-Lindau disease, sporadic renal cell carcinoma and no renal disease: clinical implications. **J Urol**, v. 154, n. 6, p. 2010-4; discussion 2014-5, Dec 1995. ISSN 0022-5347. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7500446> >.
149. WALTHER, M. M. et al. Renal cancer in families with hereditary renal cancer: prospective analysis of a tumor size threshold for renal parenchymal sparing surgery. **J Urol**, v. 161, n. 5, p. 1475-9, May 1999. ISSN 0022-5347. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10210376> >.
150. JACOBSEN, J. et al. Expression of vascular endothelial growth factor protein in human renal cell carcinoma. **BJU Int**, v. 93, n. 3, p. 297-302, Feb 2004. ISSN 1464-4096. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14764126>> .
151. GORDAN, J. D. et al. HIF-alpha effects on c-Myc distinguish two subtypes of sporadic VHL-deficient clear cell renal carcinoma. **Cancer Cell**, v. 14, n. 6, p. 435-46, Dec 2008. ISSN 1878-3686. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19061835> >.

152. KAELIN, W. G. The von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and clear cell renal carcinoma. **Clin Cancer Res**, v. 13, n. 2 Pt 2, p. 680s-684s, Jan 2007. ISSN 1078-0432. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17255293>>.
153. KOVACS, G. et al. Cytogenetics of papillary renal cell tumors. **Genes Chromosomes Cancer**, v. 3, n. 4, p. 249-55, Jul 1991. ISSN 1045-2257. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1958590>>.
154. ZBAR, B. et al. Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 11, n. 4, p. 393-400, Apr 2002. ISSN 1055-9965. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11927500>>.
155. LAUNONEN, V. et al. Inherited susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 98, n. 6, p. 3387-92, Mar 2001. ISSN 0027-8424. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11248088>>.
156. CRINO, P. B.; NATHANSON, K. L.; HENSKE, E. P. The tuberous sclerosis complex. **N Engl J Med**, v. 355, n. 13, p. 1345-56, Sep 2006. ISSN 1533-4406. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17005952>>.
157. SETIAWAN, V. W. et al. Risk factors for renal cell cancer: the multiethnic cohort. **Am J Epidemiol**, v. 166, n. 8, p. 932-40, Oct 2007. ISSN 0002-9262. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17656615>>.
158. MAHABIR, S. et al. Physical activity and renal cell cancer risk in a cohort of male smokers. **Int J Cancer**, v. 108, n. 4, p. 600-5, Feb 2004. ISSN 0020-7136. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14696127>>.
159. MOORE, S. C. et al. Physical activity during adulthood and adolescence in relation to renal cell cancer. **Am J Epidemiol**, v. 168, n. 2, p. 149-57, Jul 2008. ISSN 1476-6256. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18468990>>.
160. RICHARDSON, C. R. et al. A meta-analysis of pedometer-based walking interventions and weight loss. **Ann Fam Med**, v. 6, n. 1, p. 69-77, 2008 Jan-Feb 2008. ISSN 1544-1717. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18195317>>.
161. PIALOUX, V. et al. Effect of cardiorespiratory fitness on vascular regulation and oxidative stress in postmenopausal women. **Hypertension**, v. 54, n. 5, p. 1014-20, Nov 2009. ISSN 1524-4563. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19786647>>.
162. SOLOMON, T. P. et al. Randomized trial on the effects of a 7-d low-glycemic diet and exercise intervention on insulin resistance in older obese humans. **Am J Clin Nutr**, v. 90, n. 5, p. 1222-9, Nov 2009. ISSN 1938-3207. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19793849>>.

163. JAAKKOLA, P. et al. Targeting of HIF-alpha to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O2-regulated prolyl hydroxylation. **Science**, v. 292, n. 5516, p. 468-72, Apr 2001. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11292861> >.
164. KAMURA, T. et al. Rbx1, a component of the VHL tumor suppressor complex and SCF ubiquitin ligase. **Science**, v. 284, n. 5414, p. 657-61, Apr 1999. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10213691> >.
165. MAXWELL, P. H. et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. **Nature**, v. 399, n. 6733, p. 271-5, May 1999. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10353251> >.
166. OHH, M. et al. Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the beta-domain of the von Hippel-Lindau protein. **Nat Cell Biol**, v. 2, n. 7, p. 423-7, Jul 2000. ISSN 1465-7392. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10878807> >.
167. OHH, M. et al. Synthetic peptides define critical contacts between elongin C, elongin B, and the von Hippel-Lindau protein. **J Clin Invest**, v. 104, n. 11, p. 1583-91, Dec 1999. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10587522> >.
168. STEBBINS, C. E.; KAELIN, W. G.; PAVLETICH, N. P. Structure of the VHL-ElonginC-ElonginB complex: implications for VHL tumor suppressor function. **Science**, v. 284, n. 5413, p. 455-61, Apr 1999. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10205047> >.
169. LINEHAN, W. M.; SRINIVASAN, R.; SCHMIDT, L. S. The genetic basis of kidney cancer: a metabolic disease. **Nat Rev Urol**, v. 7, n. 5, p. 277-85, May 2010. ISSN 1759-4820. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20448661> >.
170. PERUZZI, B.; BOTTARO, D. P. Targeting the c-Met signaling pathway in cancer. **Clin Cancer Res**, v. 12, n. 12, p. 3657-60, Jun 2006. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16778093> >.
171. SCHMIDT, L. et al. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. **Nat Genet**, v. 16, n. 1, p. 68-73, May 1997. ISSN 1061-4036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9140397> >.
172. Novel mutations of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. **Oncogene**, v. 18, n. 14, p. 2343-50, Apr 1999. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10327054> >.
173. BABA, M. et al. Folliculin encoded by the BHD gene interacts with a binding protein, FNIP1, and AMPK, and is involved in AMPK and mTOR signaling. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 42, p. 15552-7, Oct 2006.

- ISSN 0027-8424. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17028174> >.
174. HASUMI, H. et al. Identification and characterization of a novel folliculin-interacting protein FNIP2. **Gene**, v. 415, n. 1-2, p. 60-7, May 2008. ISSN 0378-1119. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18403135> >.
175. TOMLINSON, I. P. et al. Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. **Nat Genet**, v. 30, n. 4, p. 406-10, Apr 2002. ISSN 1061-4036. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11865300> >.
176. TORO, J. R. et al. Mutations in the fumarate hydratase gene cause hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families in North America. **Am J Hum Genet**, v. 73, n. 1, p. 95-106, Jul 2003. ISSN 0002-9297. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12772087> >.
177. WEI, M. H. et al. Novel mutations in FH and expansion of the spectrum of phenotypes expressed in families with hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer. **J Med Genet**, v. 43, n. 1, p. 18-27, Jan 2006. ISSN 1468-6244. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15937070> >.
178. GIBBONS, R. P. et al. Manifestations of renal cell carcinoma. **Urology**, v. 8, n. 3, p. 201-6, Sep 1976. ISSN 0090-4295. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/788291> >.
179. COHEN, H. T.; MCGOVERN, F. J. Renal-cell carcinoma. **N Engl J Med**, v. 353, n. 23, p. 2477-90, Dec 2005. ISSN 1533-4406. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16339096> >.
180. ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1268 p.
181. RAMPAZZO, C. et al. Regulation by degradation, a cellular defense against deoxyribonucleotide pool imbalances. **Mutat Res**, v. 703, n. 1, p. 2-10, Nov 2010. ISSN 0027-5107. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20561600> >.
182. REICHARD, P. Interactions between deoxyribonucleotide and DNA synthesis. **Annu Rev Biochem**, v. 57, p. 349-74, 1988. ISSN 0066-4154. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3052277> >.
183. KUNZ, B. A. et al. International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. Deoxyribonucleoside triphosphate levels: a critical factor in the maintenance of genetic stability. **Mutat Res**, v. 318, n. 1, p. 1-64, Aug 1994. ISSN 0027-5107. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7519315> >.

