

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS À
INFLAMAÇÃO E AO ESTRESSE OXIDATIVO EM
PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Rafael Arrua da Silveira

**Santa Maria, RS, Brasil
2013**

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS À
INFLAMAÇÃO E AO ESTRESSE OXIDATIVO EM
PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA**

Rafael Arrua da Silveira

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Análises Clínicas e Toxicológicas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Rafael Noal Moresco

Santa Maria, RS, Brasil

2013

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS À INFLAMAÇÃO
E AO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM CÂNCER DE
PRÓSTATA**

elaborada por
Rafael Arrua da Silveira

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Rafael Noal Moresco, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Roberto Christ Vianna Santos, Dr. (UNIFRA)

Rodrigo de Almeida Vaucher, Dr. (UNIFRA)

Santa Maria, 28 de janeiro de 2013.

DEDICATÓRIA

Agradeço acima de tudo e em primeiro lugar ao Grande Arquiteto do Universo, que é DEUS, pela oportunidade da vida, pela minha saúde física, mental e espiritual, pelas minhas conquistas e pelos desafios que me fazem evoluir em busca de ser uma pessoa melhor.

Agradeço aos meus pais, pelo amor, carinho, educação, confiança, oportunidade e, pelos inúmeros esforços que vocês fizeram por mim. Vocês sempre acreditaram em mim e me ensinaram, através dos seus exemplos de vida, os valores éticos e morais para que eu me tornasse um homem justo e de bem. Podem ter certeza que me esforço muito para não decepcioná-los. Amo muito vocês. Mãe, obrigado por todas as conversas e cafezinhos. Pai obrigado por me encaminhar na vida, saudades...

Agradeço de coração a Angélica: minha esposa, meu grande amor, minha amiga e parceira de todas as horas. Agradeço por tu fazer parte da minha vida. Juntos, aprendemos a caminhar, a evoluir, a nos respeitar e nos valorizar. Graças a ti, tenho paz quando chego em casa, tenho força para seguir em frente, me sinto feliz e completo. Te amo muito!

Agradeço muito a minha irmã Luciana. Além dos laços de sangue, temos os de alma, que nos unem fortemente. Tu és minha verdadeira amiga, confidente, colega de profissão, meu porto seguro. Por ti tenho um amor e admiração imensuráveis. Beijos pra ti, Léo e Marcos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente ao professor Dr. Rafael Noal Moresco, pela oportunidade de fazer parte de seu grupo de pesquisa, pois para mim é uma honra e um desafio ser orientado por um professor de tamanha competência, dedicação, sabedoria, espírito empreendedor e, que principalmente, compartilha seus conhecimentos. A educação brasileira precisa de profissionais assim, que nivelem seus alunos pela excelência, que os motivem a estudar e aprender cada vez mais. Além de um respeitado pesquisador, tu és uma pessoa de bom coração, agregadora, um amigo que sabe ouvir, compreender e está sempre disposto a ajudar. Acredito que além ter um competente orientador, tenho um amigo.

Agradeço aos meus colegas e amigos do Labclin: Helena, Etiane, Bruna, Manu, Taís, Carine, Lara, Naiara, Guilherme, Zé, Chicotta, Thiago; pelo coleguismo, amizade, alegria, motivação. Obrigado por estarem sempre dispostos a ajudar e trocar conhecimento em prol da evolução de todo o grupo. Aprendi muito com todos vocês. Vocês são 10.

Taís, Carine e Guilherme: obrigado pela boa vontade, paciência e tempo que vocês dedicaram em me ajudar. Sem o apoio de vocês teria sido muito mais difícil. Sou muito grato.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Maria pela oportunidade de poder realizar meu mestrado nesta universidade pública e de reconhecida qualidade. Espero poder retribuir à sociedade de alguma maneira.

Agradeço ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico - CNPq / Brasil, pelo apoio e financiamento desta pesquisa.

Agradeço aos professores Dr. Roberto Christ Vianna Santos e Dr. Rodrigo de Almeida Vaucher por fazerem parte da comissão examinadora da defesa da minha dissertação.

Agradeço a todos os professores com que tive aula durante o mestrado, especialmente aos professores: Dra. Melânia Palermo, Dr. Sidney Hartz e Dr. José Edson, por compartilharem seus conhecimentos e por nos motivarem em relação à pesquisa científica.

Agradeço a Prof^ª. Dra. Margareth Linde Athayde, coordenadora do PPGCF e ao Paulo Ricardo J. Cosaota, secretário do PPGCF, pela competência, por estarem sempre dispostos e com muita boa vontade para nos auxiliar.

Agradecimento especial a professora Dra. Sandra Beck, que me incentivou a fazer mestrado e oportunizou o primeiro contato com o professor Dr. Rafael Noal Moresco.

Agradeço a todos os meus colegas do Laboratório Oswaldo Cruz, que sempre estiveram dispostos a ajudar na minha pesquisa. Agradeço especialmente aos meus colegas Carlos Hugo e Renata pelo constante apoio, incentivo e por compartilharem seus conhecimentos.

Agradeço ao Dr. Adão Scardoelli e ao Dr. Jaime Lutzk pelos ensinamentos e por nossa fraterna convivência.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS À INFLAMAÇÃO E AO ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA

AUTOR: RAFAEL ARRUA DA SILVEIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. RAFAEL NOAL MORESCO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 28 de janeiro de 2013

As mudanças nas últimas décadas no perfil de morbi-mortalidade do câncer de próstata (CAP) vem se tornando um problema de saúde pública em vários países, inclusive no Brasil. Vários estudos apresentam evidências de que os processos inflamatórios e o estresse oxidativo são considerados importantes mecanismos envolvidos na patogênese e progressão do CAP, pois induzem o crescimento celular aberrante, a proliferação e a transformação neoplásica das células. Considerando a interação destes diferentes mecanismos com o CAP, o objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de proteína C-reativa (PCR), considerado um biomarcador de processo inflamatório, assim como avaliar os níveis de albumina modificada pela isquemia (IMA) e da capacidade de redução do ferro no plasma (FRAP), novos biomarcadores de estresse oxidativo, em pacientes com CAP. Este estudo incluiu 30 indivíduos saudáveis e 25 pacientes com CAP, que tiveram dosados os níveis de PCR, IMA, FRAP, glicose, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicérides, ácido úrico, creatinina, albumina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), adenosina desaminase (ADA), antígeno prostático específico total (tPSA), antígeno prostático específico livre (fPSA) e fração livre do PSA (fPSA%). As concentrações de tPSA, PCR e IMA foram significativamente maiores em pacientes com CAP, enquanto que as concentrações de FRAP e fPSA%, foram significativamente menores nestes mesmos pacientes. Também foi possível observar correlações significativas entre fPSA% e PCR ($r = -0,5059$, $P < 0,001$) e tPSA e PCR ($r = 0,5104$, $P < 0,001$). Estes resultados sugerem que os processos inflamatórios e oxidativos estão aumentados no câncer da próstata, assim como há uma redução das defesas antioxidantes nesta patologia.

Palavras-chave: câncer de próstata, estresse oxidativo, inflamação, proteína C-reativa

ABSTRACT

Master Dissertation
Post Graduate Course on Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

ASSESSMENT OF BIOMARKERS RELATED TO INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH PROSTATE CANCER

AUTHOR: RAFAEL ARRUA DA SILVEIRA

ADVISOR: PROF. DR. RAFAEL NOAL MORESCO

DATE AND PLACE: JANUARY 28ST, 2013, SANTA MARIA

Changes in recent decades in morbidity and mortality of prostate cancer (CAP) is making it a public health problem in several countries, including Brazil. Several studies provide evidence that inflammatory processes and oxidative stress are considered important mechanisms involved in the pathogenesis and progression of CAP, as they induce aberrant cell growth, proliferation and neoplastic transformation of cells. Considering the interaction of these different mechanisms to the CAP, the objective of this study was to evaluate the levels of C-reactive protein (CRP), considered a biomarker of inflammation, as well as the assessment of ischemia modified albumin (IMA) and the ability reduction of iron in plasma (FRAP), novel biomarkers of oxidative stress in patients with CAP. This study included 30 healthy subjects and 25 patients with CAP, which had measured CRP levels, IMA, FRAP, glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, uric acid, creatinine, albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), adenosine deaminase (ADA), prostate specific antigen total (tPSA), free prostate specific antigen (fPSA) and fraction of free PSA (fPSA%). The concentrations of tPSA, CRP and IMA were significantly higher in patients with CAP, whereas the concentrations of FRAP and fPSA%, were significantly lower in these same patients. It was also possible to observe significant correlations between fPSA and CRP ($r = -0.5059$, $P < 0.001$) and tPSA and CRP ($r = 0.5104$, $P < 0.001$). These results suggest that oxidative and inflammatory processes are increased in prostate cancer, and there is a reduction in the antioxidant defenses in this pathology.

Keywords: C-reactive protein, inflammation, oxidative stress, prostate cancer.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Anatomia da próstata humana.....	15
FIGURA 2 - Contribuição da inflamação para o início e progressão de neoplasias.....	24
FIGURA 3 - Mecanismos envolvidos na produção de EROs e respostas observadas em células da próstata	28

MANUSCRITO I

FIGURE 1 - <i>Concentrations of (A) CRP, (B) ADA, (C) IMA, and (D) FRAP observed in the study population. Data are expressed as mean \pm SD. *$P < 0.05$ and **$P < 0.001$ compared to control subjects.....</i>	53
---	----

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO I

TABLE 1 – <i>Baseline characteristics of study patients</i>	52
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CAP: Câncer de próstata

PSA: Antígeno prostático específico

tPSA: Antígeno prostático específico total

fPSA: Antígeno prostático específico livre

fPSA%: Fração livre do antígeno prostático específico

EROs: Espécies reativas de oxigênio

ROS: *Reactive oxygen species*

HDL: Lipoproteína de alta densidade

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

HPB: Hiperplasia prostática benigna

IMA: *Ischemia-modified albumin* (albumina modificada pela isquemia)

INCA: Instituto Nacional do Câncer

OMS: Organização Mundial de Saúde

PCR: Proteína C-reativa

SBU: Sociedade Brasileira de Urologia

IGF1: Fator de crescimento-1

HPC1: *Hereditary prostate cancer 1*

IL-1b: Intreleucina 1b

IL-6: Interleucina 6

TNF- α : Fator de crescimento tumoral α

HPV: Papiloma vírus humano

COX-2: Ciclo-oxigenase-2

NSAIDs : Anti-inflamatórios não-esteroidais

FDA: *Food and Drug Administration*

SOD: Superóxido dismutase

MDA: Malondialdeído

ADA: Adenosina desaminase

TFG: Taxa de filtração glomerular

AST: Aspartato aminotransferase

ALT: Alanina aminotransferase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Próstata.....	15
1.2 Principais patologias da próstata	16
1.2.1 Prostatite	16
1.2.2 Hiperplasia prostática benigna.....	17
1.2.3 Câncer de próstata	18
1.3 A inflamação no câncer de próstata.....	22
1.4 O estresse oxidativo no câncer de próstata	25
1.5 Biomarcadores laboratoriais associados ao câncer de próstata.....	29
1.5.1 Antígeno prostático específico total (tPSA)	29
1.5.2 Antígeno prostático específico livre (fPSA).....	31
1.5.3 Proteína C-reativa (PCR).....	32
1.5.4 Adenosina desaminase (ADA)	34
1.5.5 Albumina modificada pela isquemia (IMA).....	34
1.5.6 Capacidade de redução do ferro no plasma (FRAP)	35
2 OBJETIVOS	37
2.1 Objetivo Geral.....	37
2.2 Objetivos Específicos.....	37
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	38
4 CONCLUSÕES.....	54
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXO A- Carta de Aprovação do Comitê de Ética-UFSM.....	68
ANEXO B- Comprovante de submissão do artigo para publicação.....	69

APRESENTAÇÃO

Os resultados que fazem parte desta dissertação estão apresentados sob a forma de artigo, o qual se encontra no item **ARTIGO CIENTÍFICO**. As seções Materiais e Métodos, Resultados e Discussão encontram-se no próprio artigo e representam a íntegra deste estudo. O item **CONCLUSÕES**, encontrado no final desta dissertação, apresenta interpretações e comentários gerais sobre o artigo científico contido neste trabalho. As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens **INTRODUÇÃO e CONCLUSÕES** desta dissertação, uma vez que as referências utilizadas para a elaboração do artigo estão mencionadas no próprio artigo, que está disposto na versão submetida para o periódico *Inflammation*.

1 INTRODUÇÃO

O câncer de próstata (CAP) tornou-se um problema de saúde pública em muitos países na últimas décadas. Nos Estados Unidos, é o câncer mais diagnosticado e a segunda maior causa de morte entre todos os tipos de câncer que acometem a população masculina (Siegel et al., 2011). No Brasil, entre os indivíduos do sexo masculino, sua taxa de incidência é a segunda maior entre todos os tipos de câncer, sendo que apenas as neoplasias de pele possuem taxas de incidência maiores (Datasus, 2010).

Estudos recentes vêm demonstrando que são vários os fatores de risco associados com o desenvolvimento do CAP, tais como: fatores genéticos, agentes ambientais cancerígenos, desequilíbrio hormonal androgênico causado pelo envelhecimento, dieta alimentar, estresse oxidativo, inflamação, entre outros (Khandrika et al., 2009). Desde a primeira descrição de uma associação entre infiltrados inflamatórios e atrofia proliferativa do epitélio prostático, existem evidências epidemiológicas indicando que a inflamação desempenha um papel chave na promoção de doenças neoplásicas (Nelson et al., 2004; Pollard, 2004; Balkwill et al., 2005). Evidências atuais sugerem que a inflamação está envolvida na patogênese e progressão do CAP e que a resposta inflamatória, evidenciada pelo elevado nível de proteína C-reativa (PCR), também possui importância como um fator prognóstico em pacientes com CAP em estágios mais avançados (Saito et al., 2012).

Além da presença do processo inflamatório no CAP, também há um aumento no estresse oxidativo evidenciado pela excessiva produção de radicais livres e/ou pela deficiência dos mecanismos de defesa antioxidantes (Khandrika et al., 2009; Vassalle et al., 2008). Este desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes provoca danos às estruturas biológicas, sendo que o aumento na geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) tem sido associada a danos aos tecidos, danos no DNA mitocondrial, crescimento e proliferação celular, podendo causar a transformação neoplásica das células da próstata (Khandrika et al., 2009).

Após a introdução do uso do antígeno prostático específico total (tPSA) para rastrear o CAP, em associação com o exame de toque retal, as taxas de incidência aumentaram acentuadamente, pois esta associação tem sido utilizada para o diagnóstico precoce do CAP, o que confere uma boa sensibilidade ao tPSA (Crawford, 2003). Entretanto, atualmente sabe-se

que os níveis de tPSA também são alterados por outras patologias prostáticas não neoplásicas e, portanto, sua especificidade para o diagnóstico do CAP ainda é amplamente discutida.

Com isso, considerando a importância em termos epidemiológicos do CAP, aliado as limitações diagnósticas associadas ao tPSA e à complexidade dos mecanismos envolvidos na patogênese do CAP, é importante que sejam conduzidos estudos que investiguem o potencial de novos biomarcadores que possam contribuir no diagnóstico, monitoramento e/ou avaliação prognóstica de pacientes com CAP.

1.1 Próstata

A próstata é uma pequena glândula que pesa em média 20g, localizada na frente do reto, logo abaixo da bexiga, na parte inicial da uretra e faz parte do sistema reprodutivo masculino. Esta glândula é composta por várias regiões, ou lobos, que são envolvidas por uma camada externa de tecido (cápsula). As diferentes zonas são: periférica, central, estroma fibromuscular anterior e de transição, conforme apresentado na Figura 1. A zona de transição, que fica em torno da uretra, aumenta de forma hormonalmente dependente.