184. ERIKSSON, S. et al. Structure and function of cellular deoxyribonucleoside kinases. **Cell Mol Life Sci**, v. 59, n. 8, p. 1327-46, Aug 2002. ISSN 1420-682X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12363036>>.
185. BRONCKAERS, A. et al. The dual role of thymidine phosphorylase in cancer development and chemotherapy. **Med Res Rev**, v. 29, n. 6, p. 903-53, Nov 2009. ISSN 1098-1128. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19434693>>.
186. FRIEDKIN, M.; ROBERTS, D. The enzymatic synthesis of nucleosides. I. Thymidine phosphorylase in mammalian tissue. **J Biol Chem**, v. 207, n. 1, p. 245-56, Mar 1954. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13152099>>.
187. NAKAJIMA, Y.; MADHYASTHA, R.; MARUYAMA, M. 2-Deoxy-D-ribose, a downstream mediator of thymidine phosphorylase, regulates tumor angiogenesis and progression. **Anticancer Agents Med Chem**, v. 9, n. 2, p. 239-45, Feb 2009. ISSN 1875-5992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19199868>>.
188. PAULY, J. L. et al. Identification and comparative analysis of thymidine phosphorylase in the plasma of healthy subjects and cancer patients. **J Natl Cancer Inst**, v. 58, n. 6, p. 1587-90, Jun 1977. ISSN 0027-8874. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/864739>>.
189. DESGRANGES, C. et al. The human blood platelet: a cellular model to study the degradation of thymidine and its inhibition. **Biochem Pharmacol**, v. 31, n. 17, p. 2755-9, Sep 1982. ISSN 0006-2952. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7138572>>.
190. SCHWARTZ, M. Thymidine phosphorylase from *Escherichia coli*. Properties and kinetics. **Eur J Biochem**, v. 21, n. 2, p. 191-8, Jul 1971. ISSN 0014-2956. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4935199>>.
191. AKIYAMA, S. et al. The role of thymidine phosphorylase, an angiogenic enzyme, in tumor progression. **Cancer Sci**, v. 95, n. 11, p. 851-7, Nov 2004. ISSN 1347-9032. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15546501>>.
192. BROWN, N. S.; BICKNELL, R. Thymidine phosphorylase, 2-deoxy-D-ribose and angiogenesis. **Biochem J**, v. 334 (Pt 1), p. 1-8, Aug 1998. ISSN 0264-6021. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9693094>>.
193. LIEKENS, S. et al. Targeting platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase for cancer therapy. **Biochem Pharmacol**, v. 74, n. 11, p. 1555-67, Dec 2007. ISSN 0006-2952. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17572389>>.
194. ILTZSCH, M. H.; EL KOUNI, M. H.; CHA, S. Kinetic studies of thymidine phosphorylase from mouse liver. **Biochemistry**, v. 24, n. 24, p. 6799-807, Nov

1985. ISSN 0006-2960. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4074727>>.
195. BROWN, N. S. et al. Thymidine phosphorylase induces carcinoma cell oxidative stress and promotes secretion of angiogenic factors. **Cancer Res**, v. 60, n. 22, p. 6298-302, Nov 2000. ISSN 0008-5472. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11103787>>.
196. HOTCHKISS, K. A.; ASHTON, A. W.; SCHWARTZ, E. L. Thymidine phosphorylase and 2-deoxyribose stimulate human endothelial cell migration by specific activation of the integrins alpha 5 beta 1 and alpha V beta 3. **J Biol Chem**, v. 278, n. 21, p. 19272-9, May 2003. ISSN 0021-9258. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12639965>>.
197. SINGH, P.; BHARDWAJ, A. Mechanism of action of key enzymes associated with cancer propagation and their inhibition by various chemotherapeutic agents. **Mini Rev Med Chem**, v. 8, n. 4, p. 388-98, Apr 2008. ISSN 1389-5575. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18473929>>.
198. NORMAN, R. A. et al. Crystal structure of human thymidine phosphorylase in complex with a small molecule inhibitor. **Structure**, v. 12, n. 1, p. 75-84, Jan 2004. ISSN 0969-2126. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14725767>>.
199. MATSUSHITA, S. et al. The effect of a thymidine phosphorylase inhibitor on angiogenesis and apoptosis in tumors. **Cancer Res**, v. 59, n. 8, p. 1911-6, Apr 1999. ISSN 0008-5472. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10213500>>.
200. LANGEN, P. et al. Inhibition of thymidine phosphorylase by 6-aminothymine and derivatives of 6-aminouracil. **Biochem Pharmacol**, v. 16, n. 9, p. 1833-7, Sep 1967. ISSN 0006-2952. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6053224>>.
201. FURUKAWA, T. et al. Angiogenic factor. **Nature**, v. 356, n. 6371, p. 668, Apr 1992. ISSN 0028-0836. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1570012>>.
202. MIYAZONO, K. et al. Purification and properties of an endothelial cell growth factor from human platelets. **J Biol Chem**, v. 262, n. 9, p. 4098-103, Mar 1987. ISSN 0021-9258. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3549724>>.
203. ISHIKAWA, F. et al. Identification of angiogenic activity and the cloning and expression of platelet-derived endothelial cell growth factor. **Nature**, v. 338, n. 6216, p. 557-62, Apr 1989. ISSN 0028-0836. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2467210>>.

204. ASAI, K. et al. A novel glial growth inhibitory factor, gliostatin, derived from neurofibroma. **J Neurochem**, v. 59, n. 1, p. 307-17, Jul 1992. ISSN 0022-3042. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1613506>>.
205. ASAI, K. et al. Neurotrophic action of gliostatin on cortical neurons. Identity of gliostatin and platelet-derived endothelial cell growth factor. **J Biol Chem**, v. 267, n. 28, p. 20311-6, Oct 1992. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1400349>>.
206. TAKEBAYASHI, Y. et al. Clinicopathologic and prognostic significance of an angiogenic factor, thymidine phosphorylase, in human colorectal carcinoma. **J Natl Cancer Inst**, v. 88, n. 16, p. 1110-7, Aug 1996. ISSN 0027-8874. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8757190>>.
207. FOX, S. B. et al. Platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase expression in normal tissues: an immunohistochemical study. **J Pathol**, v. 176, n. 2, p. 183-90, Jun 1995. ISSN 0022-3417. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7636628>>.
208. YOSHIMURA, A. et al. Purification and tissue distribution of human thymidine phosphorylase; high expression in lymphocytes, reticulocytes and tumors. **Biochim Biophys Acta**, v. 1034, n. 1, p. 107-13, Apr 1990. ISSN 0006-3002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2328255>>.
209. MATSUKAWA, K. et al. Tissue distribution of human gliostatin/platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) and its drug-induced expression. **Biochim Biophys Acta**, v. 1314, n. 1-2, p. 71-82, Nov 1996. ISSN 0006-3002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8972720>>.
210. SHAW, T.; SMILLIE, R. H.; MACPHEE, D. G. The role of blood platelets in nucleoside metabolism: assay, cellular location and significance of thymidine phosphorylase in human blood. **Mutat Res**, v. 200, n. 1-2, p. 99-116, 1988 Jul-Aug 1988. ISSN 0027-5107. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3393166>>.
211. JACKSON, M. R. et al. Localization of two angiogenic growth factors (PDEC GF and VEGF) in human placenta throughout gestation. **Placenta**, v. 15, n. 4, p. 341-53, Jun 1994. ISSN 0143-4004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7937592>>.
212. USUKI, K. et al. Localization of platelet-derived endothelial cell growth factor in human placenta and purification of an alternatively processed form. **Cell Regul**, v. 1, n. 8, p. 577-84, Jul 1990. ISSN 1044-2030. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2078568>>.
213. FUJIMOTO, J. et al. Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor and its mRNA in uterine endometrium during the menstrual cycle. **Mol Hum Reprod**, v. 4, n. 5, p. 509-13, May 1998. ISSN 1360-9947. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9665639>>.

214. CREAMER, D. et al. Overexpression of the angiogenic factor platelet-derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase in psoriatic epidermis. **Br J Dermatol**, v. 137, n. 6, p. 851-5, Dec 1997. ISSN 0007-0963. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9470899> >.
215. HAMMERBERG, C. et al. Elevated thymidine phosphorylase activity in psoriatic lesions accounts for the apparent presence of an epidermal "growth inhibitor," but is not in itself growth inhibitory. **J Invest Dermatol**, v. 97, n. 2, p. 286-90, Aug 1991. ISSN 0022-202X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2071939> >.
216. GIATROMANOLAKI, A. et al. Hypoxia inducible factor 1alpha and 2alpha overexpression in inflammatory bowel disease. **J Clin Pathol**, v. 56, n. 3, p. 209-13, Mar 2003. ISSN 0021-9746. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12610101> >.
217. SAITO, S. et al. Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor in inflammatory bowel disease. **J Gastroenterol**, v. 38, n. 3, p. 229-37, 2003. ISSN 0944-1174. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12673445> >.
218. WAGURI-NAGAYA, Y. et al. Synovial inflammation and hyperplasia induced by gliostatin/platelet-derived endothelial cell growth factor in rabbit knees. **Rheumatol Int**, v. 20, n. 1, p. 13-9, Dec 2000. ISSN 0172-8172. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11149655> >.
219. MURO, H. et al. Autocrine induction of gliostatin/platelet-derived endothelial cell growth factor (GLS/PD-ECGF) and GLS-induced expression of matrix metalloproteinases in rheumatoid arthritis synoviocytes. **Rheumatology (Oxford)**, v. 38, n. 12, p. 1195-202, Dec 1999. ISSN 1462-0324. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10587545> >.
220. IEDA, Y. et al. IL-1beta-induced expression of matrix metalloproteinases and gliostatin/platelet-derived endothelial cell growth factor (GLS/PD-ECGF) in a chondrosarcoma cell line (OUMS-27). **Rheumatol Int**, v. 21, n. 2, p. 45-52, Oct 2001. ISSN 0172-8172. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11732857> >.
221. SPINAZZOLA, A. et al. Altered thymidine metabolism due to defects of thymidine phosphorylase. **J Biol Chem**, v. 277, n. 6, p. 4128-33, Feb 2002. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11733540> >.
222. MARTÍ, R.; NISHIGAKI, Y.; HIRANO, M. Elevated plasma deoxyuridine in patients with thymidine phosphorylase deficiency. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 303, n. 1, p. 14-8, Mar 2003. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12646159> >.
223. VALENTINO, M. L. et al. Thymidine and deoxyuridine accumulate in tissues of patients with mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy

- (MNGIE). **FEBS Lett**, v. 581, n. 18, p. 3410-4, Jul 2007. ISSN 0014-5793. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17612528> >.
224. RENCK, D. et al. The kinetic mechanism of human uridine phosphorylase 1: Towards the development of enzyme inhibitors for cancer chemotherapy. **Arch Biochem Biophys**, v. 497, n. 1-2, p. 35-42, May 2010. ISSN 1096-0384. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20226755> >.
225. CAO, D. et al. Abnormalities in uridine homeostatic regulation and pyrimidine nucleotide metabolism as a consequence of the deletion of the uridine phosphorylase gene. **J Biol Chem**, v. 280, n. 22, p. 21169-75, Jun 2005. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15772079> >.
226. CAO, D. et al. Uridine phosphorylase (-/-) murine embryonic stem cells clarify the key role of this enzyme in the regulation of the pyrimidine salvage pathway and in the activation of fluoropyrimidines. **Cancer Res**, v. 62, n. 8, p. 2313-7, Apr 2002. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11956089> >.
227. ROOSILD, T. P. et al. A novel structural mechanism for redox regulation of uridine phosphorylase 2 activity. **J Struct Biol**, v. 176, n. 2, p. 229-37, Nov 2011. ISSN 1095-8657. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21855639> >.
228. WATANABE, S.; UCHIDA, T. Cloning and expression of human uridine phosphorylase. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 216, n. 1, p. 265-72, Nov 1995. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7488099> >.
229. JOHANSSON, M. Identification of a novel human uridine phosphorylase. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 307, n. 1, p. 41-6, Jul 2003. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12849978> >.
230. KAWAMURA, K. et al. Up-regulated expression of the uridine phosphorylase gene in human gastric tumors is correlated with a favorable prognosis. **Anticancer Res**, v. 26, n. 6C, p. 4647-51, 2006 Nov-Dec 2006. ISSN 0250-7005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17214321> >.
231. PIZZORNO, G. et al. Homeostatic control of uridine and the role of uridine phosphorylase: a biological and clinical update. **Biochim Biophys Acta**, v. 1587, n. 2-3, p. 133-44, Jul 2002. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12084455> >.
232. LIU, M. et al. Expression, characterization, and detection of human uridine phosphorylase and identification of variant uridine phosphorolytic activity in selected human tumors. **Cancer Res**, v. 58, n. 23, p. 5418-24, Dec 1998.

- ISSN 0008-5472. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9850074> >.
233. KUTTESCH, J. F.; NELSON, J. A. Renal handling of 2'-deoxyadenosine and adenosine in humans and mice. **Cancer Chemother Pharmacol**, v. 8, n. 2, p. 221-9, 1982. ISSN 0344-5704. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6980741> >.
234. KUTTESCH, J. F.; ROBINS, M. J.; NELSON, J. A. Renal transport of 2'-deoxytubercidin in mice. **Biochem Pharmacol**, v. 31, n. 21, p. 3387-94, Nov 1982. ISSN 0006-2952. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6216893> >.
235. LE HIR, M.; DUBACH, U. C. Uphill transport of pyrimidine nucleosides in renal brush border vesicles. **Pflugers Arch**, v. 404, n. 3, p. 238-43, Jul 1985. ISSN 0031-6768. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4034370>> .
236. LEE, C. W.; CHEESEMAN, C. I.; JARVIS, S. M. Na⁺- and K⁺-dependent uridine transport in rat renal brush-border membrane vesicles. **Biochim Biophys Acta**, v. 942, n. 1, p. 139-49, Jul 1988. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3382655> >.
237. TRIMBLE, M. E.; COULSON, R. Adenosine transport in perfused rat kidney and renal cortical membrane vesicles. **Am J Physiol**, v. 246, n. 6 Pt 2, p. F794-803, Jun 1984. ISSN 0002-9513. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6742130> >.
238. JARVIS, S. M. et al. Active transport of nucleosides and nucleoside drugs. **Biochem Soc Trans**, v. 17, n. 3, p. 448-50, Jun 1989. ISSN 0300-5127. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2753216>> .
239. GASSER, T.; MOYER, J. D.; HANDSCHUMACHER, R. E. Novel single-pass exchange of circulating uridine in rat liver. **Science**, v. 213, n. 4509, p. 777-8, Aug 1981. ISSN 0036-8075. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7256279> >.
240. CAO, D. et al. Differential expression of uridine phosphorylase in tumors contributes to an improved fluoropyrimidine therapeutic activity. **Mol Cancer Ther**, v. 10, n. 12, p. 2330-9, Dec 2011. ISSN 1538-8514. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21954436> >.
241. WAN, L. et al. Modulation of uridine phosphorylase gene expression by tumor necrosis factor-alpha enhances the antiproliferative activity of the capecitabine intermediate 5'-deoxy-5-fluorouridine in breast cancer cells. **Mol Pharmacol**, v. 69, n. 4, p. 1389-95, Apr 2006. ISSN 0026-895X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16397116> >.
242. CAO, D. et al. Genomic structure, chromosomal mapping, and promoter region analysis of murine uridine phosphorylase gene. **Cancer Res**, v. 59, n. 19, p.

- 4997-5001, Oct 1999. ISSN 0008-5472. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10519414> >.
243. ZHANG, D. et al. p53-dependent suppression of uridine phosphorylase gene expression through direct promoter interaction. **Cancer Res**, v. 61, n. 18, p. 6899-905, Sep 2001. ISSN 0008-5472. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11559567> >.
244. DUMLER, F.; CORTES, P. Uracil ribonucleotide metabolism in rat and human glomerular epithelial and mesangial cells. **Am J Physiol**, v. 255, n. 6 Pt 1, p. C712-8, Dec 1988. ISSN 0002-9513. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3202145> >.
245. MIYASHITA, H. et al. Uridine phosphorylase is a potential prognostic factor in patients with oral squamous cell carcinoma. **Cancer**, v. 94, n. 11, p. 2959-66, Jun 2002. ISSN 0008-543X. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12115385> >.
246. KRENITSKY, T. A.; BARCLAY, M.; JACQUEZ, J. A. SPECIFICITY OF MOUSE URIDINE PHOSPHORYLASE. CHROMATOGRAPHY, PURIFICATION, AND PROPERTIES. **J Biol Chem**, v. 239, p. 805-12, Mar 1964. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14154460> >.
247. DENEEN, B.; HAMIDI, H.; DENNY, C. T. Functional analysis of the EWS/ETS target gene uridine phosphorylase. **Cancer Res**, v. 63, n. 14, p. 4268-74, Jul 2003. ISSN 0008-5472. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12874036> >.
248. ARVAND, A.; DENNY, C. T. Biology of EWS/ETS fusions in Ewing's family tumors. **Oncogene**, v. 20, n. 40, p. 5747-54, Sep 2001. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11607824> >.
249. SEIFERT, R.; SCHULTZ, G. Involvement of pyrimidinoceptors in the regulation of cell functions by uridine and by uracil nucleotides. **Trends Pharmacol Sci**, v. 10, n. 9, p. 365-9, Sep 1989. ISSN 0165-6147. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2690427> >.
250. RONQUIST, G.; NIKLASSON, F. Uridine, xanthine, and urate contents in human seminal plasma. **Arch Androl**, v. 13, n. 1, p. 63-70, 1984. ISSN 0148-5016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6534280> >.
251. RONQUIST, G.; STEGMAYR, B.; NIKLASSON, F. Sperm motility and interactions among seminal uridine, xanthine, urate, and ATPase in fertile and infertile men. **Arch Androl**, v. 15, n. 1, p. 21-7, 1985. ISSN 0148-5016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2937376> >.
252. ZHANG, L. et al. Type IV collagenase (matrix metalloproteinase-2 and -9) in prostate cancer. **Prostate Cancer Prostatic Dis**, v. 7, n. 4, p. 327-32, 2004. ISSN 1365-7852. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15356679> >.