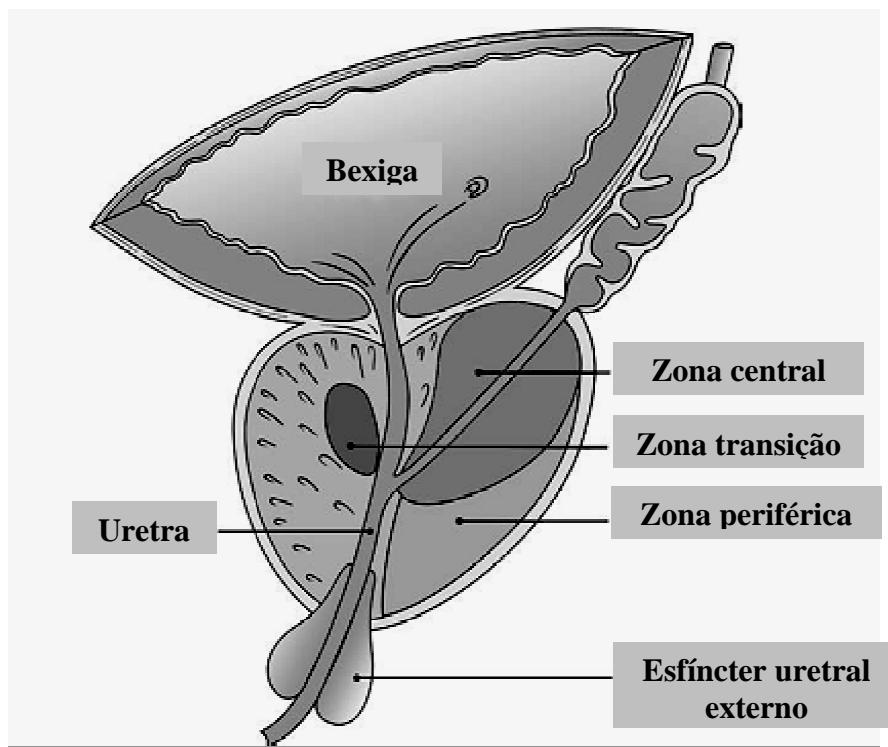


Fig.1 Anatomia da próstata humana. Readaptado de Risbridger, et al., 2006.

A principal função da próstata é secretora; ela produz o fluido prostático que compõe aproximadamente 30% do volume de esperma, sendo que os outros 70% do volume são secretados pelas vesículas seminais. O fluido prostático sairá juntamente com o esperma, ajudando a neutralizar o ambiente ácido da vagina e fornecendo carboidratos (frutose) e outros nutrientes para os espermatozoides. É um canal para a passagem do sêmen que impede a ejaculação retrógrada (a ejaculação na qual sêmen é forçado para trás, em direção à bexiga), fechando o colo da bexiga durante o clímax sexual, pois a ejaculação envolve a contração coordenada de vários componentes, incluindo os músculos lisos das vesículas seminais, os vasos deferentes, os dutos ejaculatórios e os músculos isquiocavernosos e bulbocavernosos (Poirot et al., 2005; Tanagho et al., 2007).

A próstata aumenta de tamanho, fisiologicamente, na puberdade devido à influência do hormônio testosterona, até que a produção do mesmo começa a diminuir por volta dos 40 anos de idade. Aos cinquenta anos, a conversão de testosterona em deidrotestosterona (DHT) aumenta, podendo causar inchaço na glândula (Salgueiro et al., 2001). Se houver evolução do inchaço, a próstata pode pressionar a uretra causando uma obstrução no fluxo da urina. Esta obstrução provoca danos à bexiga, aos rins e aos ureteres, podendo assim, aumentar a probabilidade de ocorrer infecção urinária devido ao resíduo da urina que não é eliminada (Guyton et al., 2006).

1.2 Principais patologias relacionadas à próstata

1.2.1 Prostatite

Refere-se à infecção ou inflamação da próstata, podendo ser aguda ou crônica. A prostatite acomete homens mais jovens entre 20 e 50 anos, sendo que a maioria das prostatites (50 a 70%) é causada por bactérias, como a *chlamydia*, por fungos, vírus e o bacilo da tuberculose. Nos jovens portadores de uretrites venéreas é muito frequente a migração das bactérias para o interior da próstata. Os sintomas mais frequentes podem incluir: febre, dores hipogástricas, perineais, desconforto ao nível do testículo e uretra, secreção uretral, hemoespermia, aumento do número de micções, dificuldade e urgência para urinar, com uma

sensação de ardor ou dor durante a micção e eventualmente retenção urinária e dificuldades no relacionamento sexual (Dall'oglio et al., 2004).

Segundo a Sociedade Brasileira de Urologia (SBU), o diagnóstico é realizado através do toque retal (analisando o tamanho, limites, consistência e sensibilidade da próstata), bacterioscopia e cultura da secreção prostática. Pode-se ainda, solicitar exames de imagem (ultra-som endorectal com ecodoppler a cores) e exames de sangue, como o tPSA, que na maioria das vezes encontrará seus níveis aumentados. O tratamento deve ser orientado por um médico urologista, incluindo o uso de antimicrobianos específicos para as bactérias isoladas, anti-inflamatórios, analgésicos e outras medidas terapêuticas de sustentação clínica além do rigoroso controle clínico realizado pelo médico (Sociedade Brasileira de Urologia, 2011).

1.2.2 Hiperplasia prostática benigna (HPB)

A hiperplasia prostática benigna (HPB) ocorre quando há um espessamento do tecido prostático e/ou um aumento do volume da próstata, representado por um crescimento nodular de uma das regiões da próstata. À medida que a próstata aumenta de tamanho, a cápsula ao redor impede sua expansão imediata, resultando subsequentemente em compressão uretral. Acredita-se que a disfunção da bexiga induzida por obstrução contribui significativamente para os sintomas, pois a parede da bexiga se torna mais espessa, trabeculada e irritável quando é forçada a hipertrofiar e aumentar sua força contrátil (Dall'oglio et al., 2004). A bexiga pode enfraquecer gradualmente e perder a capacidade de se esvaziar por completo, levando assim a um aumento no volume residual de urina e, às vezes, à retenção urinária aguda ou crônica, que por sua vez pode aumentar a probabilidade de causar infecção urinária (Guyton et al., 2006).

Após os quarenta anos, verifica-se um novo arranjo fisiológico na produção dos hormônios masculinos, principalmente na testosterona, o que pode ocasionar uma mudança na composição tecidual da próstata, na qual o tecido glandular chamado de "estroma", que se encontra entremeado de tecido muscular liso em uma relação de 2:1, pode atingir a proporção de 5:1, ou seja, cinco vezes mais tecido muscular do que glandular na próstata, caracterizando uma HPB. Este tecido muscular se contrai por ação do hormônio noradrenalina, agravando o efeito compressor da próstata sobre a uretra. Assim, quando se bloqueia a atividade da noradrenalina, pode-se obter alívio dos sintomas urinários associados ao crescimento anormal da próstata (Salgueiro et al., 2001). Nem sempre o volume da próstata corresponde à

gravidade dos sintomas da doença. Há pacientes com próstatas pouco aumentadas, mas com sintomatologia acentuada e vice-versa.

A presença de HPB não significa que o paciente desenvolverá CAP no futuro (Rhoden et al., 2004), porém, a SBU reforça a importância do exame urológico, incluindo sempre o toque retal. As medidas diagnósticas adotadas devem levar em consideração a história clínica do paciente, os sintomas, o exame físico (toque retal), a dosagem dos níveis de tPSA, sendo ainda recomendável a ultrassonografia trans-retal com biópsia, como complemento diagnóstico (Sociedade Brasileira de Urologia, 2011).

1.2.3 Câncer de próstata (CAP)

Em 2011, nos Estados Unidos, cerca de 240.000 homens foram diagnosticados com CAP, além de uma ocorrência de aproximadamente 34.000 mortes específicas por CAP (Siegel et al., 2011). No Brasil, o CAP apresentou uma taxa de incidência de 53,84 casos por 100.000 homens no biênio 2010-2011, com 12.778 mortes registradas em 2010, sendo que o estado do Rio Grande do Sul apresentou a maior incidência de CAP (80,40 casos por 100.000 habitantes do sexo masculino) e a maior taxa de mortalidade específica por CAP (17,86%) entre todas as unidades federativas do Brasil (Datusus, 2010).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), os tumores podem ser benignos (não cancerosos) ou malignos (cancerosos). As células desses tumores são anormais, se dividem sem controle, sem ordem e não morrem, podendo ainda invadir e danificar os tecidos e órgãos vizinhos. As células cancerosas podem se desprender de um tumor maligno e entrar na corrente sanguínea e/ou no sistema linfático, se espalhando desde o local original (primário) do câncer para formar novos tumores (secundários) em outros órgãos (metástases). Segundo Rhoden e colaboradores (2004), a história natural do câncer da próstata é variável conforme o paciente e pode estender-se silenciosamente por muitos anos. O tumor no início não apresenta sinais e sintomas e sua evolução pode ser indolente e silenciosa até que os sintomas clínicos se manifestem. Quando o câncer se dissemina para fora da próstata, as células cancerosas são encontradas com frequência nos gânglios linfáticos isolados, significando que as células cancerosas podem ter se disseminado para outros órgãos, como fígado, bexiga, reto e os ossos. Quando o câncer se espalha da sua localização original para outra parte do corpo, o novo tumor tem o mesmo tipo e o mesmo nome das células anormais do tumor primário. Cerca de

20% dos casos de próstatas com hipertrofia desenvolvem o câncer, sendo que em pelo menos 80% desses casos não acontece a metástase. Dessa forma, é muito importante realizar os exames preventivos, pois os tumores sendo diagnosticados na fase inicial (tumores localizados apenas dentro da glândula prostática) têm alto potencial de cura com redução da morbidade e mortalidade (Rhoden et al., 2004).

De acordo com Khandrika e colaboradores (2009), a incidência do CAP surge de um conjunto de fatores etiológicos, múltiplos e interativos, tais como: idade, raça, hormônios, genes, dieta alimentar, exposição ambiental, inflamação, estresse oxidativo, entre outros. O CAP também é uma doença associada ao envelhecimento (Crawford, 2003). No Brasil, a maioria dos casos de câncer próstata são diagnosticados em homens com mais de 60 anos de idade (Datusus, 2010), sendo, portanto, relativamente raro o CAP ser diagnosticado em homens com menos de 50 anos de idade, porém, após essa idade, as taxas de incidência e mortalidade aumentam exponencialmente (Crawford, 2003). Carter e colaboradores (1990) mostraram que 20% dos homens com idade entre 50 a 60 anos e 50% daqueles com idade entre 70 e 80 anos apresentaram evidências histológicas de malignidade. A etnia é outro importante fator de risco para o desenvolvimento de CAP, pois a incidência entre afro-americanos é cerca de 60% maior do que entre os americanos brancos (172,9 por 100.000) que, por sua vez, é maior do que as taxas que os hispânicos (127,6 por 100.000) e asiáticos (107,2 por 100.000) (Crawford, 2003). O hormônio chamado testosterona é um dos principais combustíveis que contribui para a progressão do câncer da próstata, pois as células prostáticas são hormônio-dependente da testosterona livre circulante, sendo possível que o bloqueio deste hormônio possa reduzir a incidência e a progressão da doença (Rhoden et al., 2004).

O fator genético é considerado outro importante fator de risco para desenvolver o CAP. Segundo Crawford (2003), o risco de desenvolver CAP dobra para os homens que têm um pai ou irmão afetados pelo CAP, e o risco aumenta ainda mais quando vários parentes de primeiro grau são afetados (Steinberg et al., 1990; Carter et al., 1992). Estudos epidemiológicos indicam que homens com uma história familiar de CAP são diagnosticados, em média, 6-7 anos antes do que aqueles sem histórico de parentes de primeiro grau (Bratt, 2002). Segundo Mendoza-Rodrigues e colaboradores (2001), todos os homens carregam em seu código genético os chamados "proto-oncogenes", que dão a ordem para uma célula normal se transformar em outra maligna. Isto só não ocorre indiscriminadamente porque a função dos proto-oncogenes é antagonizada por outro grupo de genes protetores, chamados de "supressores", dos quais os mais conhecidos são o p53 e o p21.

Os genes supressores promovem a apoptose das células toda vez que elas sofrem um processo de degeneração maligna. O carcinoma prostático surge porque as múltiplas divisões celulares, que ocorrem em todos os seres vivos, acompanham-se de discreta fragmentação dos cromossomos, que vão se privando de parte do seu material genético. Com o decorrer dos anos, acumulam-se perdas dos genes supressores, que libera a atividade dos proto-oncogenes e permite a degeneração das células prostáticas (Smith et al., 1996 b; Mendoza-Rodrigues et al., 2001). Smith e colaboradores (1996 b) mapearam a suscetibilidade hereditária do CAP no locus HPC1 (*hereditary prostate cancer 1*) no braço longo do cromossomo 1q24-q25 em famílias de alto risco na Suécia e nos Estados Unidos. Nestas famílias, o CAP se desenvolveu em uma idade precoce, afetando 5 membros de uma mesma família em duas gerações. Entretanto, uma metanálise de 772 famílias com CAP hereditário mostrou fraca evidência de uma ligação genética a HPC1 em apenas 6% do famílias (Xu, 2000), mas a evidência de forte ligação genética foi encontrada em um grupo de 8 famílias que apresentavam um gene no interior do locus da HPC1, o 2',5-oligoadenilato sintetase dependente de ribonuclease L (RNaseL), que mostrou-se um gene supressor de tumor, regulando a proliferação e apoptose celular (Carpten et al., 2002).

A influência da dieta alimentar no risco de CAP é sugerida por estudos com homens japoneses que se mudaram para os Estados Unidos (Shimizu et al., 1991; Whittemore et al., 1995; Cook et al., 1999). Em vez de manter a incidência do CAP e as baixas taxas de mortalidade de sua terra natal, o risco de desenvolver CAP começou a refletir as taxas predominantes nos EUA. O estilo de vida ocidental, particularmente a maior ingestão de gorduras, carne vermelha e laticínios, pode ser responsável pelo maior o risco de CAP. Em um estudo multicêntrico, o risco de CAP foi associado com a maior ingestão de gorduras em branco-americanos, afro-americanos, e asiático-americanos (Whittemore et al., 1995), assim como o consumo excessivo de carne vermelha aumentou o risco de desenvolver CAP (Giovannucci et al., 1993; Veierod et al., 1997). Carne e produtos lácteos são as principais fontes dietéticas de ácidos graxos, e a enzima M-metil-redutase que desempenha um papel chave na oxidação destes ácidos graxos, é regulada positivamente no CAP, mas não em próstata saudável (Gronberg, 2003). O processo de oxidação, é um dos processos que pode gerar peróxido de hidrogênio, sendo que o peróxido de hidrogênio pode ser uma fonte de dano oxidativo nos genes da próstata. Da mesma forma, o ato de grelhar ou fritar carnes em altas temperaturas produz aminas heterocíclicas e outros carcinogênicos potentes, os quais aumentam o risco de malignidades, porém, uma relação com o CAP ainda não foi totalmente estabelecida (Shirai, 2002).