253. KONG, X. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha enhances antiproliferative activity of 5'-deoxy-5-fluorouridine in cancer cells through induction of uridine phosphorylase. **Mol Pharmacol**, v. 76, n. 4, p. 854-60, Oct 2009. ISSN 1521-0111. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19602572> >.
254. SHAMBAUGH, G. E. Pyrimidine biosynthesis. **Am J Clin Nutr**, v. 32, n. 6, p. 1290-7, Jun 1979. ISSN 0002-9165. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35970> >.
255. TRAUT, T. W.; JONES, M. E. Uracil metabolism--UMP synthesis from orotic acid or uridine and conversion of uracil to beta-alanine: enzymes and cDNAs. **Prog Nucleic Acid Res Mol Biol**, v. 53, p. 1-78, 1996. ISSN 0079-6603. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8650301> >.
256. MOYER, J. D.; HENDERSON, J. F. Salvage of uridine in the mouse. Effect of uridine phosphorylase pretreatment. **Biochem Pharmacol**, v. 34, n. 1, p. 101-5, Jan 1985. ISSN 0006-2952. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3966913> >.
257. BECROFT, D. M.; PHILLIPS, L. I.; SIMMONDS, A. Hereditary orotic aciduria: long-term therapy with uridine and a trial of uracil. **J Pediatr**, v. 75, n. 5, p. 885-91, Nov 1969. ISSN 0022-3476. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5347440> >.
258. DAGANI, F. et al. Influence of intermittent hypoxia and pyrimidinic nucleosides on cerebral enzymatic activities related to energy transduction. **Neurochem Res**, v. 9, n. 8, p. 1085-99, Aug 1984. ISSN 0364-3190. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6493441> >.
259. CHO, J. Y. et al. Proteomic analysis of a PDEF Ets transcription factor-interacting protein complex. **J Proteome Res**, v. 8, n. 3, p. 1327-37, Mar 2009. ISSN 1535-3893. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19203193> >.
260. LEPRINCE, D. et al. A putative second cell-derived oncogene of the avian leukaemia retrovirus E26. **Nature**, v. 306, n. 5941, p. 395-7, 1983 Nov 24-30 1983. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6316156> >.
261. STEFFAN, J. J.; KOUL, H. K. Prostate derived ETS factor (PDEF): a putative tumor metastasis suppressor. **Cancer Lett**, v. 310, n. 1, p. 109-17, Nov 2011. ISSN 1872-7980. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21764212> >.
262. OH, S.; SHIN, S.; JANKNECHT, R. ETV1, 4 and 5: an oncogenic subfamily of ETS transcription factors. **Biochim Biophys Acta**, v. 1826, n. 1, p. 1-12, Aug 2012. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22425584> >.

263. HSU, T.; TROJANOWSKA, M.; WATSON, D. K. Ets proteins in biological control and cancer. **J Cell Biochem**, v. 91, n. 5, p. 896-903, Apr 2004. ISSN 0730-2312. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15034925>>.
264. CHARLOT, C. et al. A review of post-translational modifications and subcellular localization of Ets transcription factors: possible connection with cancer and involvement in the hypoxic response. **Methods Mol Biol**, v. 647, p. 3-30, 2010. ISSN 1940-6029. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20694658>>.
265. LI, R.; PEI, H.; WATSON, D. K. Regulation of Ets function by protein - protein interactions. **Oncogene**, v. 19, n. 55, p. 6514-23, Dec 2000. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11175367>>.
266. SHARROCKS, A. D. The ETS-domain transcription factor family. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 2, n. 11, p. 827-37, Nov 2001. ISSN 1471-0072. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11715049>>.
267. OIKAWA, T.; YAMADA, T. Molecular biology of the Ets family of transcription factors. **Gene**, v. 303, p. 11-34, Jan 2003. ISSN 0378-1119. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12559563>>.
268. OIKAWA, T. ETS transcription factors: possible targets for cancer therapy. **Cancer Sci**, v. 95, n. 8, p. 626-33, Aug 2004. ISSN 1347-9032. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15298723>>.
269. BASSUK, A. G.; LEIDEN, J. M. The role of Ets transcription factors in the development and function of the mammalian immune system. **Adv Immunol**, v. 64, p. 65-104, 1997. ISSN 0065-2776. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9100980>>.
270. GRAVES, B. J.; PETERSEN, J. M. Specificity within the ets family of transcription factors. **Adv Cancer Res**, v. 75, p. 1-55, 1998. ISSN 0065-230X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9709806>>.
271. TURNER, D. P.; WATSON, D. K. ETS transcription factors: oncogenes and tumor suppressor genes as therapeutic targets for prostate cancer. **Expert Rev Anticancer Ther**, v. 8, n. 1, p. 33-42, Jan 2008. ISSN 1744-8328. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18095881>>.
272. SOOD, A. K.; KIM, H.; GERADTS, J. PDEF in prostate cancer. **Prostate**, v. 72, n. 6, p. 592-6, May 2012. ISSN 1097-0045. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21796651>>.
273. OETTGEN, P. et al. PDEF, a novel prostate epithelium-specific ets transcription factor, interacts with the androgen receptor and activates prostate-specific antigen gene expression. **J Biol Chem**, v. 275, n. 2, p. 1216-25, Jan 2000. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10625666>>.

274. COPPOLA, V.; BONCI, D. A tight junction between E-Cadherin and the prostate tumor suppressor SPDEF. **Asian J Androl**, v. 15, n. 4, p. 449-50, Jul 2013. ISSN 1745-7262. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23708463>>.
275. WANG, Y. et al. Analysis of the 2.0 Å crystal structure of the protein-DNA complex of the human PDEF Ets domain bound to the prostate specific antigen regulatory site. **Biochemistry**, v. 44, n. 19, p. 7095-106, May 2005. ISSN 0006-2960. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15882048>>.
276. TURNER, D. P. et al. Mechanisms and functional consequences of PDEF protein expression loss during prostate cancer progression. **Prostate**, v. 71, n. 16, p. 1723-35, Dec 2011. ISSN 1097-0045. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21446014>>.
277. TURNER, D. P. et al. Defining ETS transcription regulatory networks and their contribution to breast cancer progression. **J Cell Biochem**, v. 102, n. 3, p. 549-59, Oct 2007. ISSN 0730-2312. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17661355>>.
278. GHADERSOHI, A. et al. Prostate-derived Ets transcription factor (PDEF) downregulates survivin expression and inhibits breast cancer cell growth in vitro and xenograft tumor formation in vivo. **Breast Cancer Res Treat**, v. 102, n. 1, p. 19-30, Mar 2007. ISSN 0167-6806. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16897429>>.
279. GHADERSOHI, A. et al. Prostate-derived Ets transcription factor as a favorable prognostic marker in ovarian cancer patients. **Int J Cancer**, v. 123, n. 6, p. 1376-84, Sep 2008. ISSN 1097-0215. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18567002>>.
280. GHADERSOHI, A. et al. Prostate-derived Ets transcription factor (PDEF) is a potential prognostic marker in patients with prostate cancer. **Prostate**, v. 71, n. 11, p. 1178-88, Aug 2011. ISSN 1097-0045. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21656828>>.
281. LI, F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. **Br J Cancer**, v. 92, n. 2, p. 212-6, Jan 2005. ISSN 0007-0920. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15611788>>.
282. LI, F.; LING, X. Survivin study: an update of "what is the next wave"? **J Cell Physiol**, v. 208, n. 3, p. 476-86, Sep 2006. ISSN 0021-9541. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16557517>>.
283. MOUSSA, O. et al. PDEF is a negative regulator of colon cancer cell growth and migration. **J Cell Biochem**, v. 108, n. 6, p. 1389-98, Dec 2009. ISSN 1097-4644. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19830706>>.