Diferenças na dieta também podem ajudar a explicar a relação observada entre os níveis plasmáticos de insulina e do fator de crescimento-1 (IGF-1) no aumento do risco de desenvolver o CAP. O IGF-1 é principalmente secretado pelo fígado e tem suas concentrações elevadas em dietas ricas em gordura e calorias, pois estas estimulam o hormônio do crescimento e a produção de insulina que, por sua vez, estimula o aumento na produção de IGF-1. Este fator é conhecido por regular a proliferação e diferenciação das células cancerígenas, além de impedir a apoptose celular (Gronberg, 2003). Em um estudo prospectivo de corte, os homens no quartil mais elevado de concentrações de IGF-1 tinham de 1,7 a 4,3 vezes mais elevado risco de desenvolver CAP do que aqueles no menor quartil (Chan et al., 1998; Stattin et al., 2000; Harman et al., 2000). A menor incidência do CAP no Japão do que nos Estados Unidos pode estar relacionada com a diferença no consumo de produtos de soja, que são ricos em isoflavonas, como a genistina e daidzina. Estudos experimentais sugerem que estas isoflavonas podem inibir as proteínas tirosina-quinases que são importantes para a proliferação e transformação celular, bem como na angiogênese e, portanto, limitar o desenvolvimento de metástase nos tumores da próstata (Shirai, 2002). Alternativamente, essas isoflavonas podem reduzir as concentrações de andrógenos e aumentar a concentração de globulina ligadora do hormônio sexual (SHBG) (Gronberg, 2003).

Atualmente, a SBU recomenda que o rastreamento efetivo para o diagnóstico precoce do carcinoma prostático seja realizado a partir dos seguintes exames: dosagem dos níveis de PSA total, PSA livre, fração do PSA livre, exame físico e, se necessário for, realizar a ultrassonografia e biópsia. O exame físico ou toque retal é o método mais antigo e mais utilizado para investigar o CAP, pois permite avaliar o volume, a rugosidade e o endurecimento da próstata. (Sociedade Brasileira de Urologia, 2011). A ultrassonografia de próstata por via abdominal (supra-púbica) é um procedimento não invasivo, utilizado para avaliação, seguimento, diagnóstico e caracterização das alterações e/ou lesões da bexiga, próstata e vesículas seminais, auxiliando, complementando e interagindo com outras especialidades médicas. A ultrassonografia de próstata por via transretal é um procedimento invasivo que permite uma avaliação mais acurada da próstata, pois possibilita a retirada de fragmentos do tecido prostático para avaliação em um microscópio por um médico patologista, que verifica a presença ou ausência de células tumorais (Sociedade Brasileira de Ultrassonografia, 2011). Se houver células tumorais presentes, o patologista geralmente informa o grau Gleason do tumor, que é uma maneira de aferir a agressividade do CAP, usando uma pontuação de 2 a 10 (Sociedade Brasileira de Urologia, 2011).

Embora o tPSA seja um biomarcador específico da próstata, este não deve ser considerado específico para o CAP, pois seus níveis podem estar elevados em outras patologias prostáticas como a HBP e a prostatite. O valor preditivo positivo (VPP), que representa a proporção de pacientes com resultados de teste positivo/alterado que têm a doença, assim como o valor preditivo negativo (VPN), que representa a proporção de pacientes com resultados de teste negativo/normais que não têm a doença, estão diretamente relacionados com a sensibilidade e a especificidade do teste. Em relação ao PSA, o VPP e o VPN depende do valor ponto de corte utilizado. Em 11 estudos de rastreamento do CAP, em média, quando PSA <4 ng/mL foi utilizado como ponto de corte, o VPP foi de 37%, e o valor preditivo negativo (VPN) foi de 91% (Bunting, 2002). No ponto de corte mais elevado, de 10 ng/mL, o VPP aumentou para 47%, mas este aumento veio à custa de uma redução da sensibilidade do rastreamento. A medição de diferentes formas de PSA, total, livre e complexado, pode melhorar a discriminação entre o CAP e outras patologias não-neoplásicas da próstata, porém estes métodos precisam melhorar a especificidade e, portanto, reduzir o número de biópsias desnecessárias para os homens com valores limítrofes de PSA (Bunting, 2002).

1.3 Inflamação no câncer de próstata

A inflamação sistêmica é uma complexa resposta biológica em tecidos vasculares que é provocada por estímulos nocivos, tais como patógenos ou células danificadas, porém, inflamação não é sinônimo de infecção, pois a inflamação é uma resposta protetora do organismo na tentativa de remover os estímulos nocivos e cicatrizar o tecido lesado (Ferrero-Miliani et al., 2007). Uma série de doenças, incluindo desordens imunes e doenças cardiovasculares, podem causar inflamação (Saito et al., 2012), sendo que o processo inflamatório também está envolvido na patogênese e progressão do câncer, pois a inflamação desempenha um papel importante em várias fases de desenvolvimento do tumor, incluindo a progressão da doença até a metástase (Grivennikov et al., 2010).

A inflamação presente no tecido prostático, desencadeia uma resposta inflamatória gerando um aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1b e IL-6 (Azevedo et al., 2011), que por sua vez aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo estes, importantes mecanismos relacionados ao desenvolvimento do

CAP (Khandrika et al., 2009). A inflamação também pode levar a alterações no microambiente do tecido, aumentando as concentrações de proteases, incluindo as proteases de serina e cisteína e da matriz metaloproteases. Estas enzimas que digerem o tecido juntamente com TNF- α , interferon e outros mediadores da morte celular, são secretados por células inflamatórias que podem promover o desenvolvimento de um câncer (Wahl et al., 1998; Kuper et al., 2000). Portanto, além das EROs geradas por células inflamatórias, a proliferação descontrolada de células tumorais em um ambiente rico em fatores de crescimento, estroma ativado, associadas à neo-vascularização, podem potencializar e/ou promover o desenvolvimento do CAP (Araldi et al., 2008).

Vários estudos epidemiológicos e moleculares têm apoiado a idéia de que a inflamação nas doenças crônicas é casualmente ligado à carcinogênese do CAP (Haverkamp et al., 2008; Klein e Silverman 2008; Bardia et al., 2009). Estudos realizados por Stanick e colaboradores (2004) identificaram um aumento nos níveis de tPSA em pacientes com doença prostática crônica e estudos epidemiológicos referem-se a um pequeno aumento no risco de CAP em homens com história de prostatite (Dennis et al., 2002). Uma metanálise envolvendo 29 estudos de caso-controle publicados entre 1966 e 2004, relatou uma probabilidade aumentada de CAP em indivíduos que tiveram doenças sexualmente transmissíveis (Taylor et al., 2005).

Desde a primeira descrição de uma associação entre infiltrados inflamatórios e atrofia proliferativa do epitélio da próstata, existe evidência epidemiológica indicando que a inflamação desempenha um papel-chave na promoção de doenças neoplásicas (Nelson et al., 2004; Pollard et al., 2004; Balkwill et al., 2005). Outros pesquisadores também demonstraram que as células inflamatórias e a secreção de mediadores inflamatórios podem conduzir à deterioração estrutural dos tecidos, causando instabilidade genômica pré-malignas e malignas do estroma (Stock et al., 2008; Khandrika et al., 2009). A hipótese de que a inflamação atua como um intermediário entre a infecção e a oncogênese ganha credibilidade à luz de como os mediadores inflamatórios interagem com o tecido prostático afetado, pois embora geralmente transitórios, os processos inflamatórios podem se auto-perpetuar em casos onde os estímulos persistam (Stock et al., 2008). A prolongada exposição a fatores destinados a destruir patógenos leva à degradação da arquitetura tecidual da próstata e instabilidade genômica, resultando em proliferação anormal e iniciação do tumor (Roberts et al., 2004).

A reação do câncer associado à resposta inflamatória é sistêmica, incluindo muitos aspectos do metabolismo neuroendócrino, função hematopoiética, proteica e do metabolismo energético (Roxburgh et al., 2010). Para obter uma melhor compreensão do mecanismo da

inflamação no que se refere à progressão do câncer, algumas abordagens terapêuticas que tem se mostrado eficaz, tais como inibidor da ciclooxigenase-2 (COX-2) em combinação com interferon- α , atuam no sentido de diminuir o processo inflamatório no organismo do paciente (Shinohara et al., 2009), conforme demonstrado pela Figura 2.

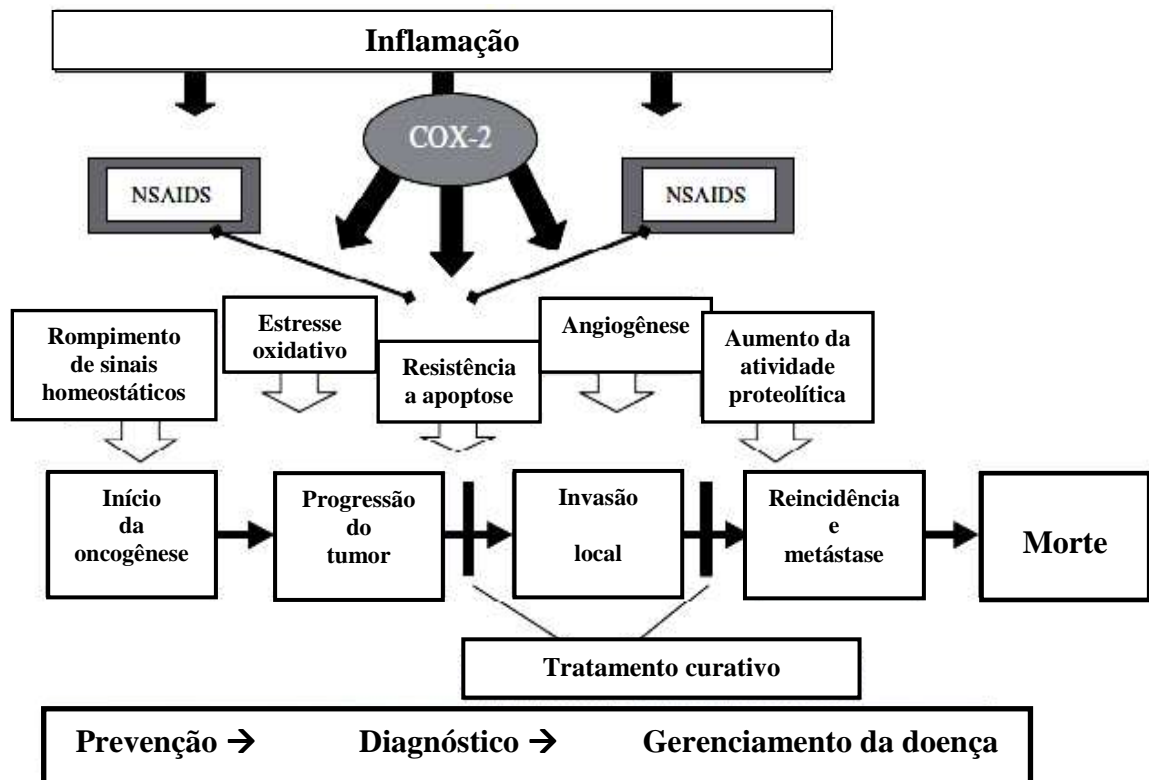


Fig. 2. Contribuição da inflamação na iniciação e progressão da doença neoplásica e os possíveis papéis de medicamentos anti-inflamatórios como terapia. Resumo dos potenciais efeitos cancerígenos da inflamação nas fases pré-clínica e clínica da história natural do câncer de próstata. Anti-inflamatórios não-esteroidais (NSAIDs), em grande parte através da inibição da COX-2, atenuam os processos inflamatórios que promovem a iniciação e progressão tumoral. Adaptado de Stock, et al., 2008.

Vários estudos revelaram que os sintomas externos da inflamação sistêmica são preditores significativos de mau prognóstico em muitos tipos de câncer (Maltoni et al., 2005; McMillan et al., 2008) e que a quantificação da resposta inflamatória sistêmica é essencial para avaliar adequadamente a atividade ou resultados de doenças relacionadas com a inflamação. A gravidade da inflamação sistêmica pode ser medida pelo nível de PCR, cuja liberação é estimulada pela IL-6 (Azevedo et al., 2011). Saito e colaboradores (2012) sugerem que a inflamação, evidenciada pelo elevado nível de PCR, tem uma importância como um fator prognóstico em pacientes com CAP em estágio avançado. Ito e colaboradores (2009) sugeriram que a concentração de PCR elevada e hemoglobina baixa estão associados com a

sobrevida dos pacientes com CAP, sugerindo que a estratificação de risco de PCR e de hemoglobina pode ser uma ferramenta útil para estimar a sobrevida destes pacientes.

1.4 Estresse oxidativo no câncer de próstata

O estresse oxidativo ocorre quando há uma maior produção de EROs e/ou a redução nos mecanismos de defesa antioxidante (Vassalle et al., 2008). Os radicais hidroxila, peróxidos e superóxidos, são exemplos de EROs geradas diariamente através de processos metabólicos em uma célula normal, podendo ser de origem endógena (mitocôndrias, processo metabólico, inflamação, etc) ou a partir de fontes exógenas, desempenhando um papel fundamental na regulação de diversos fenômenos biológicos (Barzilai et al., 2002). O estresse oxidativo está associado ao envelhecimento, além de várias condições patológicas, incluindo a inflamação e infecção, sendo que o aumento de EROs em inflamações crônicas é conhecido por induzir mutações somáticas, transformação neoplásica nas células, lesão tecidual, danos ao DNA celular, crescimento aberrante e proliferação celular (Khandrika et al., 2009). Os processos associados à proliferação, apoptose e senescência podem ser resultantes da ativação de vias de sinalização intracelular em resposta a um aumento nos níveis de EROs (Sauer et al., 2001), sendo que este aumento pode desempenhar um importante papel nos processos celulares associados com a iniciação e desenvolvimento de muitos tipos de câncer, demonstrando que o estresse oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento e progressão do CAP (Khandrika et al., 2009).

O envelhecimento está associado a muitas doenças metabólicas e também com o aumento da incidência de vários tipos de câncer (Wei et al., 1998; Finkel et al., 2000). O CAP é um tumor maligno com maior incidência em homens com idade entre 54 e 75 anos e de rápido início depois de 45 anos (Anand et al., 2008). No Brasil, a maioria dos casos de CAP acometem homens com idade acima de 60 anos (Datusus, 2010). Por isso, mudanças progressivas inerentes ou adquiridos no metabolismo celular que ocorrem ao longo dos anos podem desempenhar um papel muito importante no desenvolvimento desta doença. Muitos fatores como a dieta alimentar, os agentes cancerígenos ambientais e outras doenças inflamatórias têm sido associados a um aumento no risco de CAP. Na última década, esta associação tem sido comprovada através de estudos experimentais, epidemiológicos e clínicos, que demonstram que o estresse oxidativo é maior no epitélio de pacientes com CAP

do que homens sem a doença, mas, mesmo assim, estes mecanismos ainda precisam ser melhor elucidados. Existem várias teorias sobre a iniciação de CAP, e estas incluem, a ineficácia do sistema antioxidante, mutações no DNA mitocondrial, inflamação crônica, mecanismos de reparação do DNA defeituoso e apoptose. Assim, muitos fatores que estão associados com CAP como o envelhecimento, o desequilíbrio de andrógenos, o desequilíbrio no sistema antioxidante e as condições pré-malignas, podem ser ligadas ao estresse oxidativo (Khandrika et al., 2009). Battisti e colaboradores (2011) realizaram um estudo envolvendo 55 pacientes com CAP que estavam sob tratamento com Goserilina e Cirpoterona. Estes pacientes apresentaram níveis dos antioxidantes Catalase, Vitamina E e vitamina C diminuídos, em contraste com os níveis de proteínas carbonil e de malondialdeído (MDA) que estavam aumentados. O aumento dos níveis dos biomarcadores de estresse oxidativo e as alterações no sistema antioxidante sugerem uma possível ligação entre estresse oxidativo e o CAP.

Nos últimos anos, várias substâncias antioxidantes foram utilizadas na dieta alimentar na tentativa de combater o desenvolvimento do CAP, mas a utilidade de tais terapias necessita de uma pesquisa mais extensa antes de colocá-las em prática (Doll et al., 1981; Khandrika et al., 2009). A partir destes estudos, foi possível observar que terapias que usam combinações com antioxidantes não melhoraram a prevenção do CAP, talvez porque os agentes que neutralizam EROs podem não ser tão benéficos e eficientes quanto os agentes que inibem a geração excessiva de EROs. Neste contexto, um estudo com células de CAP indicou que a produção de EROs, desempenha um papel importante no comportamento fenotípico neste tipo de câncer e, portanto, o uso de um antioxidante pode não ser de maior benefício, pois os antioxidantes neutralizam apenas EROs acumuladas no interior das células (Kumar et al., 2008). Estudos anteriores destacaram a alteração do status pró-oxidante e antioxidante no tecido da próstata do homem e de ratos, onde o desequilíbrio entre esses antagonistas desempenhou um papel importante na iniciação da carcinogênese da próstata (Ripple et al., 1997). Os andrógenos são considerados os candidatos mais poderosos que regulam o equilíbrio de EROs na próstata, embora a relação entre o estado de andrógenos e homeostase redox na próstata não esteja totalmente comprovado (Wilding et al., 1995).

O papel mitocondrial na progressão do CAP tem atraído muita atenção desde o início desta década, quando vários estudos destacaram uma possível ligação entre a alteração metabólica e a mutação do DNA mitocondrial (mtDNA) com o CAP (Jessie et al., 2001; Petros et al., 2005; Dakubo et al., 2006). Estudos realizados por vários pesquisadores demonstram as mudanças significativas na mitocôndria nuclear codificada na subunidade IV

da próstata com malignidade em comparação com a próstata normal (Chen et al., 2002; Petros et al., 2005). Com o avanço da investigação do DNA mitocondrial, Chen e colaboradores (2002, 2003) relataram que as mutações pontuais de instabilidade no mtDNA ocorreram com alta frequência no CAP, e o processo de mutagênese mitocondrial é mediada por estresse oxidativo celular causando uma explosão de múltiplas mutações no DNA mitocondrial em tumores de próstata. Estas alterações podem, por sua vez, provocar alterações na regulamentação de genes envolvidos no transporte e captação do zinco, como o Zip1, e causar diferença na distribuição de zinco e citrato entre os tecidos prostáticos normais e malignos (Costello et al., 1999; Dakubo et al., 2006). Na próstata normal, altos níveis de citrato e zinco estão associados à zona do lobo lateral periférico, que é regulamentada pela testosterona, enquanto que no caso de uma próstata maligna, baixos níveis de zinco e citrato estão associados à região central (Costello et al., 1999). Além disso, se a mutação do DNA mitocondrial está associada com alta geração de EROs devido a um defeito na fosforilação oxidativa, as células também oxidariam menos piruvato e NADH como parte da cadeia respiratória, resultando na produção excessiva de lactato. Assim, se a produção de EROs mitocondrial é uma característica essencial, tal como foi postulado por Warburg há mais de 80 anos, seria possível assim também explicar por que tumores sólidos têm uma maior taxa de glicólise (Dakubo et al., 2006).

Com o avanço da ciência e da tecnologia, muitos pesquisadores concluíram que o acúmulo de mutações somáticas no DNA mitocondrial é um grande contribuinte ao envelhecimento humano, pois a mitocôndria é uma importante fonte de geração de EROs intracelular e é, portanto, vulnerável a danos oxidativos e ao progressivo declínio da função respiratória ao longo do tempo (Miquel, 1991; Chomyn et al., 2003). Segundo Khandrika e colaboradores (2009), o aumento do estresse oxidativo decorrente do envelhecimento e o aumento de mutações mitocondriais podem levar a um aumento ainda maior na produção de EROs, devido à deficiente fosforilação oxidativa e transporte de elétrons. Assim, é possível que o aumento da EROs conduza a uma auto-perpetuação do ciclo oxidativo com um desafio cada vez maior colocado sobre as células. Portanto, mutações/supressões do mtDNA podem atuar tanto como um marcador para o envelhecimento, como também podem explicar o aumento da incidência de CAP com avanço da idade. Baseado nessas discussões, o papel potencial das mutações do mtDNA e estresse oxidativo na patogênese do CAP requer maior atenção. A Figura 3 apresenta alguns mecanismos envolvidos na produção de EROs e nas respostas de células da próstata.

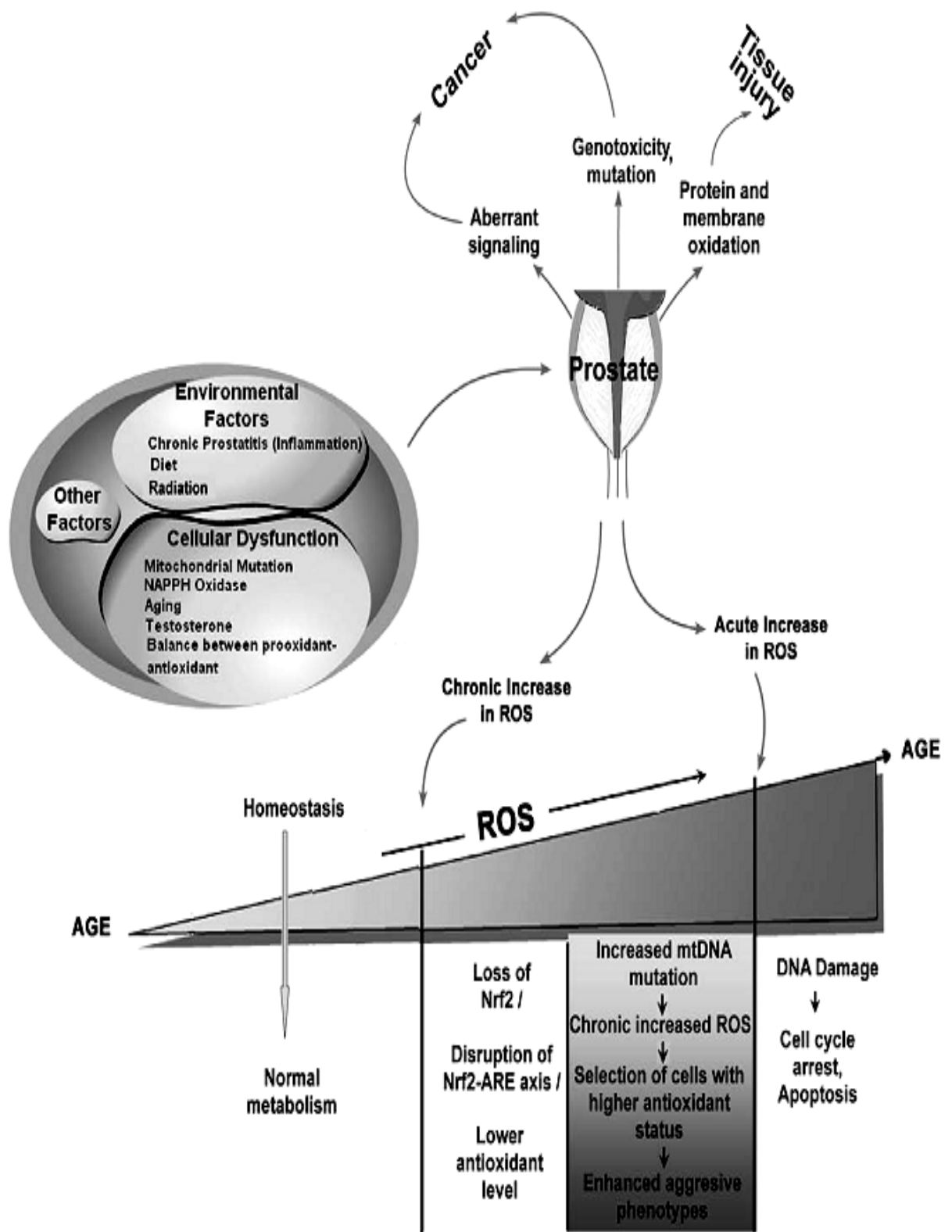


Fig.3. Mecanismos envolvidos na produção de EROs e respostas observadas em células da próstata. Reproduzido de Khandrika, et al., 2009.

1.5 Biomarcadores laboratoriais associados ao câncer de próstata

O diagnóstico laboratorial baseado nos marcadores tumorais tradicionais ainda não atingiu até então os resultados promissores como era esperado inicialmente, possivelmente em decorrência da limitada sensibilidade e especificidade da maioria dos testes disponíveis. Com isso, há um importante espaço a ser preenchido no campo do estudo dos biomarcadores laboratoriais, com especial ênfase àqueles utilizados para fins diagnósticos (Sucher et al., 2010). Um marcador tumoral ideal deve ser específico para um dado tipo de câncer e sensível o bastante para detectar tumores pequenos, para permitir o diagnóstico precoce ou o seu uso no rastreamento eficaz (Almeida et al., 2007). No presente estudo abordaremos os biomarcadores tPSA, fPSA, fPSA%, PCR, ADA, IMA, e FRAP bem como suas potenciais associações com o CAP.

1.5.1 Antígeno prostático específico (PSA)

O PSA foi originalmente descrito por Hara e colaboradores (1971) em estudos forenses como um marcador para a presença de sêmen humano. Posteriormente, foi demonstrado estar presente na HPB e no CAP (Wang et al., 1979). Atualmente, sabe-se que o PSA é uma glicoproteína de cadeia única 28,4 kDa (237 aminoácidos) (Huber et al., 1995; Peracaula et al., 2008), membro da família da calicreína, produzida principalmente pelas células epiteliais prostáticas (Lövgren et al., 1997) e que possui a função de liquefazer o coágulo seminal (Tanagho et al., 2007). O tPSA é considerado o mais importante marcador para detectar, estagiar e monitorar o CAP, e vem sendo utilizado desde 1980 para o diagnóstico do CAP, pois seus níveis sanguíneos se elevam em 80% dos casos de CAP (Rhoden et al., 2004). Isso acontece porque o tPSA é um biomarcador específico da próstata, mas não deve ser considerado específico para o CAP. Além disso, existem outros fatores que alteram os índices de tPSA como: massagem prostática recente, biópsia prostática por agulha, ressecção trans-uretral da próstata (Sociedade Brasileira de Urologia, 2011), além de outras patologias não neoplásicas que acometem a próstata como HPB, prostatites crônicas e agudas (Dallóglgio et al., 2004).

A quantidade de tPSA detectado no paciente é importante para determinar, estagiar e monitorar lesões na próstata, podendo definir a propensão de um tumor prostático, pois elevações extremamente expressivas sugerem o comprometimento metastático do tumor (Rhoden et al., 2004). Vários estudos demonstram que a tPSA foi um marcador sensível para a detecção de doença residual após o tratamento e recorrência do tumor durante o acompanhamento (Oesterling et al., 1988; Landmann et al., 1989). Pound e colaboradores (1999) constataram que um nível indetectável de tPSA após a prostatectomia radical pode ser usada para indicar a ausência de recorrência, e dosagens seriadas do tPSA também são usadas no cenário contemporâneo para definir a recorrência após a radioterapia definitiva (Boukaram et al., 2010).

Em um ensaio clínico multicêntrico envolvendo 6.630 homens, Catalona e colaboradores (1994) relataram que o tPSA, quando utilizado em conjunto com o exame retal digital, melhorou a detecção precoce do câncer da próstata avançado. Estas e outras descobertas conduziram a aprovação pela FDA do uso do tPSA para o rastreamento do CAP, usando um limiar de 4,0 ng/mL. A introdução do tPSA como um exame de grande escala foi associado com um aumento dramático na incidência de CAP ao longo da década de 1990 (Brawley et al., 1998). Uma análise longitudinal revelou que, dentre os homens com tPSA $\geq 2,5$ ng/mL, aproximadamente 50% demonstraram um aumento de tPSA para valores $\geq 4,0$ ng/mL nos quatro anos seguintes (Smith D.S. et al., 1996). Posteriormente, Antenor e colaboradores (2005) demonstraram uma relação direta entre os níveis de tPSA no momento do diagnóstico e da probabilidade de doença confinada ao órgão. Em homens com níveis de tPSA pré-operatório de 2,6-4,0 / 4,1-7,0 / 7,1-10,0 / >10 ng/mL, as taxas de doença confinada ao órgão foram de 81, 74, 72 e 60%, respectivamente, e, em 10 anos, a estimativa de sobrevida livre de recidiva diferiu significativamente entre estes pacientes. Este estudo forneceu evidências de que o câncer detectado em níveis de tPSA de 2,6-4,0 ng/mL têm maiores taxas de doença confinada ao órgão e melhorou a sobrevida livre de recidiva em aproximadamente 10 anos em relação aos pacientes detectados com níveis mais altos de tPSA. Em 2004, Thompson e colaboradores descobriram CAP em 17% dos homens com tPSA entre 1,1-2,0 ng/mL e um toque retal normal, indicando que mesmo os critérios mais rigorosos de biópsia poderiam não detectar uma percentagem significativa de CAP. De forma alarmante, este estudo demonstrou alto grau de doença em 14,9% dos pacientes com tPSA $\leq 4,0$ ng/mL e que desenvolveram o CAP. Mesmo usando o limite convencional, 75% dos homens com tPSA 4,0-10,0 ng/mL que são submetidos à biópsia não têm CAP, introduzindo uma fonte significativa de custos desnecessários, bem como a ansiedade destes pacientes (Barry, 2001).

Vários estudos tem investigado alternativas para melhorar a sensibilidade e especificidade do tPSA no rastreamento do CAP. Medições adjuvantes, considerando a taxa de mudança de tPSA ao longo do tempo, as proporções de PSA livre, e da relação do tPSA para o tamanho da próstata melhoraram as características de desempenho em algumas situações (Gretzer et al., 2003). Os resultados preliminares de um estudo conduzido nos EUA comparando o rastreio anual e os cuidados habituais não demonstram diferenças significativas na mortalidade por causas específicas (Andriole et al., 2009), apesar de haver inúmeras limitações metodológicas para este estudo. Por outro lado, em um grande estudo europeu, Schroder e colaboradores (2009) demonstraram uma redução de 20% na mortalidade por causas específicas. Considerando esses achados em combinação com a literatura disponível, a utilização do tPSA, sem dúvida, contribuiu para o declínio significativo nas taxas de mortalidade por CAP observadas nos EUA e em alguns outros países desde o final dos anos 90 (Baade et al., 2009). No entanto, há um debate contínuo sobre os benefícios do rastreio do CAP através da dosagem do tPSA.

Atualmente o tPSA é um biomarcador muito importante para a detecção precoce do CAP, mas a combinação com o toque retal, ultra-som trans-retal com biopsia é imprescindível, pois alguns pacientes com tumores podem registrar um tPSA menor que 4,0 ng/mL. A sensibilidade clínica do tPSA no valor de corte de 4,0 ng/mL é 78%. Ao reduzir o valor de corte para 2,8 ng/mL, a sensibilidade aumenta para 92%, enquanto a especificidade diminui de 33% para 23%. Elevar o valor de corte para 8,0 ng/mL melhora a especificidade para 90%, mas diminui a sensibilidade (Burtis et al., 2008).

1.5.2 Antígeno Prostático Específico Livre (fPSA)

No soro, o PSA circula de forma "livre" ou ligado a proteínas, tais como α 1-antiquimotripsina e α 2-macroglobulina (Christensson et al., 1990; Lilja et al., 1991), sendo que os níveis de PSA livre (fPSA) podem ser detectados e comparados com o tPSA, obtendo-se a fração de PSA livre (fPSA%) (Catalona et al., 1998). Estudos têm mostrado que os homens com maiores níveis de tPSA são mais propensos a ter CAP (Stenman et al., 1991), e que o fPSA% é menor em homens com CAP, em comparação com a HPB (Christensson et al., 1993). Assim, a fração de PSA livre (fPSA%), que é calculada utilizando os valores dosados de fPSA em relação aos valores dosados do tPSA ($fPSA/tPSA * 100$) e a mesma mostrou-se

promissora em distinguir doenças prostáticas malignas das benignas, pois melhorou a especificidade para CAP, principalmente em homens na "zona cinza de diagnóstico" (tPSA = 4,0-10,0 ng/mL) (Tosoian et al., 2010). Apenas a porcentagem de PSA circulante sob a forma livre (fPSA%) tem sido amplamente aceita como uma ferramenta de diagnóstico em pacientes com baixos níveis de tPSA (Loeb et al., 2008). Uma vantagem da utilização do fPSA% é a redução do número de biópsias desnecessárias. Em 1998, um estudo prospectivo multicêntrico mostrou que a utilização do fPSA% reduziu em 20% biópsias desnecessárias quando utilizado um fPSA% limite de 25% (Catalona et al., 1998). Este estudo também mostrou que, em geral, os cânceres detectados no fPSA% > 25 eram de menor grau. À luz destes dados, o uso do fPSA% foi aprovado pelo FDA para utilização na detecção e diagnóstico de CAP, principalmente em pacientes com níveis de tPSA entre 4,0 e 10,0 ng/mL (Tosoian et al., 2010).