284. ROEB, E. et al. Simultaneous determination of matrix metalloproteinase (MMP)-7, MMP-1, -3, and -13 gene expression by multiplex PCR in colorectal carcinomas. **Int J Colorectal Dis**, v. 19, n. 6, p. 518-24, Nov 2004. ISSN 0179-1958. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15103490> >.
285. JOHNSON, T. R. et al. Loss of PDEF, a prostate-derived Ets factor is associated with aggressive phenotype of prostate cancer: regulation of MMP 9 by PDEF. **Mol Cancer**, v. 9, p. 148, 2010. ISSN 1476-4598. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20550708> >.
286. PAL, M.; KOUL, S.; KOUL, H. K. The transcription factor sterile alpha motif (SAM) pointed domain-containing ETS transcription factor (SPDEF) is required for E-cadherin expression in prostate cancer cells. **J Biol Chem**, v. 288, n. 17, p. 12222-31, Apr 2013. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23449978> >.
287. PIVETTA, E. et al. MMP-13 stimulates osteoclast differentiation and activation in tumour breast bone metastases. **Breast Cancer Res**, v. 13, n. 5, p. R105, 2011. ISSN 1465-542X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22032644> >.
288. FELDMAN, R. J. et al. Pdef expression in human breast cancer is correlated with invasive potential and altered gene expression. **Cancer Res**, v. 63, n. 15, p. 4626-31, Aug 2003. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12907642> >.
289. TSUI, K. H. et al. Upregulation of prostate-derived Ets factor by luteolin causes inhibition of cell proliferation and cell invasion in prostate carcinoma cells. **Int J Cancer**, v. 130, n. 12, p. 2812-23, Jun 2012. ISSN 1097-0215. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21780100> >.
290. TU, L. C. et al. Proteomics analysis of the interactome of N-myc downstream regulated gene 1 and its interactions with the androgen response program in prostate cancer cells. **Mol Cell Proteomics**, v. 6, n. 4, p. 575-88, Apr 2007. ISSN 1535-9476. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17220478> >.
291. MOSTAGHEL, E. A. et al. Intraprostatic androgens and androgen-regulated gene expression persist after testosterone suppression: therapeutic implications for castration-resistant prostate cancer. **Cancer Res**, v. 67, n. 10, p. 5033-41, May 2007. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17510436> >.
292. GU, X. et al. Reduced PDEF expression increases invasion and expression of mesenchymal genes in prostate cancer cells. **Cancer Res**, v. 67, n. 9, p. 4219-26, May 2007. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17483333> >.

293. SCHAEFER, J. S. et al. Transcriptional regulation of p21/CIP1 cell cycle inhibitor by PDEF controls cell proliferation and mammary tumor progression. **J Biol Chem**, v. 285, n. 15, p. 11258-69, Apr 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20139077> >.
294. THOMPSON, H. G. et al. p62 overexpression in breast tumors and regulation by prostate-derived Ets factor in breast cancer cells. **Oncogene**, v. 22, n. 15, p. 2322-33, Apr 2003. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12700667> >.
295. TURNER, D. P. et al. Global gene expression analysis identifies PDEF transcriptional networks regulating cell migration during cancer progression. **Mol Biol Cell**, v. 19, n. 9, p. 3745-57, Sep 2008. ISSN 1939-4586. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18579687> >.
296. KRÜGER, A. et al. Reduction of breast carcinoma tumor growth and lung colonization by overexpression of the soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (CD87). **Cancer Gene Ther**, v. 7, n. 2, p. 292-9, Feb 2000. ISSN 0929-1903. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10770639> >.
297. PARK, K. S. et al. SPDEF regulates goblet cell hyperplasia in the airway epithelium. **J Clin Invest**, v. 117, n. 4, p. 978-88, Apr 2007. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17347682> >.
298. HORST, D. et al. Requirement of the epithelium-specific Ets transcription factor Spdef for mucous gland cell function in the gastric antrum. **J Biol Chem**, v. 285, n. 45, p. 35047-55, Nov 2010. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20801882> >.
299. CHEN, H.; BIEBERICH, C. J. Structural and functional analysis of domains mediating interaction between NKX-3.1 and PDEF. **J Cell Biochem**, v. 94, n. 1, p. 168-77, Jan 2005. ISSN 0730-2312. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15523673> >.
300. FOWLER, M. et al. RUNX1 (AML-1) and RUNX2 (AML-3) cooperate with prostate-derived Ets factor to activate transcription from the PSA upstream regulatory region. **J Cell Biochem**, v. 97, n. 1, p. 1-17, Jan 2006. ISSN 0730-2312. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16237704> >.
301. HYNES, R. O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. **Cell**, v. 110, n. 6, p. 673-87, Sep 2002. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12297042> >.
302. STEFFAN, J. J. et al. The transcription factor SPDEF suppresses prostate tumor metastasis. **J Biol Chem**, v. 287, n. 35, p. 29968-78, Aug 2012. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22761428> >.

303. CHAMBERS, A. F.; MATRISIAN, L. M. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. **J Natl Cancer Inst**, v. 89, n. 17, p. 1260-70, Sep 1997. ISSN 0027-8874. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9293916>>.
304. VAN KEMPEN, L. C.; COUSSENS, L. M. MMP9 potentiates pulmonary metastasis formation. **Cancer Cell**, v. 2, n. 4, p. 251-2, Oct 2002. ISSN 1535-6108. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12398887>>.
305. DERYUGINA, E. I.; QUIGLEY, J. P. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. **Cancer Metastasis Rev**, v. 25, n. 1, p. 9-34, Mar 2006. ISSN 0167-7659. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16680569>>.
306. CLEUTJENS, K. B. et al. A 6-kb promoter fragment mimics in transgenic mice the prostate-specific and androgen-regulated expression of the endogenous prostate-specific antigen gene in humans. **Mol Endocrinol**, v. 11, n. 9, p. 1256-65, Aug 1997. ISSN 0888-8809. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9259317>>.
307. CLEUTJENS, K. B. et al. An androgen response element in a far upstream enhancer region is essential for high, androgen-regulated activity of the prostate-specific antigen promoter. **Mol Endocrinol**, v. 11, n. 2, p. 148-61, Feb 1997. ISSN 0888-8809. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9013762>>.
308. ZHANG, S.; MURTHA, P. E.; YOUNG, C. Y. Defining a functional androgen responsive element in the 5' far upstream flanking region of the prostate-specific antigen gene. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 231, n. 3, p. 784-8, Feb 1997. ISSN 0006-291X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9070893>>.
309. HUANG, W. et al. Cooperative assembly of androgen receptor into a nucleoprotein complex that regulates the prostate-specific antigen enhancer. **J Biol Chem**, v. 274, n. 36, p. 25756-68, Sep 1999. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10464314>>.
310. SPADERNA, S. et al. The transcriptional repressor ZEB1 promotes metastasis and loss of cell polarity in cancer. **Cancer Res**, v. 68, n. 2, p. 537-44, Jan 2008. ISSN 1538-7445. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18199550>>.
311. SMIT, M. A. et al. A Twist-Snail axis critical for TrkB-induced epithelial-mesenchymal transition-like transformation, anoikis resistance, and metastasis. **Mol Cell Biol**, v. 29, n. 13, p. 3722-37, Jul 2009. ISSN 1098-5549. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19414595>>.
312. RICHMOND, P. J. et al. Aberrant E-cadherin and alpha-catenin expression in prostate cancer: correlation with patient survival. **Cancer Res**, v. 57, n. 15, p. 3189-93, Aug 1997. ISSN 0008-5472. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9242448>>.

313. WANG, G. Y. et al. The E-cadherin gene polymorphism 160C->A and cancer risk: A HuGE review and meta-analysis of 26 case-control studies. **Am J Epidemiol**, v. 167, n. 1, p. 7-14, Jan 2008. ISSN 1476-6256. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17971340> >.
314. SHIOZAKI, H. et al. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells. **Cancer**, v. 77, n. 8 Suppl, p. 1605-13, Apr 1996. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8608551> >.
315. FRIXEN, U. H. et al. E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. **J Cell Biol**, v. 113, n. 1, p. 173-85, Apr 1991. ISSN 0021-9525. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2007622> >.
316. DE CRAENE, B.; BERX, G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. **Nat Rev Cancer**, v. 13, n. 2, p. 97-110, Feb 2013. ISSN 1474-1768. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23344542> >.
317. OSISAMI, M.; KELLER, E. T. SPDEF: a molecular switch for E-cadherin expression that promotes prostate cancer metastasis. **Asian J Androl**, v. 15, n. 5, p. 584-5, Sep 2013. ISSN 1745-7262. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23708459> >.
318. LIU, Z. et al. Increased expression of MMP9 is correlated with poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma. **BMC Cancer**, v. 10, p. 270, 2010. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20534121> >.
319. 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, Jan 2010. ISSN 1532-4192. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20001295> >.
320. TIAN, M. et al. Proteomic analysis identifies MMP-9, DJ-1 and A1BG as overexpressed proteins in pancreatic juice from pancreatic ductal adenocarcinoma patients. **BMC Cancer**, v. 8, p. 241, 2008. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18706098> >.
321. ZHAO, Z. S. et al. Prognostic value of tumor-related molecular expression in gastric carcinoma. **Pathol Oncol Res**, v. 15, n. 4, p. 589-96, Dec 2009. ISSN 1532-2807. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19294533> >.
322. PROVATOPOULOU, X. et al. Circulating levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and their complex MMP-9/NGAL in breast cancer disease. **BMC Cancer**, v. 9, p. 390, 2009. ISSN 1471-2407. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19889214> >.