1.5.3 Proteína C-reativa (PCR)

O processo inflamatório apresenta um importante papel nos distúrbios prostáticos (Hansson, 2006). Como resultado de uma inflamação crônica há um aumento dos níveis de marcadores plasmáticos de processos inflamatórios, tais como as citocinas pró-inflamatórias e a PCR (Azevedo et al., 2011). A PCR é sintetizada principalmente nos hepatócitos sob estimulação principalmente da IL-6 e IL-1b, que são produzidas em diversas células, incluindo as células inflamatórias, as células T, macrófagos, células endoteliais, fibroblastos e algumas células cancerígenas (Kushner et al., 1995), apesar deste mecanismo não ser totalmente conhecido (Black et al., 2004). Acredita-se que a IL-6 também interage com a via de sinalização do andrógeno em células de CAP (Culig et al., 2002).

A PCR foi descoberta pela primeira vez em 1930, no soro obtido a partir de pacientes em fase aguda da pneumonia pneumocócica. Ela foi nomeada pela sua reação à parede celular polissacarídica (carboidrato C) do *Streptococcus pneumoniae* (Tillet et al., 1930). A PCR é um membro da família das proteínas e pertence ao subtipo pentraxina, sendo considerada um elemento inato do sistema imune (Janeway et al., 2002). Um papel importante da PCR é ligar-se à fosfocolina, permitindo assim o reconhecimento de patógenos externos e componentes de fosfolipídios de PCR, também desempenha um papel na defesa do hospedeiro, e na depuração de células necróticas (Volanakis et al., 2001). Em humanos, os níveis séricos de PCR podem estar elevados na fase inicial da doença, como resultado do estímulo inflamatório. Há síntese

de PCR em locais diferentes no fígado, sendo também relatada em neurônios e na placa aterosclerótica (Kuta et al., 1986; Jialal et al., 2004). Os mecanismos que regulam a síntese extra-hepática de PCR ainda não foram determinados, e fontes extra-hepáticas não são consideradas contribuintes para os níveis plasmáticos de PCR (Black et al., 2004). No entanto, dois estudos demonstraram que algumas células extra-hepáticas podem produzir PCR e contribuir para aumentar seus níveis no soro (Jabs et al., 2005; Johnson et al., 2011).

A dosagem da PCR sérica está bem estabelecida na prática clínica com a disponibilidade de ensaios confiáveis. Estudos de base populacional mostraram uma distribuição assimétrica dos níveis de PCR. Na população de referência, aproximadamente, 70-90% das amostras apresentaram uma concentração de PCR inferior a 3 mg/L, ainda que uma ligeira elevação nos níveis de PCR de até 10 mg/L tenha sido encontrada em alguns indivíduos (Kushner et al., 1982). A infecção, na maioria das vezes bacteriana, provoca elevações da PCR para valores >100 mg/L, o que é encontrado em cerca de 80% destes pacientes (Vanderschueren et al., 2006). Em contraste, menor elevação dos níveis de PCR entre 3 e 10 mg/L poderia refletir uma condição fisiológica ou uma inflamação em resposta ao estresse metabólico, obesidade, tabagismo, diabetes *mellitus* ou hipertensão (Kushner et al., 2006). Recentemente, a alta sensibilidade do ensaio do PCR, que pode detectar baixos níveis abaixo de 1 mg/L, está sendo utilizada para estimar o risco de doenças cardiovasculares (Rifai et al., 2001). Os níveis de PCR demonstraram potencial prognóstico em diferentes patologias relacionadas com a inflamação. Por exemplo, a PCR é um preditor para o início da artrite reumatóide (Nielen et al., 2004). Em doença cardiovascular, os níveis de PCR estão associados com risco, a longo prazo, de infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral isquêmico ou doença vascular periférica (Anderson et al., 1998; Danesh et al., 2004).

Em pacientes com câncer, o nível sérico de PCR mostra elevação. Num estudo de 496 casos e 996 controles, os níveis séricos de PCR em casos de câncer eram mais elevados do que nos controles (Trichopoulos et al., 2006). Na associação entre a presença de inflamação sistêmica, a PCR tem mostrado ser um importante preditor de sobrevida em pacientes com diferentes tipos de câncer, incluindo o de próstata, cólon, pulmão, mama, ovário, entre outros. Como nestas patologias a inflamação não está relacionada com uma infecção bacteriana, mesmo os pacientes que apresentaram níveis de PCR dentro do intervalo considerado como ponto de corte de 3 - 10 mg/L, apresentaram tumores com elevado nível de malignidade. (Roxburgh et al., 2010). Os níveis de PCR, em conjunto com outros marcadores, tais como contagem de glóbulos brancos e dosagem de hemoglobina, podem fornecer subsídios para

algoritmos que indiquem melhor ou pior prognóstico, baseado em escores de inflamação (Proctor et al., 2011) ou de anemia (Ito et al., 2009).

1.5.4 Adenosina desaminase (ADA)

ADA é uma enzima que catalisa a conversão da adenosina e inosina, participando do processo de diferenciação e proliferação de linfócitos. Tradicionalmente, níveis elevados da ADA são indicadores indiretos de tuberculose meníngea, pericárdica e peritoneal, sendo que níveis elevados também podem ser encontrados em infecções bacterianas, criptocóccicas e neoplasias, assim como resultado falso- negativos podem ocorrer em pacientes com AIDS (Gessi et al., 2007). Estudos recentes demonstram que as doenças pulmonares crônicas, como as neoplasias, são caracterizadas por apresentarem uma inflamação local persistente destacando-se a importância da enzima ADA, pois relatos há na literatura de que ela apresenta propriedades pró-carcinogênicas, entre as quais destacam-se as funções promotoras de crescimento e estímulo da angiogênese, fato que pode agravar ainda mais o estado de saúde dos pacientes que já apresentam câncer de pulmão (Wang et al., 2010). Neste contexto, Gonzalez-Gronow e colaboradores (2004) relataram que os valores de ADA na próstata cancerosa apresentou níveis similares ou um pouco menores do que no tecido prostático normal. No entanto, os valores de ADA na HPB foram significativamente mais elevados do que na próstata normal. Esse estudo sugere que um dos fatores locais que influenciam o crescimento de células epiteliais no câncer de próstata é o nível elevado da protease plasmina gerada por tecido de HPB.

1.5.5 Albumina modificada pela isquemia (IMA)

O CAP é geralmente acompanhado de estresse oxidativo, que consiste no dano das estruturas biológicas por EROs devido à sua excessiva geração e/ou pela deficiência dos mecanismos de defesa antioxidante (Vassalle et al., 2008). O estresse oxidativo pode modificar a região N-terminal da albumina e produzir um aumento na concentração de IMA, que é

considerado um biomarcador de isquemia (Bar-Or et al., 2000). Devido à alteração conformacional em sua porção N-terminal provocada pela isquemia, a albumina perde sua habilidade de ligar-se a metais de transição como o cobre, níquel e cobalto (McCord, 1985; Sadler et al., 1994). Esta alteração conformacional da albumina ocorre muito rapidamente após a isquemia, com um pico em 6 horas, e permanece assim até 12 horas após o evento isquêmico, permitindo a detecção de uma isquemia antes do desenvolvimento da necrose miocárdica (Bar-Or et al., 2001; Christenson et al., 2001; Immanuel e Sanjaya, 2006). O decréscimo da capacidade de ligação da albumina aos metais de transição pode ser medido através da adição de uma quantidade específica de cobalto ao soro do paciente, seguida por uma medida colorimétrica que determina a quantidade de cobalto livre, sendo detectada indiretamente a IMA (Bar-Or et al., 2000).

Atualmente, a IMA é também considerada um biomarcador de estresse oxidativo relacionada a diferentes condições clínicas, tais como: doença renal crônica (Chichota et al., 2008), hipercolesterolemia (Duarte et al., 2009), diabetes mellitus tipo 2 (Kaefer et al., 2010), síndrome metabólica (Gottlieb et al., 2010), obesidade (Piva et al., 2011), entre outras. Recentemente, os resultados de um estudo de Mastella e colaboradores (2009), demonstraram uma elevação nos níveis de IMA em 102 pacientes com HPB. Este aumento pode ter sido produzido pela inflamação que está associada à HPB, assim como uma consequência do aumento do estresse oxidativo. Algumas doenças da próstata promovem um aumento do estresse oxidativo com um aumento de peroxidação de lípidos associados a uma diminuição do sistema de defesa antioxidante (Aydin et al., 2006), sendo que a geração de EROs pode modificar a região N-terminal da albumina e produzir um aumento nos níveis de IMA (Roy et al., 2007; Chicotta et al., 2008).

1.5.6 Capacidade de redução do ferro no plasma (FRAP)

Já foi demonstrado que a presença de processos inflamatórios e do estresse oxidativo estão envolvidos na fisiopatologia do CAP (Khandrika et al., 2009). Akinloye e colaboradores (2009) demonstraram que os níveis de substâncias antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas foram significativamente reduzidas em indivíduos com valores elevados de tPSA e que a relação inversa aponta para o fato de que o estresse oxidativo nestes indivíduos correlaciona-se positivamente com valores de tPSA. No entanto, a produção de radicais livres

ocorre como uma consequência de reações endógenas que desempenham um papel importante na função celular fisiológica, sendo importante observar que a ingestão de substâncias exógenas e fatores ambientais também podem promover a formação de radicais livres, levando para o esgotamento dos antioxidantes celulares (Kelly et al., 1995). As EROs têm funções fisiológicas, incluindo a ativação e modulação de vias de transdução de sinal (Monteiro et al., 1996), alteração de atividades redox frente a fatores de transcrição sensíveis (Manna et al., 1998), e regulação da atividade das enzimas mitocondriais (Nulton-Persson et al., 2001). Para se proteger contra os efeitos tóxicos de EROs e para modular seus efeitos fisiológicos, a célula possui um sistema antioxidante muito complexo, composto por substâncias de baixo peso molecular (vitaminas antioxidantes E, C, A), enzimas antioxidantes primárias (SOD, catalase, glutathiona peroxidase) e secundárias (glutathiona redutase e desidrogenase de glicose-6-fosfato) (Meister et al., 1983).

O FRAP é um biomarcador não-específico que mede a capacidade antioxidante total do organismo (Rysz et al., 2009). Um estudo de Lodovici et al. (2008) demonstrou que os níveis de FRAP encontram-se reduzidos em pacientes diabéticos, indicando a sua capacidade de defesa inferior contra os radicais livres, sendo que esta menor capacidade antioxidante em pacientes diabéticos parece ser devido a uma maior produção de agentes oxidantes e, por sua vez, maior consumo de antioxidantes. Rysz e colaboradores (2009) avaliaram a magnitude da diminuição da capacidade antioxidante em relação a diferentes modalidades de terapia renal substitutiva (TRS) como diálise peritoneal ambulatorial contínua, hemodiálise e hemofiltração. Seus resultados demonstraram os níveis de FRAP significativamente aumentados antes da sessão de TRS e reduzidos após a sessão, quando comparado com controles saudáveis. Além disso, em pacientes dialisados, as defesas antioxidantes podem estar reduzidas, não apenas devido ao aumento de EROs, mas também pela perda ou lavagem de antioxidantes devido à diálise.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o perfil de biomarcadores associados ao processo inflamatório e ao estresse oxidativo em pacientes com CAP a fim de investigar o envolvimento destes processos com a fisiopatologia desta doença.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar a quantificação de tPSA e fPSA%, além de outros biomarcadores associados ao metabolismo glicídico/lipêmico e às funções renal e hepática na população do estudo.
- Determinar os níveis de PCR, um clássico biomarcador inflamatório, nos pacientes do estudo a fim de investigar uma associação entre o CAP e as concentrações séricas deste biomarcador.
- Investigar as correlações entre os biomarcadores tradicionalmente relacionados à próstata (tPSA e fPSA%) com os biomarcadores associados ao processo inflamatório e ao estresse oxidativo avaliados neste estudo.
- Avaliar o envolvimento do estresse oxidativo com o CAP através da mensuração dos níveis de IMA e FRAP, novos biomarcadores de estresse oxidativo, nos pacientes do estudo.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Assessment of inflammatory and oxidative biomarkers in patients with prostate cancer

Rafael Arrua da Silveira^{1,2}, Carine Lima Hermes^{1,2}, Taís Corrêa Almeida^{1,2}, Guilherme Vargas Bochi^{1,3}, Karine Santos de Bona³, Maria Beatriz Moretto^{2,3}, Rafael Noal Moresco^{1,2,3,*}

¹Laboratório de Pesquisa em Bioquímica Clínica, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

³Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

***Corresponding Author:** Rafael Noal Moresco

Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Avenida Roraima 1000, Prédio 26, Sala 1401, 97105-900, Santa Maria-RS, Brazil.

Tel.: +55 55 32208941; Fax: +55 55 32208018

E-mail: rnmoresco@yahoo.com.br

Short title: Inflammatory and oxidative biomarkers in prostate cancer

Abstract

Prostate cancer has become a public health problem in many countries and there is evidence which indicates that inflammation and oxidative stress play a key role in the pathogenesis of this disease. Thus, the aim of this study was to evaluate the concentrations of C-reactive protein (CRP), a classic marker of inflammation, and new biomarkers of oxidative stress, namely, ischemia-modified albumin (IMA) and ferric reducing ability of plasma (FRAP) in patients with prostate cancer. CRP, IMA, FRAP, fasting glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, uric acid, creatinina, albumin, AST, ALT, ADA, total PSA (tPSA), free PSA and proportion of free PSA (fPSA%) were measured in 25 patients with prostate cancer and in 30 healthy subjects. tPSA, CRP and IMA were significantly higher in patients with prostate cancer. In contrast, fPSA% and FRAP were significantly lower in these patients. Significant correlations were also observed for tPSA and CRP ($r = 0.5104$, $P < 0.001$) and for fPSA% and CRP ($r = -0.5059$, $P < 0.001$). These findings suggest that both inflammatory and oxidative processes are increased during prostate cancer and also that there is a reduction of antioxidant defenses in this pathology.

Keywords: C-reactive protein; Inflammation; Oxidative stress; Prostate cancer.

INTRODUCTION

Prostate cancer has become a public health problem in many countries. In the United States, prostate cancer was estimated to be diagnosed in 240,000 men and to cause nearly 34,000 deaths in 2011 [1]. In Brazil, prostate cancer had an incidence rate of 53.84 cases per 100,000 males in the 2010-2011 biennium and 12,778 deaths registered in 2010 [2, 3]. Studies have shown that there are several risk factors associated with the development of prostate cancer, such as androgen hormone imbalance caused by aging, genetic factors, environmental agents that cause cancer, diet, oxidative stress, inflammation, among others [4].

Since the first description of an association between inflammatory infiltrates and atrophy epithelial proliferative in the prostate, there have been epidemiological evidence indicating that inflammation plays a key role in promoting these neoplastic diseases [5, 6, 7]. The current evidence suggests that the inflammation involved in the pathogenesis and progression of prostate cancer has a strong association with the inflammatory response evidenced by the high level of C-reactive protein (CRP) which is an important prognostic factor in advanced prostate cancer disease [8]. Ito et al. [9] showed that elevated CRP concentration and low hemoglobin may be associated with the survival of patients with prostate cancer, suggesting that the risk stratification of CRP and hemoglobin may be a useful tool to estimate the survival of these patients. Other investigators have also demonstrated that inflammatory cells and secretion of inflammatory mediators can lead to structural deterioration of the tissues, causing genomic instability premalignant and malignant stromal tissue [4, 10].