323. CASTELLANO, G. et al. Activation of the osteopontin/matrix metalloproteinase-9 pathway correlates with prostate cancer progression. **Clin Cancer Res**, v. 14, n. 22, p. 7470-80, Nov 2008. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19010864> >.
324. BERGERS, G. et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. **Nat Cell Biol**, v. 2, n. 10, p. 737-44, Oct 2000. ISSN 1465-7392. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11025665> >.
325. GHOSH, S.; BASU, M.; ROY, S. S. ETS-1 protein regulates vascular endothelial growth factor-induced matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-13 expression in human ovarian carcinoma cell line SKOV-3. **J Biol Chem**, v. 287, n. 18, p. 15001-15, Apr 2012. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22270366> >.
326. GUNAWARDANE, R. N. et al. Novel role for PDEF in epithelial cell migration and invasion. **Cancer Res**, v. 65, n. 24, p. 11572-80, Dec 2005. ISSN 0008-5472. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16357167> >.
327. RODABAUGH, K. J. et al. Prostate-derived Ets factor is overexpressed in serous epithelial ovarian tumors. **Int J Gynecol Pathol**, v. 26, n. 1, p. 10-5, Jan 2007. ISSN 0277-1691. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17197890> >.
328. SOOD, A. K. et al. Expression characteristics of prostate-derived Ets factor support a role in breast and prostate cancer progression. **Hum Pathol**, v. 38, n. 11, p. 1628-38, Nov 2007. ISSN 0046-8177. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17521701> >.
329. GHADERSOHI, A.; SOOD, A. K. Prostate epithelium-derived Ets transcription factor mRNA is overexpressed in human breast tumors and is a candidate breast tumor marker and a breast tumor antigen. **Clin Cancer Res**, v. 7, n. 9, p. 2731-8, Sep 2001. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11555586> >.
330. XIN, J. H. et al. Molecular cloning and characterization of PEA3, a new member of the Ets oncogene family that is differentially expressed in mouse embryonic cells. **Genes Dev**, v. 6, n. 3, p. 481-96, Mar 1992. ISSN 0890-9369. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1547944> >.
331. HIGASHINO, F. et al. Isolation of a cDNA encoding the adenovirus E1A enhancer binding protein: a new human member of the ets oncogene family. **Nucleic Acids Res**, v. 21, n. 3, p. 547-53, Feb 1993. ISSN 0305-1048. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8441666> >.
332. BROWN, T. A.; MCKNIGHT, S. L. Specificities of protein-protein and protein-DNA interaction of GABP alpha and two newly defined ets-related proteins. **Genes Dev**, v. 6, n. 12B, p. 2502-12, Dec 1992. ISSN 0890-9369. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1340465> >.

333. MONTÉ, D. et al. Molecular cloning and characterization of human ERM, a new member of the Ets family closely related to mouse PEA3 and ER81 transcription factors. **Oncogene**, v. 9, n. 5, p. 1397-406, May 1994. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8152800> >.
334. JANKNECHT, R. Analysis of the ERK-stimulated ETS transcription factor ER81. **Mol Cell Biol**, v. 16, n. 4, p. 1550-6, Apr 1996. ISSN 0270-7306. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8657129> >.
335. LAGET, M. P. et al. Two functionally distinct domains responsible for transactivation by the Ets family member ERM. **Oncogene**, v. 12, n. 6, p. 1325-36, Mar 1996. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8649835> >.
336. BOJOVIĆ, B. B.; HASSELL, J. A. The PEA3 Ets transcription factor comprises multiple domains that regulate transactivation and DNA binding. **J Biol Chem**, v. 276, n. 6, p. 4509-21, Feb 2001. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11096072> >.
337. WEI, G. H. et al. Genome-wide analysis of ETS-family DNA-binding in vitro and in vivo. **EMBO J**, v. 29, n. 13, p. 2147-60, Jul 2010. ISSN 1460-2075. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20517297> >.
338. HOLLENHORST, P. C.; JONES, D. A.; GRAVES, B. J. Expression profiles frame the promoter specificity dilemma of the ETS family of transcription factors. **Nucleic Acids Res**, v. 32, n. 18, p. 5693-702, 2004. ISSN 1362-4962. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15498926> >.
339. CHOTTEAU-LELIÈVRE, A. et al. Differential expression patterns of the PEA3 group transcription factors through murine embryonic development. **Oncogene**, v. 15, n. 8, p. 937-52, Aug 1997. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9285689> >.
340. CHOTTEAU-LELIEVRE, A. et al. Expression patterns of the Ets transcription factors from the PEA3 group during early stages of mouse development. **Mech Dev**, v. 108, n. 1-2, p. 191-5, Oct 2001. ISSN 0925-4773. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11578874> >.
341. CHOTTEAU-LELIEVRE, A. et al. PEA3 transcription factors are expressed in tissues undergoing branching morphogenesis and promote formation of duct-like structures by mammary epithelial cells in vitro. **Dev Biol**, v. 259, n. 2, p. 241-57, Jul 2003. ISSN 0012-1606. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12871699> >.
342. MAO, J. et al. Fgf-dependent Etv4/5 activity is required for posterior restriction of Sonic Hedgehog and promoting outgrowth of the vertebrate limb. **Dev Cell**, v. 16, n. 4, p. 600-6, Apr 2009. ISSN 1878-1551. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19386268> >.

343. ZHANG, Z. et al. FGF-regulated Ets genes are essential for repressing Shh expression in mouse limb buds. **Dev Cell**, v. 16, n. 4, p. 607-13, Apr 2009. ISSN 1878-1551. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19386269>>.
344. LAING, M. A. et al. Male sexual dysfunction in mice bearing targeted mutant alleles of the PEA3 ets gene. **Mol Cell Biol**, v. 20, n. 24, p. 9337-45, Dec 2000. ISSN 0270-7306. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11094084>>.
345. O'HAGAN, R. C.; HASSELL, J. A. The PEA3 Ets transcription factor is a downstream target of the HER2/Neu receptor tyrosine kinase. **Oncogene**, v. 16, n. 3, p. 301-10, Jan 1998. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9467955>>.
346. BOSCH, D. G.; GOUELI, B. S.; JANKNECHT, R. HER2/Neu-mediated activation of the ETS transcription factor ER81 and its target gene MMP-1. **Oncogene**, v. 20, n. 43, p. 6215-24, Sep 2001. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11593430>>.
347. BOSCH, D. G.; JANKNECHT, R. Regulation of Her2/neu promoter activity by the ETS transcription factor, ER81. **J Cell Biochem**, v. 86, n. 1, p. 174-83, 2002. ISSN 0730-2312. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12112028>>.
348. BENZ, C. C. et al. HER2/Neu and the Ets transcription activator PEA3 are coordinately upregulated in human breast cancer. **Oncogene**, v. 15, n. 13, p. 1513-25, Sep 1997. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9380403>>.
349. ISHIDA, S. et al. Genomic structure and promoter activity of the E1AF gene, a member of the ETS oncogene family. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 339, n. 1, p. 325-30, Jan 2006. ISSN 0006-291X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16297865>>.
350. XING, X. et al. The ets protein PEA3 suppresses HER-2/neu overexpression and inhibits tumorigenesis. **Nat Med**, v. 6, n. 2, p. 189-95, Feb 2000. ISSN 1078-8956. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10655108>>.
351. RAHIM, S.; UREN, A. Emergence of ETS transcription factors as diagnostic tools and therapeutic targets in prostate cancer. **Am J Transl Res**, v. 5, n. 3, p. 254-68, 2013. ISSN 1943-8141. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23634237>>.
352. LIN, B. et al. Prostate-localized and androgen-regulated expression of the membrane-bound serine protease TMPRSS2. **Cancer Res**, v. 59, n. 17, p. 4180-4, Sep 1999. ISSN 0008-5472. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10485450>>.

353. KUMAR-SINHA, C.; TOMLINS, S. A.; CHINNAIYAN, A. M. Recurrent gene fusions in prostate cancer. **Nat Rev Cancer**, v. 8, n. 7, p. 497-511, Jul 2008. ISSN 1474-1768. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18563191>>.
354. RICKMAN, D. S. et al. SLC45A3-ELK4 is a novel and frequent erythroblast transformation-specific fusion transcript in prostate cancer. **Cancer Res**, v. 69, n. 7, p. 2734-8, Apr 2009. ISSN 1538-7445. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19293179>>.
355. PFLUEGER, D. et al. N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1) is fused to ERG in prostate cancer. **Neoplasia**, v. 11, n. 8, p. 804-11, Aug 2009. ISSN 1476-5586. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19649210>>.
356. JANKNECHT, R. Analysis of the ERK-stimulated ETS transcription factor ER81. **Mol Cell Biol**, v. 16, n. 4, p. 1550-6, Apr 1996. ISSN 0270-7306. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8657129>>.
357. HOLBRO, T.; CIVENNI, G.; HYNES, N. E. The ErbB receptors and their role in cancer progression. **Exp Cell Res**, v. 284, n. 1, p. 99-110, Mar 2003. ISSN 0014-4827. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12648469>>.
358. FLEMING, F. J. et al. Expression of SRC-1, AIB1, and PEA3 in HER2 mediated endocrine resistant breast cancer; a predictive role for SRC-1. **J Clin Pathol**, v. 57, n. 10, p. 1069-74, Oct 2004. ISSN 0021-9746. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15452162>>.
359. JANKNECHT, R. et al. The ETS-related transcription factor ERM is a nuclear target of signaling cascades involving MAPK and PKA. **Oncogene**, v. 13, n. 8, p. 1745-54, Oct 1996. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8895521>>.
360. O'HAGAN, R. C. et al. The activity of the Ets transcription factor PEA3 is regulated by two distinct MAPK cascades. **Oncogene**, v. 13, n. 6, p. 1323-33, Sep 1996. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8808707>>.
361. XU, J.; WU, R. C.; O'MALLEY, B. W. Normal and cancer-related functions of the p160 steroid receptor co-activator (SRC) family. **Nat Rev Cancer**, v. 9, n. 9, p. 615-30, Sep 2009. ISSN 1474-1768. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19701241>>.
362. GOEL, A.; JANKNECHT, R. Concerted activation of ETS protein ER81 by p160 coactivators, the acetyltransferase p300 and the receptor tyrosine kinase HER2/Neu. **J Biol Chem**, v. 279, n. 15, p. 14909-16, Apr 2004. ISSN 0021-9258. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14747462>>.
363. QIN, L. et al. The AIB1 oncogene promotes breast cancer metastasis by activation of PEA3-mediated matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and MMP9

- expression. **Mol Cell Biol**, v. 28, n. 19, p. 5937-50, Oct 2008. ISSN 1098-5549. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18644862> >.
364. HIGASHINO, F. et al. Ets-related protein E1A-F can activate three different matrix metalloproteinase gene promoters. **Oncogene**, v. 10, n. 7, p. 1461-3, Apr 1995. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7731700> >.
365. CRAWFORD, H. C. et al. The PEA3 subfamily of Ets transcription factors synergizes with beta-catenin-LEF-1 to activate matrilysin transcription in intestinal tumors. **Mol Cell Biol**, v. 21, n. 4, p. 1370-83, Feb 2001. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11158322> >.
366. BRINCKERHOFF, C. E.; MATRISIAN, L. M. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 3, n. 3, p. 207-14, Mar 2002. ISSN 1471-0072. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11994741> >.
367. KAYA, M. et al. A single ets-related transcription factor, E1AF, confers invasive phenotype on human cancer cells. **Oncogene**, v. 12, n. 2, p. 221-7, Jan 1996. ISSN 0950-9232. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8570199> >.
368. WANG, J. J. et al. Fusion between TMPRSS2 and ETS family members (ERG, ETV1, ETV4) in prostate cancers from northern China. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 13, n. 10, p. 4935-8, 2012. ISSN 1513-7368. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23244085> >.
369. TOMLINS, S. A. et al. Role of the TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. **Neoplasia**, v. 10, n. 2, p. 177-88, Feb 2008. ISSN 1476-5586. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18283340> >.
370. CARVER, B. S. et al. Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. **Nat Genet**, v. 41, n. 5, p. 619-24, May 2009. ISSN 1546-1718. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19396168> >.
371. KING, J. C. et al. Cooperativity of TMPRSS2-ERG with PI3-kinase pathway activation in prostate oncogenesis. **Nat Genet**, v. 41, n. 5, p. 524-6, May 2009. ISSN 1546-1718. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19396167> >.
372. YOSHIMOTO, M. et al. Absence of TMPRSS2:ERG fusions and PTEN losses in prostate cancer is associated with a favorable outcome. **Mod Pathol**, v. 21, n. 12, p. 1451-60, Dec 2008. ISSN 1530-0285. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18500259> >.
373. REID, A. H. et al. Molecular characterisation of ERG, ETV1 and PTEN gene loci identifies patients at low and high risk of death from prostate cancer. **Br J**

- Cancer**, v. 102, n. 4, p. 678-84, Feb 2010. ISSN 1532-1827. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20104229> >.
374. HOLLENHORST, P. C. et al. Oncogenic ETS proteins mimic activated RAS/MAPK signaling in prostate cells. **Genes Dev**, v. 25, n. 20, p. 2147-57, Oct 2011. ISSN 1549-5477. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22012618> >.
375. TOMLINS, S. A. et al. Distinct classes of chromosomal rearrangements create oncogenic ETS gene fusions in prostate cancer. **Nature**, v. 448, n. 7153, p. 595-9, Aug 2007. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17671502> >.
376. PELLECCIA, A. et al. Overexpression of ETV4 is oncogenic in prostate cells through promotion of both cell proliferation and epithelial to mesenchymal transition. **Oncogenesis**, v. 1, p. e20, 2012. ISSN 2157-9024. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23552736> >.
377. PAULO, P. et al. FLI1 is a novel ETS transcription factor involved in gene fusions in prostate cancer. **Genes Chromosomes Cancer**, v. 51, n. 3, p. 240-9, Mar 2012. ISSN 1098-2264. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22081504> >.
378. HIDA, K. et al. Expression of E1AF, an ets-family transcription factor, is correlated with the invasive phenotype of oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol**, v. 33, n. 6, p. 426-30, Nov 1997. ISSN 1368-8375. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9509127> >.
379. HIROUMI, H. et al. Expression of E1AF/PEA3, an Ets-related transcription factor in human non-small-cell lung cancers: its relevance in cell motility and invasion. **Int J Cancer**, v. 93, n. 6, p. 786-91, Sep 2001. ISSN 0020-7136. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11519038> >.
380. DE LAUNOIT, Y. et al. The PEA3 group of ETS-related transcription factors. Role in breast cancer metastasis. **Adv Exp Med Biol**, v. 480, p. 107-16, 2000. ISSN 0065-2598. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10959416> >.
381. DISCENZA, M. T. et al. Activation of the WT1 tumor suppressor gene promoter by Pea3. **FEBS Lett**, v. 560, n. 1-3, p. 183-91, Feb 2004. ISSN 0014-5793. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14988020> >.
382. JIANG, J. et al. E1AF promotes breast cancer cell cycle progression via upregulation of Cyclin D3 transcription. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 358, n. 1, p. 53-8, Jun 2007. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17467662> >.
383. YU, Z. et al. Antitumor activity of an Ets protein, PEA3, in breast cancer cell lines MDA-MB-361DYT2 and BT474M1. **Mol Carcinog**, v. 45, n. 9, p. 667-75,

- Sep 2006. ISSN 0899-1987. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16652376> >.
384. HORIUCHI, S. et al. Association of ets-related transcriptional factor E1AF expression with tumour progression and overexpression of MMP-1 and matrilysin in human colorectal cancer. **J Pathol**, v. 200, n. 5, p. 568-76, Aug 2003. ISSN 0022-3417. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12898592> >.
385. BOEDEFELD, W. M. et al. E1A-F is overexpressed early in human colorectal neoplasia and associated with cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-7. **Mol Carcinog**, v. 43, n. 1, p. 13-7, May 2005. ISSN 0899-1987. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15800927> >.
386. NOSHO, K. et al. Association of Ets-related transcriptional factor E1AF expression with overexpression of matrix metalloproteinases, COX-2 and iNOS in the early stage of colorectal carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 26, n. 5, p. 892-9, May 2005. ISSN 0143-3334. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15695237> >.
387. MOSS, A. C. et al. ETV4 and Myeov knockdown impairs colon cancer cell line proliferation and invasion. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 345, n. 1, p. 216-21, Jun 2006. ISSN 0006-291X. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16678123> >.
388. LIU, H. Y. et al. Association of E1AF mRNA expression with tumor progression and matrilysin in human rectal cancer. **Oncology**, v. 73, n. 5-6, p. 384-8, 2007. ISSN 1423-0232. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18511876> >.
389. JUNG, Y. et al. Clinical validation of colorectal cancer biomarkers identified from bioinformatics analysis of public expression data. **Clin Cancer Res**, v. 17, n. 4, p. 700-9, Feb 2011. ISSN 1078-0432. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21304002> >.
390. DEVES, C. et al. Analysis of select members of the E26 (ETS) transcription factors family in colorectal cancer. **Virchows Arch**, v. 458, n. 4, p. 421-30, Apr 2011. ISSN 1432-2307. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21318373> >.
391. YAMAMOTO, H. et al. Expression of ets-related transcriptional factor E1AF is associated with tumor progression and over-expression of matrilysin in human gastric cancer. **Carcinogenesis**, v. 25, n. 3, p. 325-32, Mar 2004. ISSN 0143-3334. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14604892> >.
392. KELD, R. et al. The ERK MAP kinase-PEA3/ETV4-MMP-1 axis is operative in oesophageal adenocarcinoma. **Mol Cancer**, v. 9, p. 313, 2010. ISSN 1476-4598. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21143918> >.