Besides the inflammatory process, there is also an increase in the generation of free radicals in prostate cancer. Oxidative stress damages biological structures because of the excessive generation of reactive oxygen species (ROS) and/or deficiency of antioxidant defense mechanisms [4, 11]. Excessive ROS has been associated with tissue damage, mitochondrial DNA damage, cell growth, and proliferation, which may cause neoplastic

transformation of prostate cells [4]. The increased production of free radicals may also induce chemical modifications at the N-terminus of serum albumin resulting in the formation of ischemia-modified albumin (IMA) [12-14]. IMA is traditionally considered a biomarker of cardiac ischemia [15]; however, currently, the IMA is considered a biomarker of oxidative stress related to different clinical conditions such as obesity [16], metabolic syndrome [17], diabetes mellitus type 2 [18], hypercholesterolemia [12], and chronic kidney disease [19]. It has also been shown that patients with prostate cancer have lower levels of antioxidant defense [20]. Thus, considering the involvement of inflammation and oxidative stress in the pathogenesis of prostate cancer, the aim of this study was to evaluate the concentrations of new biomarkers of oxidative stress, namely, IMA and FRAP, as well as CRP, a classic marker of inflammation in patients with prostate cancer. We also investigated correlations between these biomarkers and tPSA and fPSA.

MATERIALS AND METHODS

Study population

This study included 55 volunteers enrolled in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. Participants were divided into two groups, as follows: control (n=30) and prostate cancer (n=25). Patients with chronic kidney disease, liver disease, acute or chronic inflammatory processes, or vitamin therapy were excluded from this study. This protocol was approved by the Human Ethics Committee of the Federal University of Santa Maria (number 0268.0.243.000-10).

Clinical measurements

Anthropometric measurements with emphasis to clinical markers of adiposity were obtained. Body mass index (BMI) was calculated by dividing weight (kg) by height (m²). All

patients completed a clinical and epidemiological research in order to assess physical exercise, smoking, hypertension as well as treatment with vitamins and/or other drugs.

Laboratory analysis

Blood samples were collected from all subjects after an overnight fast by venous puncture technique into Vacutainer[®] (BD Diagnostics, Plymouth, UK) tubes with EDTA, sodium fluoride or no anticoagulants. Specimens were routinely centrifuged at 2500 x g for 15 min at 4°C. Plasma was used to measure FRAP by a method previously described and validated by Benzie et al., 1996 [21]. Blood collected with sodium fluoride plus EDTA was used to measure plasma fasting glucose and the serum was used to assess the levels of total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, uric acid, albumin, AST, ALT, IMA, CRP, creatinine by use of standard methods on Cobas MIRA[®] automated analyzer (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). LDL cholesterol was estimated with the Friedewald equation [22]. Glomerular filtration rate (GFR) was estimated by the modification of the diet in renal disease (MDRD) equation [23]. Serum IMA was measured by colorimetric assay based on the biochemical properties of albumin to bind exogenous cobalt as previously described [18]. IMA values were also corrected by serum albumin levels [24]. Serum ADA was measured by a method previously described [25]. For the measurement of total and free PSA in serum, the chemiluminescence Liason[®] analyzer was used (Diasorin, ITALY). The levels of free PSA (fPSA) were detected and compared with the tPSA, yielding the proportion of free PSA (fPSA%).

Statistical analysis

The distribution of variables was tested using the Kolmogorov-Smirnov test. Continuous variables were presented as mean and standard deviation (SD), and comparisons

between groups were performed with Student's *t* test. Categorical data were summarized as percentages, and comparisons between groups were performed with Chi-square test. Pearson correlation was performed to investigate associations between parameters. Statistical significance was assumed at $P < 0.05$. Data were analyzed using GraphPad Prism version 4.00 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

RESULTS

Baseline characteristics of the study subjects are shown in Table 1. Albumin, glomerular filtration rate (GFR), FRAP and fPSA% concentrations were significantly lower in patients with prostate cancer, while the levels of tPSA and CRP were statistically higher in this group. IMA concentrations were significantly higher in patients with prostate cancer ($P=0.0109$). However, no significant differences were observed when IMA values were adjusted for serum albumin (0.259 ± 0.055 ABSU versus 0.290 ± 0.090 ABSU, $P=0.122$), despite the fact that the IMA values were slightly higher in the prostate cancer group. We also performed stratification of patients with prostate cancer based on median values of fPSA% and tPSA. For fPSA% median <9.28 %, CRP showed a value of 3.58 ± 1.56 mg/L, while for fPSA% median ≥ 9.28 %, CRP values were 2.72 ± 1.15 mg/L. For tPSA median <12.8 ng/mL, CRP showed a value of 2.24 ± 1.42 mg/L, while for tPSA median ≥ 12.8 ng/mL, CRP values were 3.96 ± 0.75 mg/L. In addition, statistically significant correlation were observed for fPSA% and CRP ($r = -0.5059$, $P < 0.001$), and for tPSA and CRP ($r = 0.5104$, $P < 0.001$). No significant correlations were observed for fPSA, tPSA and oxidative stress biomarkers.

DISCUSSION

Although increased oxidative stress in prostate cancer has already been reported, to our knowledge, this is the first study that has reported changes in some new biomarkers of oxidative stress such as FRAP, a marker of antioxidant protection [26], and IMA, a marker indicative of protein oxidation, in patients with prostate cancer. In addition, we observed an increase of CRP in patients with prostate cancer as well as significant correlations between CRP, tPSA and fPSA%. Some evidence supports the idea that chronic inflammation is associated with carcinogenesis of prostate cancer [27] because inflammatory cells are considered an important source of synthesis of free radicals, such as hydroxyl radicals and superoxide [28]. Some studies have shown that CRP is elevated in prostate cancer [8, 21] and that oxidative stress is an important risk factor for this disease [4].

Continued exposure of the tissue to a source of inflammation may lead to increased ROS, causing structural and functional alterations of the protein as well as genetic alterations in DNA cell [30]. These changes can cause tissue damage and result in increased cell proliferation, inducing prostate cancer [31]. In this study we found that prostate cancer patients showed significantly higher levels of CRP compared with healthy subjects, corroborating previous studies [9, 32]. In addition, we performed stratification of patients according to medians of tPSA and fPSA% and we found that CRP levels were more elevated in patients with higher median tPSA and lower median fPSA%. Furthermore, CRP levels correlated positively with levels of tPSA demonstrating an association between the grade of systemic inflammation and secretion of PSA. Our results have also showed a negative correlation between fPSA% and CRP. The systemic inflammation indicated by increased levels of CRP has a significant impact on the prognosis in prostate cancer. The interaction between prostate cancer and inflammation plays an important role in tumor development stages located until the appearance of metastasis [8] and may also indicate a worse prognosis

in prostate cancer patients who present higher CRP values [9]. Clinical studies suggest the involvement of inflammation in prostate cancer, and this inflammatory process is correlated with tumor infiltration of immune cells and adverse clinical outcome [33]. In this context, the inflammatory response may be associated with the survival of patients with prostate cancer since elevated levels of CRP have been shown to be a poor predictor of survival in metastatic prostate cancer or prostate cancer castration resistant [9, 29]. Taken together, these observations indicate a relationship between CRP and tumor expression of a more aggressive disease, suggesting a role for the inflammatory response in prostate cancer [29].

Oxidative stress causes damage to biological structures due to excessive generation of ROS and by a deficiency of antioxidant defense mechanisms [11], being responsible for the increased expression of proinflammatory cytokines [34]. It has been demonstrated that increased oxidative stress and reduced antioxidant activity are some of the main causes of prostate cancer [4]. In a previous study, we found that IMA levels were elevated in benign prostatic hyperplasia [35]. In the present study, we demonstrated that patients with prostate cancer had significantly higher levels of IMA. The increased levels of IMA may be attributed to the increased oxidative stress because ROS may chemically modify the N-terminus of human serum albumin. However, when the IMA values were corrected by serum albumin levels, no significant differences for IMA levels were observed, showing only a slight upward trend in IMA levels in prostate cancer patients.

In summary, this study demonstrated changes in oxidative and inflammatory biomarkers in patients with prostate cancer. CRP and IMA levels were higher in patients with prostate cancer, however, FRAP levels were lower in these patients. These findings suggest that both inflammatory oxidative processes are increased during prostate cancer as well as that there is a reduction of antioxidant defenses in this pathology. However, further studies are

needed to investigate this association in a larger population in order to evaluate the true role of oxidative stress and inflammation in the pathogenesis and progression of prostate cancer.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico – CNPq/Brazil (process number 476731/2011-9). CNPq and CAPES provided fellowships.

REFERENCES

1. Siegel, R., Ward, E., Brawley O., Jemal, A. 2011. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA: A Cancer Journal for Clinician* 61: 212–236.
2. Incidence rate of malignancies. Datasus. 2010-2011.
http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2011/d05_10ufm.htm. Accessed November 23, 2012.
3. Specific mortality rate for prostate cancer. Datasus. 2010.
<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2011/c10.def>. Accessed November 23, 2012.
4. Khandrika, L., Kumar, B., Koul, S., Maroni, P., Koul, H.K. 2009. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Letters* 282: 125–136.
5. Balkwill, F., Charles, K.A., Mantovani, A. 2005. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell* 7: 211–217.
6. Nelson, W.G., De Marzo, A.M., DeWeese, T.L., et al. 2004. The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *Journal Urology* 172: S6–11.
7. Pollard, J.W. 2004. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nature Reviews Cancer* 4: 71–78.
8. Saito, K., Kihara, K. 2012. Role of C-reactive protein in urological cancers: a useful biomarker for predicting outcomes. *International Journal of Urology*; doi: 10.1111/j.1442–2042.2012.03121.x.
9. Ito, M., Saito, K., Yasuda, Y., Sukegawa, G., Kubo, Y., Numao, N., Kitsukawa, S., Urakami, S., Yuasa, T., Yamamoto, S., Yonese, J., Fukui, I. 2012. Protein for determining overall survival of patients with castration-resistant prostate cancer treated with docetaxel. *Journal of Urology* 78: 1131–1135.

10. Stock, D., Groome, P.A., Siemens, D.R. 2008. Inflammation and prostate cancer: A future target for prevention and therapy? *Urologic Clinics of North America* 35: 117–130.
11. Vassalle, C., Pratali, L., Boni, C., Mercuri A., Ndreu, R. 2008. An oxidative stress score as a combined measure of the pro-oxidant and anti-oxidant counterparts in patients with coronary artery disease. *Clinical Biochemistry* 41: 1162–1167.
12. Duarte, M.M., Rocha, J.B., Moresco, R.N., Duarte, T., Da Cruz, I.B.M., Loro, V.L., Schetinger, M.R. 2009. Association between ischemia-modified albumin, lipids and inflammation biomarkers in patients with hypercholesterolemia. *Clinical Biochemistry* 42: 666–671.
13. Roy, D., Quiles, J., Gaze, D.C., Collinson, P., Kaski, J.C., Baxter, G.F. 2006. Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischemia modified albumin. *Heart* 92: 113–114.
14. Roy, D., Kaski, J.C. 2007. Ischemia-modified albumin: the importance of oxidative stress. *Journal of the American College Cardiology* 49: 2375–2376.
15. Bar-Or, D., Lau, E., Winkler, J.V. 2000. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia: a preliminary report. *The Journal of Emergency Medicine* 19: 311–315.
16. Piva, S.J., Duarte, M.M.F., Da Cruz, I.B.M., Coelho, A.C., Moreira, A.P., Tonello, R., Garcia, S.C., Moresco, R.N. 2011. Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in obesity. *Clinical Biochemistry* 44: 345–347.
17. Gottlieb, M.G.V., Da Cruz, I.B.M., Duarte, M.M.F., Moresco, R.N., Wiehe, M., Schwanke, C.H., Bodanese, L.C. 2010. Associations among metabolic syndrome, ischemia, inflammatory, oxidatives, and lipids biomarkers. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 95: 586–591.

18. Kaefer, M., Piva, S.J., De Carvalho, J.A., Da Silva, D.B., Becker, A.M., Coelho, A.C., Duarte, M.M., Moresco, R.N. 2010. Association between ischemia modified albumin, inflammation and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry* 43: 450–454.
19. Cichota, L.C., Moresco, R.N., Duarte, M.M., Da Silva, J.E. 2008. Evaluation of ischemia-modified albumin in anemia associated to chronic kidney disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 22: 1–5.
20. Oluyemi, A., Oluwatosin, A., Olatunji, K. 2009. Changes in antioxidant status and lipid peroxidation in Nigerian patients with prostate carcinoma. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 119: 526–532.
21. Benzie, I.F.F., Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) As a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70–76.
22. Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson, D.S. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 18: 499–502.
23. Levey, A.S., Stevens, L.A., Schmid, C.H., Zhang, Y., Castro 3rd, A.F., Feldman, H.I., Kusek, J.W., Eggers, P., Lente, F.V., Greene, T., Coresh, J. for the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). 2009. A New equation to estimate glomerular filtration rate. *American College of Physicians* 50: 604–612.
24. Lippi, G., Montagnana, M., Salvagno, G.L., Guidi, G.C. 2007. Standardization of ischemia-modified albumin testing: adjustment for serum albumin. *Clinical Chemistry Laboratory Medicine* 45: 261–262.
25. Giusti, G., Gakis, C. 1971. Temperature conversion factor, activation energy, relative substrate specificity and optimum pH of adenosine desaminase from human serum and tissue. *Enzyme* 12: 417–425.

26. Skalska, A., Gařowski, J., Grodzicki, T. 2009. Antioxidants modify the relationship between endothelin-1 level and glucose metabolism-associated parameters. *Metabolism Clinical and Experimental* 58: 1229–1233.
27. Shen, M.M., Abate-Shen, C. 2010. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. *Genes & Development* 24: 1967–2000.
28. Espey, M.G., Miranda, K.M., Thomas, D.D., Xavier, S., Citrin, D., Vitek, M.P., Wink, D.A. 2002. A chemical perspective on the interplay between NO, reactive oxygen species, and reactive nitrogen oxide species. *Annals of the New York Academy of Sciences* 962: 195–206.
29. McCalla, P., Catlowa, J., McArdleb, P.A., McMillanb, D.C., Edwardsa, J. 2012. Tumoral C-reactive protein and nuclear factor kappa-B expression are associated with clinical outcome in patients with prostate cancer. *Cancer Biomarkers* 10: 91–99.
30. Olinski, R., Gackowski, D., Foksinski, M., Rozalski, R., Roszkowski, K., Jaruga, P. 2002. Oxidative DNA damage: assessment of the role in carcinogenesis, atherosclerosis, and acquired immunodeficiency syndrome. *Free Radical Biology and Medicine* 33: 192–200.
31. Naber, K.G., Weidner, W. 2000. Chronic prostatitis – an infectious disease? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46: 157–161.
32. Mengus, C., Le Magnen, C., Trella, E., Yousef, K., Bubendorf, L., Provenzano, M., Bachmann, A., Heberer, M., Spagnoli, G.C., Wyler, S. 2011. Elevated levels of circulating IL-7 and IL-15 in patients with early stage prostate cancer. *Journal of Translational Medicine* 9: 162.
33. Coussens, L.M., Werb, Z. 2002. Inflammation and cancer. *Nature* 6917: 860–867.
34. Li, Q., Verma, I.M. 2002. NF-kappaB regulation in the immune system. *Nature Reviews Immunology* 2: 725–734.

35. Mastella, A.K., Moresco, R.N., da Silva, D.B., Becker, A.M., Duarte, M.M., Giovelli, L.L., da Silva, S.H., Rossato, L., Moretto, M.B., da Silva, J.E. 2008. Evaluation of ischemia-modified albumin in myocardial infarction and prostatic diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 63: 762–766.

Table 1. Baseline characteristics of study subjects

	Control	Prostate Cancer	P-value
Age (years)	62.2 ± 8.6	67.6 ± 12.2	0.061
BMI (Kg/m ²)	27.4 ± 3.1	26.7 ± 3.8	0.491
Diabetes <i>mellitus</i> (n)	2	3	0.493
Hypertension (n)	14	14	0.491
Smokers (n)	2	5	0.929
Physical activity (n)	15	7	0.097
Fasting glucose (mmol/L)	5.1 ± 0.5	5.3 ± 0.9	0.259
Total cholesterol (mmol/L)	5.0 ± 0.8	4.8 ± 0.8	0.476
LDL cholesterol (mmol/L)	3.2 ± 0.7	3.2 ± 0.8	0.890
HDL cholesterol (mmol/L)	1.2 ± 0.1	1.0 ± 0.2	0.053
Triglycerides (mmol/L)	1.2 ± 0.4	1.1 ± 0.5	0.568
GFR (mL/min/1.73 m ²)	87.1 ± 12.5	76.6 ± 17.8	0.014
Uric acid (mmol/L)	0.27 ± 0.05	0.28 ± 0.04	0.640
Serum albumin (g/L)	45.6 ± 2.6	42.5 ± 3.6	0.004
AST (U/L)	24.9 ± 6.3	31.2 ± 21.9	0.138
ALT (U/L)	25.4 ± 8.3	33.2 ± 27.2	0.138
Total PSA (ng/mL)	0.77 ± 0.73	52.01 ± 95.71	0.005
Free PSA (%)	28.21 ± 6.50	10.37 ± 3.02	<0.001

Data are expressed as mean and SD or number of subjects.

Figure 1

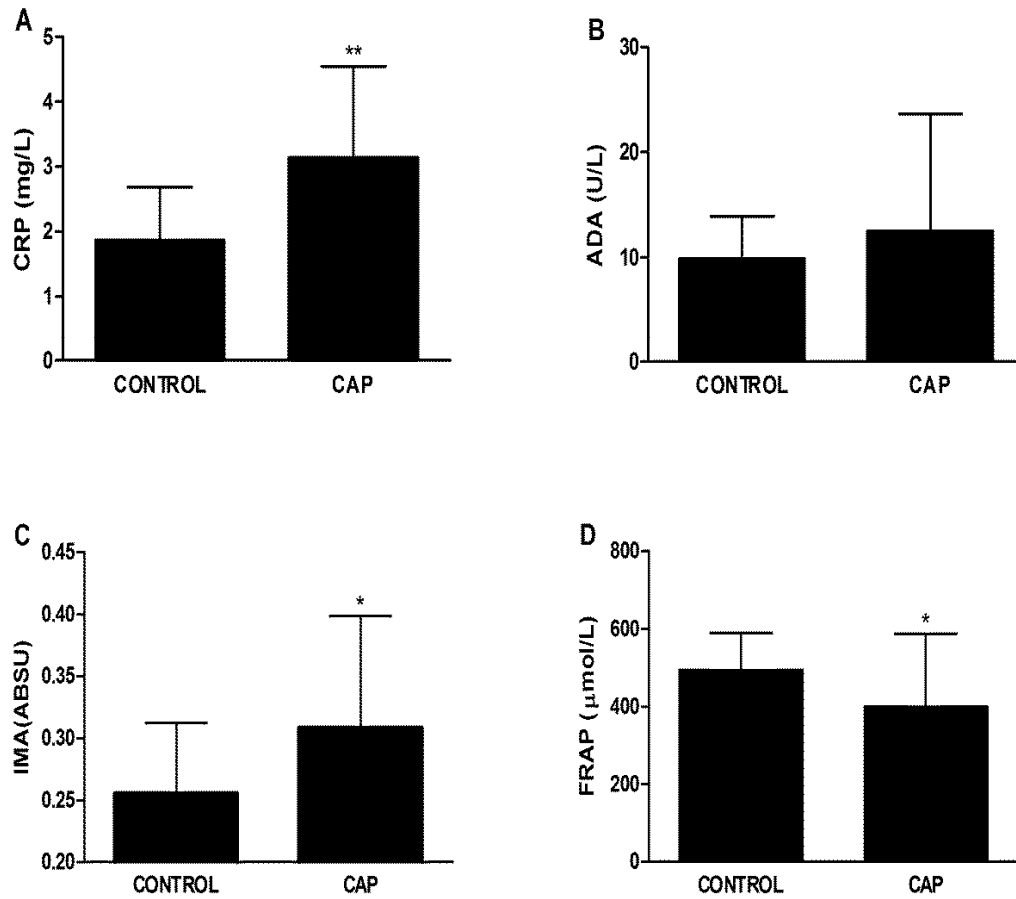


Figure 1. Concentrations of (A) CRP, (B) ADA, (C) IMA, and (D) FRAP observed in the study population. Data are expressed as mean \pm SD. * P <0.05 and ** P <0.001 compared to control subjects.

4 CONCLUSÃO

- Os pacientes com CAP apresentaram maiores concentrações séricas de tPSA e menores valores de fPSA% em comparação aos indivíduos do grupo controle.
- Os biomarcadores associados ao metabolismo glicídico/lipêmico e às funções renal e hepática não diferiram significativamente entre os grupos do estudo, com exceção da TFG e da concentração sérica de albumina, as quais foram reduzidas nos pacientes com CAP.
- Os níveis de PCR foram mais elevados nos pacientes com CAP, especialmente naqueles que apresentaram valores mais elevados de tPSA e reduzidos de fPSA%, o que indica o envolvimento do processo inflamatório na fisiopatologia do CAP, bem como da sua relação com o PSA.
- Foi observada uma correlação positiva entre os níveis de PCR e tPSA, além de uma correlação negativa entre PCR e fPSA%, o que reforça a idéia da associação existente entre o processo inflamatório e o PSA.
- As concentrações de IMA, um biomarcador de estresse oxidativo, foram significativamente maiores em pacientes com CAP; porém, após a correção dos resultados pela concentração sérica de albumina, a diferença deixou de ser estatisticamente significativa, apesar de uma tendência de elevação no grupo de pacientes com CAP.
- Os níveis de FRAP foram reduzidos nos pacientes com CAP, o que indica a redução das defesas antioxidantes nesta patologia.
- Não foram observadas correlações significativas entre os biomarcadores prostáticos e os biomarcadores de estresse oxidativo avaliados neste estudo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.R.C. et al. Marcadores Tumorais: Revisão de Literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, 53(3): 305-316, 2007.

AKINLOYE O.O. et al. Changes in antioxidant status and lipid peroxidation in Nigerian patients with prostate carcinoma. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnneytrzej**, 119 (9): 526-532, 2009.

ANAND, P. et al. Curcumin and cancer: an “old-age” disease with an “age-old” solution, **Cancer Letters**, 267 (1): 133-164, 2008.

ANDERSON, J.L. et al. Evaluation of C-reactive protein, an inflammatory marker, and infectious serology as risk factors for coronary artery disease and myocardial infarction. **The Journal of the American College of Cardiology**, 32(1): 35-41, 1998.

ANDRIOLE, G.L. et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. **The New England Journal of Medicine**. 360: 1310-1319, 2009.

ANTENOR, J.A. et al. Preoperative PSA and progression-free survival after radical prostatectomy for Stage T1c disease. **Urology**, 66(1): 156-60, 2005.

ARALDI, E.M. et al. Natural and synthetic agents targeting inflammation and angiogenesis for chemoprevention of prostate cancer. **Current Cancer Drug Targets**, 8(2): 146-155, 2008.

AZEVEDO A. et al. IL-6/IL-6R as a potential key signaling pathway in prostate cancer development. **The World Journal of Clinical Oncology**, 10, 2(12): 384-396, 2011.

AYDIN, A. et al. Oxidative stress and antioxidant status in non-metastatic prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. **Clinical Biochemistry**, 39(2): 176-179, 2006.

BAADE, P.D., YOULDEN, D.R., KRNJACKI, L.J. International epidemiology of prostate cancer: geographical distribution and secular trends. **Molecular Nutrition & Food Research**. 53(2): 171-184, 2009.

BARDIA, A. et al. Anti-inflammatory drugs, antioxidants, and prostate cancer prevention. **Current Opinion in Pharmacology**, 9(4): 419-426, 2009.

BAR-OR, D. et al. Characterization of the Co^{+2} and Ni^{+2} binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin: an insight into the mechanism of a new assay for myocardial ischemia. **European Journal of Biochemistry**, 268(1): 42-47, 2001.

BAR-OR, D.; LAU, E.; WINKLER, J.V. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia: a preliminary report. **The Journal of Emergency Medicine**, 19(4): 311-315, 2000.

BARRY, M.J. Clinical practice. Prostate-specific-antigen testing for early diagnosis of prostate cancer. **The New England Journal of Medicine**. 344: 1373-1377, 2001.

BARZILAI, A.; ROTMAN, G.; SHILOH, Y. ATM deficiency and oxidative stress: a new dimension of defective response to DNA damage. **DNA Repair**, 22(1): 3-25, 2002.

BATTISTI, V. et al. Oxidative stress and antioxidant status in prostate cancer patients: Relation to Gleason score, treatment and bone metastasis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 65:516-524, 2011.

BLACK, S.; KUSHNER, I.; SAMOLS D. C-reactive protein. **The Journal of Biological Chemistry**. 279: 48487-48490, 2004.

BOUKARAM, C.; HANNOUN-LEVI, J.M. Management of prostate cancer recurrence after definitive radiation therapy. **Cancer Treatment Reviews**, 36(2): 91-100, 2010.

BRATT, O. Hereditary prostate cancer: clinical aspects. **The Journal of Urology**, 168(3): 906-913, 2002.

BRAWLEY, O.W.; KNOPF, K.; MERRILL, R. The epidemiology of prostate cancer part I: descriptive epidemiology. **Seminars in Urologic Oncology**. 16(4): 187-192, 1998.

BUNTING, P.S. Screening for prostate cancer with prostate-specific antigen biases. **Clinica Chimica Acta**, 315(1-2): 71-97, 2002.

BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R.; BRUNS, D.E. **Tietz Fundamentos de Química Clínica**, 6^o edição. Rio de Janeiro, ed: Elsevier, 2008.

CARPTEN, J. et al. Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1. **Nature Genetics**, 30(2): 181-184, 2002.

CARTER B.S. et al. Mendelian inheritance of familial prostate cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 89(8): 3367-3371, 1992.

CARTER, H.B.; PIANTADOSI, S.; ISAACS, J.T. Clinical evidence for and implications of the multistep development of prostate cancer. **The Journal of Urology**, 143(4): 742-746, 1990.

CATALONA, W.J. et al. Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. **The Journal of Urology**, 151(5): 1283-1290, 1994.

CATALONA, W.J. et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. **The Journal of the American the Medical Association**, 279(19): 1542-1547, 1998.

CHAN, J.M. et al. Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study. **Science**, 279(5350): 563-566, 1998.

CHEN, J.Z. et al. Extensive somatic mitochondrial mutations in primary prostate cancer using laser capture microdissection. **Cancer Research**, 62(22): 6470-6474, 2002.

CHEN, J.Z. et al. Simultaneous generation of multiple mitochondrial DNA mutations in human prostate tumors suggests mitochondrial hyper-mutagenesis. **Carcinogenesis**, 24(9): 1481-1487, 2003.

CICHOTA, L.C. et al. Evaluation of ischemia-modified albumin in anemia associated to chronic kidney disease. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, 22: 1-5, 2008.

CHOMYN, A.; ATTARDI, G. mtDNA mutations in aging and apoptosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 304(3): 519-529, 2003.

CHRISTENSON, R. H. et al. Characteristics of an albumin cobalt binding test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study. **Clinical Chemistry**, 47(3): 464-470, 2001.

CHRISTENSSON, A.; LAURELL, C.B.; LILJA, H. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine proteinase inhibitors. **The European Journal of Biochemistry**, 194(3): 755-763, 1990.

- CHRISTENSSON, A. et al. Serumprostate specific antigen complexed to alpha 1-antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. **The Journal of Urology**, 150: 100-105, 1993.
- COOK, L.S. et al. Incidence of adenocarcinoma of the prostate in Asian immigrants to the United States and their descendants. **The Journal of Urology**, 161(1): 152-155, 1999.
- COSTELLO, L.C. et al. Evidence for a zinc uptake transporter in human prostate cancer cells which is regulated by prolactin and testosterone. **The Journal of Biological Chemistry**, 274(25): 17499-17504, 1999.
- CRAWFORD, E.D. Epidemiology of prostate cancer. **Urology**, 62 (Suppl 6A): 3-12, 2003.
- CULIG, Z.; BARTSCH, G.; HOBISCH, A. Interleukin-6 regulates androgen receptor activity and prostate cancer cell growth. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 197(1-2): 231-238, 2002.
- DAKUBO, G.D. et al. Thayer, Altered metabolism and mitochondrial genome in prostate cancer. **The Journal of Clinical Pathology**. 59(1): 10-16, 2006.
- DALL'OGGIO, M.F.; et al. 2004. **Hiperplasia prostática benigna**, 1ª edição. São Paulo, ed: Atheneu, 2004.
- DANESH, J. et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. **The New England Journal of Medicine**, 350: 1387-1397, 2004.
- DATASUS, 2010-2011. http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2011/d05_10ufm.htm. Acessado em 23 de novembro de 2012.
- DATASUS, 2010. <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2011/c10.def>. Acessado em 23 de novembro de 2012.
- DENNIS, L.K.; LYNCH, C.F.; TORNER, J.C. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. **Urology** 60(1): 78-83, 2002.
- DILLNER, J. et al. Sero-epidemiological association between human-papillomavirus infection and risk of prostate cancer. **The International Journal of Cancer**, 75(4): 564-567, 1998.

DOLL, R.; PETO, R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. **The Journal of the National Cancer Institute**, 66(6): 1191-1308, 1981.

DUARTE, M.M. et al. Association between ischemia-modified albumin, lipids and inflammation biomarkers in patients with hypercholesterolemia. **Clinical Biochemistry**, 42: 666-671, 2009.

FERRERO-MILIANI, L. et al. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. **Clinical & Experimental Immunology**, 147(2): 227-235, 2007.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, Oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, 408(6809): 239-247, 2000.

GESSI, K., VARANI, S., MERIGHI, S. Adenosine and lymphocyte regulation. **Purinergic Signal**, 3; 109-116; 2007.

GIOVANNUCCI, E. et al. A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer. **The Journal of the National Cancer Institute**, 85(19): 1571-1579, 1993.

GOTTLIEB, M.G.V. et al. Associations among metabolic syndrome, ischemia, inflammatory, oxidatives, and lipids biomarkers. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 95: 586-591, 2010.

GRETZER, M.B.; PARTIN, A.W. PSA markers in prostate cancer detection. **Urologic Clinics of North America**. 30(4): 677-686, 2003.

GRIVENNIKOV, S.I.; GRETEN, F.R.; KARIN, M. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, 140(6): 883-899, 2010.

GRONBERG, H. Prostate cancer epidemiology. **Lancet**, 361(9360): 859-864, 2003.

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

HANSSON, G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. **The New England Journal Medicine**, 352: 1685-1695, 2006.

HARA, M. et al. Some physico-chemical characteristics of "seminoprotein", an antigenic component specific for human seminal plasma. Forensic Immunological study of body fluids and secretion. **Nihon Hoigaku Zasshi**, 25: 322-325, 1971.

HARMAN, S.M. et al. Serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I), IGF-II, IGF-binding protein-3, and prostate specific antigen as predictors of clinical prostate cancer. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 85(11): 4258-4265, 2000.