393. DAVIDSON, B. et al. PEA3 is the second Ets family transcription factor involved in tumor progression in ovarian carcinoma. **Clin Cancer Res**, v. 9, n. 4, p. 1412-9, Apr 2003. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12684413> >.
394. DAVIDSON, B. et al. The clinical role of the PEA3 transcription factor in ovarian and breast carcinoma in effusions. **Clin Exp Metastasis**, v. 21, n. 3, p. 191-9, 2004. ISSN 0262-0898. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15387369> >.
395. HANZAWA, M. et al. Hepatocyte growth factor upregulates E1AF that induces oral squamous cell carcinoma cell invasion by activating matrix metalloproteinase genes. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 6, p. 1079-85, Jun 2000. ISSN 0143-3334. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10836994> >.
396. JANKNECHT, R. EWS-ETS oncoproteins: the linchpins of Ewing tumors. **Gene**, v. 363, p. 1-14, Dec 2005. ISSN 0378-1119. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16202544> >.
397. PETER, M. et al. A new member of the ETS family fused to EWS in Ewing tumors. **Oncogene**, v. 14, n. 10, p. 1159-64, Mar 1997. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9121764> >.
398. JEON, I. S. et al. A variant Ewing's sarcoma translocation (7;22) fuses the EWS gene to the ETS gene ETV1. **Oncogene**, v. 10, n. 6, p. 1229-34, Mar 1995. ISSN 0950-9232. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7700648> >.
399. URANO, F. et al. A novel chimera gene between EWS and E1A-F, encoding the adenovirus E1A enhancer-binding protein, in extraosseous Ewing's sarcoma. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 219, n. 2, p. 608-12, Feb 1996. ISSN 0006-291X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8605035> >.
400. LU, B. C. et al. Etv4 and Etv5 are required downstream of GDNF and Ret for kidney branching morphogenesis. **Nat Genet**, v. 41, n. 12, p. 1295-302, Dec 2009. ISSN 1546-1718. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19898483> >.
401. COSTANTINI, F.; SHAKYA, R. GDNF/Ret signaling and the development of the kidney. **Bioessays**, v. 28, n. 2, p. 117-27, Feb 2006. ISSN 0265-9247. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16435290> >.
402. DRESSLER, G. R. The cellular basis of kidney development. **Annu Rev Cell Dev Biol**, v. 22, p. 509-29, 2006. ISSN 1081-0706. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16822174> >.

403. SCHEDL, A. Renal abnormalities and their developmental origin. **Nat Rev Genet**, v. 8, n. 10, p. 791-802, Oct 2007. ISSN 1471-0064. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17878895>>.
404. SAXÉN, L.; SARIOLA, H. Early organogenesis of the kidney. **Pediatr Nephrol**, v. 1, n. 3, p. 385-92, Jul 1987. ISSN 0931-041X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3153305>>.
405. HOY, W. E. et al. Nephron number, glomerular volume, renal disease and hypertension. **Curr Opin Nephrol Hypertens**, v. 17, n. 3, p. 258-65, May 2008. ISSN 1062-4821. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18408476>>.
406. TAKAHASHI, M. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 12, n. 4, p. 361-73, Dec 2001. ISSN 1359-6101. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11544105>>.
407. COSTANTINI, F. Renal branching morphogenesis: concepts, questions, and recent advances. **Differentiation**, v. 74, n. 7, p. 402-21, Sep 2006. ISSN 0301-4681. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16916378>>.
408. SKINNER, M. A. et al. Renal aplasia in humans is associated with RET mutations. **Am J Hum Genet**, v. 82, n. 2, p. 344-51, Feb 2008. ISSN 1537-6605. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18252215>>.
409. LIVET, J. et al. ETS gene Pea3 controls the central position and terminal arborization of specific motor neuron pools. **Neuron**, v. 35, n. 5, p. 877-92, Aug 2002. ISSN 0896-6273. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12372283>>.
410. CHEN, C et al. ERM is required for transcriptional control of the spermatogonial stem cell niche. **Nature**, v. 436, n. 7053, p. 1030-4, Aug 2005. ISSN 1476-4687. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16107850>>.
411. BRENT, A. E.; TABIN, C. J. FGF acts directly on the somitic tendon progenitors through the Ets transcription factors Pea3 and Erm to regulate scleraxis expression. **Development**, v. 131, n. 16, p. 3885-96, Aug 2004. ISSN 0950-1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15253939>>.
412. BROWN, T.A. Gene Cloning and DNA Analysis: na introduction. 6. ed. 2013
413. LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-8, Dec 2001. ISSN 1046-2023. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11846609>>.
414. XU, D. et al. Quantitative real-time RT-PCR detection for CEA, CK20 and CK19 mRNA in peripheral blood of colorectal cancer patients. **J Zhejiang Univ Sci**

- B**, v. 7, n. 6, p. 445-51, Jun 2006. ISSN 1673-1581. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16691638> >.
415. KHEIRELSEID, E. A. et al. Identification of endogenous control genes for normalisation of real-time quantitative PCR data in colorectal cancer. **BMC Mol Biol**, v. 11, p. 12, 2010. ISSN 1471-2199. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20122155> >.
416. IMAZANO, Y. et al. Correlation between thymidine phosphorylase expression and prognosis in human renal cell carcinoma. **J Clin Oncol**, v. 15, n. 7, p. 2570-8, Jul 1997. ISSN 0732-183X. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9215827> >.
417. SHIMAOKA, S. et al. The role of thymidine phosphorylase expression in the invasiveness of gastric carcinoma. **Cancer**, v. 88, n. 10, p. 2220-7, May 2000. ISSN 0008-543X. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10820342> >.
418. MAEHARA, Y. et al. Species differences in substrate specificity of pyrimidine nucleoside phosphorylase. **J Surg Oncol**, v. 42, n. 3, p. 184-6, Nov 1989. ISSN 0022-4790. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2811382> >.
419. THOMPSON, I. M. et al. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. **J Natl Cancer Inst**, v. 98, n. 8, p. 529-34, Apr 2006. ISSN 1460-2105. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16622122> >.
420. PICARD, J. C. et al. The multi-disciplinary management of high-risk prostate cancer. **Urol Oncol**, v. 30, n. 1, p. 3-15, 2012 Jan-Feb 2012. ISSN 1873-2496. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19945310>>.
421. KOBAYASHI, Y. et al. Enzymatic activities of uridine and thymidine phosphorylase in normal and cancerous uterine cervical tissues. **Hum Cell**, v. 20, n. 4, p. 107-10, Nov 2007. ISSN 0914-7470. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17949350> >.
422. YASUNO, M. et al. Importance of thymidine phosphorylase expression in tumor stroma as a prognostic factor in patients with advanced colorectal carcinoma. **Oncol Rep**, v. 13, n. 3, p. 405-12, Mar 2005. ISSN 1021-335X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15706408> >.
423. OPPENHEIM, J. J. et al. Properties of the novel proinflammatory supergene "intercrine" cytokine family. **Annu Rev Immunol**, v. 9, p. 617-48, 1991. ISSN 0732-0582. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1910690> >.
424. TAKAHASHI, Y. et al. Platelet-derived endothelial cell growth factor in human [COLON](#) cancer angiogenesis: role of infiltrating cells. **J Natl Cancer Inst**, v. 88, n. 16, p. 1146-51, Aug 1996. ISSN 0027-8874. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8757194> >.

425. NOZAWA, M. et al. Prostate-specific transcription factor hPSE is translated only in normal prostate epithelial cells. **Cancer Res**, v. 60, n. 5, p. 1348-52, Mar 2000. ISSN 0008-5472. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10728697> >.
426. WANG, J. J. et al. Fusion between TMPRSS2 and ETS family members (ERG, ETV1, ETV4) in prostate cancers from northern China. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 13, n. 10, p. 4935-8, 2012. ISSN 1513-7368. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23244085> >.
427. AYLES, A. et al. ETV4 promotes metastasis in response to activation of PI3-kinase and Ras signaling in a mouse model of advanced prostate cancer. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 110, n. 37, p. E3506-15, Sep 2013. ISSN 1091-6490. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23918374> >.
428. TAYLOR, B. S. et al. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. **Cancer Cell**, v. 18, n. 1, p. 11-22, Jul 2010. ISSN 1878-3686. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20579941> >.
429. SPAN, P. N. et al. E1AF expression levels are not associated with prognosis in human breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, v. 79, n. 1, p. 129-31, May 2003. ISSN 0167-6806. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12779089> >.
430. XIA, W. Y. et al. Expression of PEA3 and lack of correlation between PEA3 and HER-2/neu expression in breast cancer. **Breast Cancer Res Treat**, v. 98, n. 3, p. 295-301, Aug 2006. ISSN 0167-6806. Disponível em:
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16752078> >.