HAVERKAMP, J.; CHARBONNEAU, B.; RATLIFF, T.L. Prostate inflammation and its potential impact on prostate cancer: A current review. **The Journal of Cellular Biochemistry**, 103(5): 1344-1353, 2008.

HUBER, P.R. et al. Serum free prostate specific antigen: isoenzymes in benign hyperplasia and cancer of the prostate. **Prostate**, 27(4): 212-219, 1995.

IMMANUEL, S.; SANJAYA, A.I. Albumin cobalt binding (ACB) test: its role a novel marker of acute coronary syndrome. **Acta Medica Indonesiana**, 38(2): 92-96, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Disponível em:
<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>. Acessado em: 26 nov. 2012.

ITO, M. et al. Protein for determining overall survival of patients with castration-resistant prostate cancer treated with docetaxel. **Journal of Urology**, 78: 1131-1135, 2012.

JABS, W.J. et al. Expression of C-reactive protein by renal cell carcinomas and unaffected surrounding renal tissue. **Kidney International**, 68(5): 2103-2110, 2005.

JANEWAY, C.A. Jr; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition. **Annual Review of Immunology**, 20: 197-216, 2002.

JESSIE, B.C. et al. Accumulation of mitochondrial DNA deletions in the malignant prostate of patients of different ages. **Experimental Gerontology**, 37(1): 169-174, 2001.

JIALAL, I.; DEVARAJ, S.; VENUGOPAL, S.K. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? **Hypertension**, 44(1): 6-11, 2004.

JOHNSON, T.V. et al. Intratumor C-reactive protein as a biomarker of prognosis in localized renal cell carcinoma. **The Journal of Urology**, 186(4): 1213-1217, 2011.

KAEFER, M. et al. Association between ischemia modified albumin, inflammation and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. **Clinical Biochemistry**, 43: 450-454, 2010

KELLY, J.M. et al. In vitro ouabain-sensitive respiration and protein synthesis in rumen epithelial papillae of Hereford steers fed either timothy hay or timothy hay supplemented with cracked corn once daily. **The Journal of Animal Science**, 73: 3775-3784, 1995.

KLEIN, E.A.; SILVERMAN, R. Inflammation, infection, and prostate cancer. **Current Opinion in Urology**, 18(3): 315-319, 2008.

KUMAR, B. et al. Oxidative stress is inherent in prostate cancer cells and is required for aggressive phenotype. **Cancer Research**. 68:1777-1785, 2008.

KUPER, H.; ADAMI, H.O.; TRICHOPOULOS, D. Infections as a major preventable cause of human cancer. **The Journal of Internal Medicine**, 248 (3): 171-183, 2000.

KUSHNER, I. et al. Do post-transcriptional mechanisms participate in induction of C-reactive protein and serum amyloid A by IL-6 and IL-1? **The New York Academy of Science**, 762: 102-107, 1995.

KUSHNER, I. The phenomenon of the acute phase response. **The New York Academy of Science**, 389: 39-48, 1982.

KUSHNER, I.; RZEWNICKI, D.; SAMOLS, D. What does minor elevation of C-reactive protein signify? **The American Journal of Medicine**, 119(2): 17-28, 2006.

KUTA, A.E.; BAUM, L.L. C-reactive protein is produced by a small number of normal human peripheral blood lymphocytes. **The Journal of Experimental Medicine**, 164(1): 321-326, 1986.

LANDMANN, C.; HUNIG, R. Prostatic specific antigen as an indicator of response to radiotherapy in prostate cancer. **The International Journal of Radiation Oncology**, 17(5): 1073-1076, 1989.

LILJA, H. et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. **Clinical Chemistry**, 37(9): 1618-1625, 1991.

LODOVICI, M. et al. Oxidative DNA damage and plasma antioxidant capacity in type 2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. **Mutation Research**, 638: 98-102, 2008.

LOEB, S.; CATALONA, W.J. What to do with an abnormal PSA test. **Oncologist**, 13(3): 299-305, 2008.

LÖVGREN, J. et al. Activation of the zymogen form of prostate-specific antigen by human glandular kallikrein 2. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 238(2): 549-555, 1997.

MALTONI, M. et al. Prognostic factors in advanced cancer patients: evidence-based clinical recommendations – a study by the Steering Committee of the European Association for Palliative Care. **The Journal of Clinical Oncology**, 23(25): 6240-6248, 2005.

MANNA, S.K. et al. Over expression of manganese superoxide dismutase suppresses tumor necrosis factor induced apoptosis and activation of nuclear transcription factor- κ B and activated protein. **The Journal of Biological Chemistry**, 273(21): 13245-13254, 1998.

MASTELLA, A.K. et al. Evaluation of ischemia-modified albumin in myocardial infarction and prostatic diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 63: 762-766, 2008.

McCORD, J. M. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. **The New England Journal of Medicine**, 312(3): 159-163, 1985.

McMILLAN, D.C. An inflammation-based prognostic score and its role in the nutrition-based management of patients with cancer. **Proceedings of the Nutrition Society**, 67(3): 257-262, 2008.

MEISTER, A.; ANDERSON, M.E. Glutathione. **The Annual Review of Biochemistry**, 52: 711-760, 1983.

MENDOZA-RODRÍGUEZ, C.A.; CERBÓN, M.A. Tumor suppressor gene p53: mechanisms of action in cell proliferation and death. **Revista de Investigación Clínica**, 53(3): 266-273, 2001.

MIQUEL, J. An integrated theory of aging as the result of mitochondrial-DNA mutation in differentiated cells. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, 12(1-2): 99-117, 1991.

MONTEIRO, H.P.; STERN, A. Redox modulation of tyrosine phosphorylation dependent signal transduction pathways. **Free Radical Biology and Medicine**, 21(3): 323-333, 1996.

MOYRET-LALLE, C. et al. Ras, p53 and HPV status in benign and malignant prostate tumors. **The International Journal of Cancer**, 64(2): 124-129, 1995.

NIELEN, M.M. et al. Increased levels of C-reactive protein in serum from blood donors before the onset of rheumatoid arthritis. **Arthritis & Rheumatism**, 50(8): 2423-2427, 2004.

NULTON-PERSSON, A.C.; SZWEDA, L.I. Modulation of mitochondrial function by hydrogen peroxide. **The Journal of Biological Chemistry**, 276(26): 23357-23361, 2001.

OESTERLING, J.E. et al. Prostate specific antigen in the preoperative and postoperative evaluation of localized prostatic cancer treated with radical prostatectomy. **The Journal of Urology**, 139(4): 766-772, 1988.

PERACAULA, R., et al. Altered glycosylation in tumours focused to cancer diagnosis. **Disease Markers**, 25(4-5): 207-218, 2008.

PETROS, J.A. et al. mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 102(3): 719-724, 2005.

PIVA, S.J. et al. Ischemia-modified albumin as an oxidative stress biomarker in obesity. **Clinical Biochemistry**, 44: 345-347, 2011.

POIROT, C.; CHERRUAU, B. Aspectos clínicos e investigaciones biológicas. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, 39(2): 225-241, 2005.

POUND, C.R. et al. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy. **The Journal of the American Medical Association**, 281(17): 1591-1597, 1999.

PROCTOR, M.J. et al. A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study. **The European Journal of Cancer**, 47(17): 2633-2641, 2011.

RHODEN, E.L.; SOUTO, C.A.V. **Urologia oncológica**, 1ª edição. São Paulo, ed: Revinter, 2004.

- RIFAI, N.; RIDKER, P.M. High-sensitivity C-reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease. **Clinical Chemistry**, 47(3): 403-411, 2001.
- RIPPLE, M.O. et al. Prooxidant-antioxidant shift induced by androgen treatment of human prostate carcinoma cells. **Journal of the National Cancer Institute**, 89(1): 40-48, 1997.
- ROBERTS, R.O. et al. Prostatitis as a risk factor for prostate cancer. **Epidemiology**, 15(1): 93-99, 2004.
- ROXBURGH, C.S.; MCMILLAN, D.C. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. **Future Oncology**, 6(1): 149-163, 2010.
- ROY, D.; KASKI, J.C. Ischemia-modified albumin: the importance of oxidative stress. **Journal of the American College Cardiology**, 49: 2375-2376, 2007.
- RYSZ, J. et al. Serum Antioxidant Capacity is Preserved in Peritoneal Dialysis Contrary to Its Robust Depletion After Hemodialysis and Hemodiafiltration Sessions. **Therapeutic Apheresis and Dialysis**, 14(2): 209-217, 2009.
- SADLER, P. J.; TUCKER, A.; VILES, J. H. Involvement of a lysine residue in the N-terminal Ni²⁺ and Cu²⁺ binding site of serum albumins. Comparison with Co²⁺, Cd²⁺ and Al³⁺. **The European Journal of Biochemistry**, 220(1): 193-200, 1994.
- SALGUEIRO, L.L; OTTAVIANO, E.J.D. **Andropausa: reposição hormonal masculina**, 1ª edição. São Paulo, ed: Roca, 2001.
- SAITO, K.; KIHARA, K. 2012. Role of C-reactive protein in urological cancers: a useful biomarker for predicting outcomes. **International Journal of Urology**, doi: 10.1111/j.1442-2042.2012.03121.x.
- SAUER, H.; WARTENBERG, M.; HESCHELER J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. **Cellular Physiology and Biochemistry**, 11(4): 173-186, 2001.
- SCHRODER, F.H. et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. **The New England Journal of Medicine**, 360: 1320-1328, 2009.

SHIMIZU, H. et al. Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles County. **The British Journal of Cancer**, 63(6): 963-966, 1991.

SHINOHARA, N. et al. Multicenter phase II trial of combination therapy with meloxicam, a cox-2 inhibitor, and natural interferon-alpha for metastatic renal cell carcinoma. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, 39(11): 720-726, 2009.

SHIRAI, T. et al. Diet and prostate cancer. **Toxicology**, 181-182: 89-94, 2002.

SMITH, D.S.; CATALONA, W.J.; HERSCHMAN, J.D. Longitudinal screening for prostate cancer with prostate-specific antigen. **The Journal of the American Medical Association**, 276(16): 1309-1315, 1996.

SMITH, J.R. et al. Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by genome-wide search. **Science**, 274(5291): 1371-1374, 1996.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ULTRASSONOGRRAFIA. **Diretrizes gerais**, Rio de Janeiro, 2011.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA. **Diretrizes do câncer de próstata**, Rio de Janeiro, 2011.

STANCIK, S. et al. Effect of NIH-IV prostatitis on free and free-to-total PSA. **European Urology**, 46(6): 760-764, 2004.

STATTIN, P. et al. Plasma insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-binding proteins, and prostate cancer risk: a prospective study. **The Journal of the National Cancer Institute**, 92(23): 1910-1917, 2000.

STEINBERG, G.D. et al. Family history and the risk of prostate cancer. **Prostate**, 17(4): 337-347, 1990.

STENMAN, U.H. et al. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. **Cancer Research**, 51(1): 222-226, 1991.

SUCHER, R. et al. Neopterin, a prognostic marker in human malignancies. **Cancer Letter**, 287(1): 13-22, 2010.

TANAGHO, E.A.; MCANINCH, J.W. **Urologia geral de Smith**, 16ª edição. Barueri, ed: Editora Manole, 2007.

TAYLOR, M.L.; MAINOUS, A.G.III; WELLS, B.J. Prostate cancer and sexually transmitted diseases: a meta- analysis. **Family Medicine**, 37(7): 506-512, 2005.

THOMPSON, I.M. et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter. **The New England Journal of Medicine**. 350: 2239-2246, 2004.

TILLET, W.S.; FRANCIS, T.J. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. **The Journal of Experimental Medicine**, 52(4): 561-571, 1930.

TOSOIAN, J.; LOEB, S. PSA and Beyond: The Past, Present, and Future of Investigative Biomarkers for Prostate Cancer. **The Scientific World Journal**, 10: 1919-1931, 2010.

TRICHOPOULOS, D., et al. Plasma C-reactive protein and risk of cancer: a prospective study from Greece. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 15(2): 381-384, 2006.

VASSALLE, C. et al. An oxidative stress score as a combined measure of the pro-oxidant and anti-oxidant counterparts in patients with coronary artery disease. **Clinical Biochemistry**, 41: 1162-1167, 2008.

VANDERSCHUEREN, S. et al. Extremely elevated C-reactive protein. **The European Journal Internal of Medicine**, 17(6): 430-433, 2006.

VEIEROD, M.B.; LAAKE, P.; THELLE, D.S. Dietary fat intake and risk of prostate cancer: a prospective study of 25,708 Norwegian men. **The International Journal of Cancer**, 73(5): 634-638, 1997.

VOLANAKIS, J.E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. **Molecular Immunology**, 38(2-3): 189-197, 2001.

WAHL, L.M.; KLEINMAN, H.K. Tumor-associated macrophages as targets for cancer therapy. **Journal of the National Cancer Institute**, 90(21): 1583-1584, 1998.

WANG, M.C. et al. Purification of a human prostate specific antigen. **Investigative Urology**, 17(2): 159-163, 1979.

WANG, Y. et al. Association between CYP2E1 genetic polymorphisms and lung cancer risk: A metaanalysis; **Europe Journal of Cancer**, 46: 758-764; 2010.

WARBURG, O. The Metabolism of Tumors, **Constable**, London, 1930.

WEI, Y.H. et al. Oxidative damage and mutation to mitochondrial DNA and age-dependent decline of mitochondrial respiratory function, **Annals of the New York Academy of Sciences**. 854: 155-170, 1998.

WHITTEMORE, A.S. et al. Prostate cancer in relation to diet, physical activity, and body size in blacks, whites, and Asians in the United States and Canada. **The Journal of the National Cancer Institute**, 87(9): 652-661, 1995.

WILDING, G. Endocrine control of prostate cancer, **Cancer Survivors**, 23: 43-62, 1995.

XU, J. Combined analysis of hereditary prostate cancer linkage to 1q24-25: results from 772 hereditary prostate cancer families from the International Consortium for Prostate Cancer Genetics. **The American Journal of Human Genetics**, 66(3): 945-957, 2000.

ANEXO A - Carta de Aprovação do Comitê de Ética da UFSM

 <p>MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFSM REGISTRO CONEP: 243</p> 
--	---

CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Avaliação de biomarcadores laboratoriais associados ao estresse oxidativo, inflamação e metabolismo lipídico na hiperplasia prostática benigna e no carcinoma prostático

Número do processo: 23081.015450/2010-20

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0268.0.243.000-10

Pesquisador Responsável: Rafael Noel Moraes

Este projeto foi **APROVADO** em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê.

O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Relatório parcial: Agosto/2012

Relatório final: Abril/2013

Os membros do CEP-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO: 30/11/2010

Santa Maria, 30 de Novembro de 2010.



Fêlix A. Antunes Soares
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa-UFSM
Registro CONEP N. 243.

ANEXO B - Comprovante de submissão do artigo para publicação

Inflammation**Assessment of inflammatory and oxidative biomarkers in patients with prostate cancer
-Manuscript Draft--**

Manuscript Number:	
Full Title:	Assessment of inflammatory and oxidative biomarkers in patients with prostate cancer
Article Type:	Manuscript
Keywords:	C-reactive protein; Inflammation; Oxidative stress; Prostate cancer.
Corresponding Author:	Rafael Moresco, D.Sc. Universidade Federal de Santa Maria Santa Maria, RS BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal de Santa Maria
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Rafael Da Silveira, B.Sc.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Rafael Da Silveira, B.Sc. Carine Hermes, B.Sc. Taís Almeida, B.Sc. Guilherme Bochi, M.Sc. Karine De Bona, M.Sc. Maria Beatriz Moretto, D.Sc. Rafael Moresco, D.Sc.
Order of Authors Secondary Information:	
Suggested Reviewers:	Ivan Spasojević ivan@cms.bg.ac.rs László Selmeči laszlo.selmedi@googlemail.com Ivana Beatrice M Da Cruz, Ph.D. ibmcruz@hotmail.com